

ỦY BAN NHÂN DÂN THÀNH PHỐ HÀ NỘI
TRƯỜNG CAO ĐẲNG Y TẾ HÀ NỘI



Giáo trình

MÔ ĐUN: HÓA SINH 2

NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM Y HỌC

TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG

Hà Nội , 2024

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Hóa sinh là một ngành khoa học nghiên cứu về các quá trình phản ứng hóa học diễn ra trong cơ thể sống ở điều kiện bình thường cũng như bệnh lý trong mối tương tác qua lại với môi trường xung quanh. Đây là lĩnh vực khoa học giao thoa với nhiều ngành khoa học khác như Y học lâm sàng, sinh lý học, mô phôi học, dinh dưỡng....

Giáo trình được biên soạn theo chương trình khung đã được phê duyệt cho sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học bao gồm 15 bài trong đó có 9 bài lý thuyết và 6 bài thực hành, mỗi bài có mục tiêu học tập và các nội dung thiết yếu. Trong đó, nội dung bao gồm: Quá trình chuyển hóa các chất ở các mô, cơ quan của cơ thể; Cơ chế bệnh học cùng với sự biến đổi các chỉ số hóa sinh trong suốt quá trình bệnh lý; Các xét nghiệm chẩn đoán, theo dõi và tiên lượng bệnh. Sách dùng để đào tạo sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học đồng thời cũng là tài liệu tham khảo tốt cho sinh viên các chuyên ngành khác quan tâm đến công tác xét nghiệm.

Các tác giả là những người có kinh nghiệm lâm sàng lâu năm cũng như kinh nghiệm giảng dạy, hy vọng rằng cuốn sách sẽ cung cấp những thông tin giá trị cho sinh viên nhằm giúp sinh viên có nền tảng kiến thức, kỹ năng cần thiết cho việc đánh giá về chất lượng xét nghiệm.

Các tác giả đã biên soạn cuốn giáo trình này với tinh thần trách nhiệm cao, song cũng không tránh khỏi những thiếu sót và cần bổ sung. Chúng tôi mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp của độc giả và đồng nghiệp để cuốn giáo trình này càng hoàn thiện hơn.

Xin trân trọng cảm ơn!

THAM GIA BIÊN SOẠN

1. Chủ biên

ThS. Nguyễn Thị Hà Giang

2. Tham gia biên soạn

ThS. Nguyễn Thị Thơm

ThS. Trần Văn Khôi

MỤC LỤC

CHƯƠNG TRÌNH MÔN HỌC.....	5
BÀI 1. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH.....	7
BÀI 2. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH TIM MẠCH	14
BÀI 3. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI.....	22
BÀI 4. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH GAN MẬT	30
BÀI 5. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH THẬN.....	38
BÀI 6. CÁC XÉT NGHIỆM ĐÁNH GIÁ CHỨC NĂNG TUYẾN GIÁP.....	52
BÀI 7. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM TỤY CẤP, VIÊM TỤY MẠN ..	61
BÀI 8. MỘT SỐ XÉT NGHIỆM MIỄN DỊCH HAY GẶP.....	69
PHẦN THỰC HÀNH.....	74
BÀI 9. KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ GLUCOSE, CHOLESTEROL TOÀN PHẦN VÀ TRIGLYCERID TRONG HUYẾT THANH	74
BÀI 10. KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK, CK - MB TRONG HUYẾT THANH	98
BÀI 11. KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM AST, ALT TRONG HUYẾT THANH	114
BÀI 12. KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN, BILIRUBIN TRỰC TIẾP HUYẾT THANH	130
BÀI 13. KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATININ, URE HUYẾT THANH	147
BÀI 14. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TỔNG PHÂN TÍCH NƯỚC TIỂU	163
TÀI LIỆU THAM KHẢO	169

CHƯƠNG TRÌNH MÔN HỌC

Mã mô đun: XN06

Thời gian thực hiện: 60 giờ

- Lý thuyết: 28 giờ
- Thực hành tại trường: 29 giờ
- Kiểm tra: 3 giờ

I. Vị trí, tính chất của mô đun

- *Vị trí:* là môn học số 22 của chương trình đào tạo đối tượng Cao đẳng Kỹ thuật xét nghiệm y học

- *Tính chất:* mô đun nhằm cung cấp cho sinh viên những kiến thức về vai trò của các xét nghiệm hoá sinh ứng dụng, những thay đổi của một số chỉ số hóa sinh liên quan trong một số bệnh: đái tháo đường, nhồi máu cơ tim, bệnh gan mật, bệnh thận, bệnh tụy, vận dụng các kiến thức đã học vào thực hành bệnh viện, thực tế tốt nghiệp sau này.

II. Mục tiêu mô đun

* Kiến thức

- Trình bày được các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi một số bệnh thường gặp
- Trình bày được nguyên tắc của một số kỹ thuật xét nghiệm hóa sinh
- Giải thích được kết quả của một số xét nghiệm hóa sinh, miễn dịch thường gặp

* Kỹ năng

- Thực hiện đúng một số quy trình xét nghiệm hóa sinh cơ bản
- Nhận định được những thay đổi của một số chỉ số xét nghiệm hóa sinh liên quan trong một số bệnh: đái tháo đường, bệnh tim mạch, rối loạn chuyển hóa lipid, bệnh gan mật, bệnh thận, bệnh tụy.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Tuân thủ đúng các quy định về y đức, các quy chế chuyên môn, các quy định của pháp luật liên quan đến lĩnh vực XNYH và các quy trình kỹ thuật của ngành y tế để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập
- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm

III. Nội dung mô đun

1. Nội dung tổng quát và phân bổ thời gian mô đun

TT	Nội dung	Số tiết			
		Tổng số	Lí thuyết	Thực hành	Kiểm tra

1	Các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh đái tháo đường	3	3		
2	Các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh tim mạch	5	5		
3	Các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi rối loạn lipid máu	3	3		
4	Các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh gan mật	4	4		
	Kiểm tra	1			1
5	Các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh thận	5	5		
6	Các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp	2	2		
7	Các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy cấp, viêm tụy mạn	3	3		
8	Một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp	3	3		
	Kiểm tra	1			1
9	Kỹ thuật định lượng nồng độ glucose, cholesterol toàn phần và triglycerid trong huyết thanh	5		5	
10	Kỹ thuật đo hoạt độ enzym CK, CK - MB trong huyết thanh	5		5	
11	Kỹ thuật đo hoạt độ enzym AST, ALT trong huyết thanh	5		5	
12	Kỹ thuật định lượng bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp huyết thanh	5		5	
13	Kỹ thuật định lượng creatinine, ure huyết thanh	5		5	
14	Kỹ thuật xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu	4		4	
	Kiểm tra	1			1
	Tổng	60	28	29	3

BÀI 1. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được các xét nghiệm hóa sinh chẩn đoán và theo dõi đái tháo đường
- Giải thích được đặc điểm, ý nghĩa các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi đái tháo đường

* Kỹ năng

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi đái tháo đường trên một số xét nghiệm cận lâm sàng.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
- Chủ động tìm kiếm tài liệu và chuẩn bị bài trước giờ học

NỘI DUNG

1. Các xét nghiệm chẩn đoán bệnh đái tháo đường

1.1. Glucose niệu

- Trong điều kiện bình thường, glucose được lọc qua cầu thận và được tái hấp thu hoàn toàn ở ống lượn gần nên sẽ không có glucose niệu. Ngưỡng tái hấp thu của thận bình thường là 160 đến 180 mg/dL (8,9 đến 10 mmol/L). Trong ĐTĐ glucose xuất hiện trong nước tiểu khi glucose máu vượt quá ngưỡng tái hấp thu của thận.

- Kết quả glucose niệu dương tính đòi hỏi xét nghiệm glucose máu để xác minh vì có thể gặp các tình huống:

+ Bệnh nhân đã được chẩn đoán ĐTĐ nhưng không có glucose niệu do ngưỡng thận tăng cao.

+ Bệnh nhân không bị ĐTĐ song lại có glucose niệu do có tổn thương ở ống thận ảnh hưởng đến khả năng tái hấp thu của thận.

- Mẫu bệnh phẩm:

+ Nước tiểu tươi, lấy ngẫu nhiên, ổn định trong 2 giờ ở nhiệt độ 20 – 25⁰ C.

+ Độ nhạy của xét nghiệm không cao, có thể tăng độ nhạy bằng cách lấy nước tiểu sau ăn.

- Giá trị tham chiếu:

+ Nước tiểu 24h: < 200mg/24h hay < 11,2 mmol/l

+ Mẫu nước tiểu: < 30 mg/dl hay 1,68 mmol/l

- Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu bệnh phẩm nước tiểu để lâu ở nhiệt độ phòng làm giảm kết quả nồng độ glucose do tạp nhiễm vi khuẩn và phân hủy glucose.

+ Tỷ trọng nước tiểu > 1,020 và pH niệu gây giảm độ nhạy và là giảm giả tạo nồng độ glucose niệu

+ Nồng độ ascorbate 50mg/dL gây nhiễu dưới 3% kết quả.

+ Nồng độ bilirubin 684 $\mu\text{mol/l}$ gây nhiễu dưới 3% kết quả.

1.2. Glucose máu ngẫu nhiên

- Nồng độ glucose máu làm ngẫu nhiên tức là xét nghiệm được làm vào bất kỳ thời điểm nào trong ngày và không tính đến thời gian bữa ăn cuối cùng.

- Nồng độ glucose huyết tương $\geq 11,1$ mmol/L hay ≥ 200 mg/dL (theo Hiệp hội ĐTĐ Mỹ) là dấu hiệu của ĐTĐ.

1.3. Glucose máu khi đói

- Nồng độ glucose máu lúc đói khi bệnh nhân không sử dụng một nguồn cung cấp calo nào thời gian ít nhất là 8h.

- *Mẫu bệnh phẩm:*

+ Máu được lấy vào ống chứa chất heparin (nếu chạy xét nghiệm trong 2h)

+ Hoặc ống chứa NaF (natri fluorat) để ức chế quá trình đường phân nếu chưa thực hiện được xét nghiệm > 2h và phải bảo quản ở 4⁰ C.

- *Giá trị tham chiếu:*

+ Bình thường 3,9 – 6,4 mmol/l

+ Glucose huyết tương khi đói $\geq 7,0$ mmol/L ít nhất từ hai lần trở lên là ĐTĐ.

Nồng độ glucose máu tĩnh mạch thấp hơn máu mao mạch, máu toàn phần thấp hơn trong huyết tương khoảng từ 10-15% (cùng một mẫu máu).

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:*

+ Mẫu bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu

+ Mẫu máu không được tách tốt huyết thanh khỏi tế bào máu sẽ làm glucose máu giảm với tốc độ 3-5% mỗi giờ ở nhiệt độ phòng.

1.4. Glucose máu sau ăn 2 giờ

Tiến hành định lượng glucose huyết tương sau khi bệnh nhân ăn 2h, bữa ăn có khoảng 100 g carbohydrat cùng với các thành phần khác. Tuy nhiên, rất khó để kiểm soát thành phần bữa ăn, thời gian bữa ăn và sự hấp thu thức ăn.

Glucose huyết tương $\geq 11,1$ mmol/L là chỉ điểm của ĐTĐ. Giá trị < 6,7 mmol/L được xem như bình thường.

1.5. Nghiệm pháp tăng glucose máu bằng đường uống (Oral glucose tolerance test- OGTT)

Nghiệm pháp này được dùng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ ở những người có glucose huyết tương khi đói cao hơn bình thường nhưng nhỏ hơn 7,0 mmol/L tiến hành làm nghiệm pháp theo đúng quy trình của WHO giúp xác định nguy cơ đái tháo đường tốt hơn.

- *Chuẩn bị bệnh nhân:*

+ Nghiệm pháp nên tiến hành vào buổi sáng sau khi bệnh nhân đã nhịn ăn 10 đến 16 giờ. Nghỉ ngơi 30 phút trước khi tiến hành nghiệm pháp

+ Không tiến hành nghiệm pháp ở những bệnh nhân có bệnh lý cấp tính.

+ Không dùng các thuốc nhóm glucocorticoid, thuốc lợi niệu, thuốc chẹn beta giao cảm ít nhất 3 ngày trước khi làm nghiệm pháp.

+ Bệnh nhân nên duy trì hoạt động thể lực bình thường, ăn uống bình thường (bữa ăn chứa ít nhất 150 g carbohydrat) 3 ngày trước khi làm nghiệm pháp

- *Tiến hành nghiệm pháp:*

+ Lấy máu để định lượng glucose lúc đói trước khi cho bệnh nhân uống đường

+ Cho bệnh nhân uống 75g glucose hoà trong nước trong vòng 5 phút

+ Lấy máu định lượng glucose ở các thời điểm 30, 60, 90 và 120 phút sau uống.

- *Lưu ý:* + Trẻ em uống 1,75 g/kg cân nặng.

+ Trong thời gian làm thử nghiệm, bệnh nhân nghỉ ngơi, không hút thuốc.

- *Giá trị tham chiếu:* Theo Hiệp hội đái tháo đường Mỹ (American Diabetes Association)

+ Nồng độ glucose 2h sau khi làm nghiệm pháp <7,8 mmol/l (<140mg/dl): test dung nạp glucose bình thường.

+ Nồng độ glucose 2h sau khi làm nghiệm pháp >7,8 mmol/l và < 11,1 mmol/l (140 – 199 mg/dl): có tình trạng giảm dung nạp glucose.

+ Nồng độ glucose 2h sau khi làm nghiệm pháp \geq 11,1 mmol/l (\geq 200 mg/dl): chẩn đoán tạm thời ĐTD và cần làm thêm xét nghiệm để chẩn đoán xác định

1.6. Nghiệm pháp tăng glucose máu đường tiêm tĩnh mạch (Intravenous glucose tolerance test- IVGTT)

Được tiến hành ở những bệnh nhân kém hấp thu hay không có khả năng dung nạp carbohydrat đường uống. Tiêm tĩnh mạch glucose với liều 0,5 g/kg cân nặng. Định lượng glucose máu 10 phút 1 lần trong vòng 1 giờ. Thường định lượng cả insulin kèm theo.

2. Các xét nghiệm phân biệt ĐTD typ 1 và typ 2

2.1. Định lượng insulin

Insulin tham gia điều hòa và vận chuyển glucid. Bài xuất insulin chủ yếu được điều hòa bởi nồng độ glucose máu: insulin sẽ tiết ra khi nồng độ glucose huyết tương tăng lên và ngược lại.

- *Mẫu bệnh phẩm:*

+ Máu toàn phần chống đông bằng heparin hoặc serum (yêu cầu bệnh nhân nhịn ăn 8h trước khi lấy máu xét nghiệm)

+ Sau khi lấy bệnh phẩm cần ly tâm ngay và bảo quản ở nhiệt độ 4⁰ C khi chưa tiến hành được ngay. Nếu sau 48h, cần tách lấy huyết tương và bảo quản ở nhiệt độ 26⁰ C.

- *Giá trị tham chiếu:*

+ Người bình thường khi đói nồng độ insulin trong khoảng 10- 20 $\mu\text{U}/\text{ml}$.

+ Bệnh nhân ĐTĐ typ 1 insulin thấp hoặc không có, ĐTĐ typ 2 thể béo nồng độ insulin hoặc cao hơn hoặc bình thường.

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:*

+ Mẫu bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu sẽ gây phá hủy insulin

2.2. Định lượng peptid C

Lượng peptid C tương đương với lượng insulin do tụy bài tiết. Việc định lượng peptid C có tác dụng phân biệt ĐTĐ typ 1 với typ 2. Ở những bệnh nhân ĐTĐ được điều trị bằng insulin, việc định lượng peptid C cho biết lượng insulin trong máu có nguồn gốc nội hay ngoại sinh. Peptid C có thể định lượng khi đói, sau bữa ăn chuẩn hay sau khi kích thích bằng glucagon; tất cả đều có giá trị đánh giá chức năng của tế bào β tụy nội tiết.

Nghiệm pháp glucagon: Tiêm tĩnh mạch 1 mg glucagon khi đói, sau 6 phút lấy máu định lượng peptid C.

Ý nghĩa của nồng độ peptid C trong thử nghiệm glucagon

Trạng thái cơ bản	Sau tiêm glucagon 6 phút	Ý nghĩa
>1,8 $\mu\text{g}/\text{L}$ (0,5 nmol/L)	>2,9 $\mu\text{g}/\text{L}$ (0,8 nmol/L)	ĐTĐ typ 2
<0,7 $\mu\text{g}/\text{L}$ (0,2 nmol/L)	<1,0 $\mu\text{g}/\text{L}$ (0,3 nmol/L)	ĐTĐ typ 1
0,7-1,8 $\mu\text{g}/\text{L}$ (0,2-0,5 nmol/L)	Không tăng	Không đưa ra được kết luận nào

3. Các xét nghiệm theo dõi ĐTĐ

3.1. Glycohemoglobin

Hb người trưởng thành bình thường bao gồm HbA (95-97%), HbA₂ (<3%) và HbF (< 1%). Một lượng nhỏ HbA bị glycosyl hoá tạo thành glycohemoglobin. HbA₁ được tạo thành do sự glycosyl hoá nhóm amin tự do của valin ở đầu N tận của chuỗi beta với các carbohydrat khác nhau. Ngoài ra sự glycosyl hoá còn xảy ra ở các nhóm amin tự do khác trong phân tử Hb. Tất cả các loại Hb bị glycosyl hoá được gọi là glycohemoglobin.

HbA₁ bình thường từ 5-7%, bao gồm: HbA_{1a}, HbA_{1b} và HbA_{1c}. HbA gắn với fructose 1,6 - diphosphat tạo HbA_{1a1}, gắn với glucose -6- phosphat tạo thành HbA_{1a2},

gắn với fructose - 6-phosphat tạo HbA_{1b}, gắn với glucose tạo HbA_{1c}. HbA_{1c} chiếm 75-80% lượng HbA₁ (4-6%).

Bệnh nhân ĐTĐ có tỷ lệ HbA₁ cao hơn bình thường. Thời gian sống của hồng cầu bình thường là 120 ngày, phản ứng glycosyl hoá xảy ra tỷ lệ thuận với nồng độ glucose trong máu, vì vậy xét nghiệm tỷ lệ HbA₁ hay HbA_{1c} là chỉ điểm cho nồng độ glucose máu trung bình trong giai đoạn 2 tháng trước đó. Đây là xét nghiệm hữu ích cho việc theo dõi điều trị bệnh nhân ĐTĐ, dự báo nguy cơ biến chứng. Có rất nhiều phương pháp khác nhau dùng để đo tỷ lệ HbA₁: sắc ký ái lực, sắc ký trao đổi ion, điện di, miễn dịch.

- *Mẫu bệnh phẩm*: máu toàn phần

- *Giá trị tham chiếu*:

Giá trị quy chiếu phụ thuộc vào phương pháp xét nghiệm và hoá chất thuốc thử.

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm*:

Các bệnh lý về Hb có thể làm cho các kết quả xét nghiệm về glycohemoglobin sai lệch vì các Hb bệnh lý có thể ảnh hưởng đến phương pháp xét nghiệm. Hơn nữa, các bệnh lý này thường gây giảm sinh hồng cầu hay tan huyết, dẫn đến khó có thể phân tích kết quả của xét nghiệm glycohemoglobin. Trong các trường hợp này, chúng ta có thể dùng xét nghiệm fructosamin để thay thế.

3.2. Fructosamin

Các protein huyết thanh gắn với glucose trong phản ứng glycosyl hoá tạo fructosamin. Vì albumin là protein có nhiều nhất trong huyết thanh nên sự đo lường fructosamin chủ yếu là đo lượng albumin bị glycosyl hoá. Thời gian bán huỷ của albumin là 2- 3 tuần nên fructosamin là xét nghiệm đánh giá sự kiểm soát nồng độ glucose trong khoảng 3 tuần trước đó.

3.3. Microalbumin niệu

ĐTĐ gây ra những biến đổi ở thận dẫn đến bệnh thận do ĐTĐ. Biến chứng này hình thành trong nhiều năm và có thể làm chậm sự tiến triển của nó bằng sự kiểm soát tốt nồng độ glucose máu. Dấu hiệu sớm của bệnh thận trong ĐTĐ là sự tăng bài tiết albumin trong nước tiểu. Sự định lượng microalbumin niệu cho phép chẩn đoán biến chứng thận giai đoạn sớm, trước khi xuất hiện protein niệu.

- *Mẫu bệnh phẩm*:

+ Xét nghiệm tiến hành trên bệnh phẩm nước tiểu: lấy mẫu nước tiểu ngẫu nhiên hay 24h.

+ Đối với mẫu nước tiểu 24h cần hướng dẫn bệnh nhân cách bảo quản tránh làm nhiễm bẩn bệnh phẩm

- *Giá trị tham chiếu*:

Nồng độ albumin niệu vi lượng từ 20 đến 300mg/ 24h, protein niệu > 0,5 g/24h.

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm*:

- + Mẫu bệnh phẩm không đảm bảo (nhiễm khuẩn do không bảo quản đúng cách)
- + Có thể gặp microalbumin niệu tạm thời trong trường hợp mang thai, ăn nhiều protein, sốt, nhiễm trùng tiết niệu

3.4. Ceton niệu/máu

Xét nghiệm ceton có vai trò quan trọng trong chẩn đoán nhiễm toan đái tháo đường.

- Bình thường mức độ ceton trong nước tiểu là âm tính
- Mức độ ceton trong máu như sau:
 - + Dưới 0,6 mmol/l: bình thường
 - + Từ 0,6 – 1,5mmol/l: nồng độ ceton cao hơn bình thường, cần kiểm tra lại
 - + Từ 1,6 – 3,0 mmol/l: nồng độ ceton cao và có thể có nguy cơ nhiễm toan đái tháo đường
 - + Trên 3,0 mmol/l: nồng độ ceton cao cảnh báo tình trạng sức khỏe nghiêm trọng cần cấp cứu ngay

Nồng độ ceton ngoài tăng cao trong nhiễm toan đái tháo đường còn tăng trong nôn mửa, tiêu chảy mất nước

Khuyến cáo sàng lọc ĐTĐ

- Người lớn không có triệu chứng, không mang thai: Glucose máu khi đói được dùng nhiều hơn là OGTT
- Sàng lọc tất cả người lớn từ 45 tuổi trở lên ít nhất 3 năm 1 lần
- Người lớn, không triệu chứng, không mang thai với ít nhất một trong các biểu hiện dưới đây phải xét nghiệm ở lứa tuổi trẻ hơn và tần số nhiều hơn:
 - + Béo phì (BMI $\geq 27\text{kg/m}^2$)
 - + Thế hệ thứ nhất của gia đình có người ĐTĐ
 - + Nhóm chủng người có nguy cơ cao
 - + Sinh con > 4kg
 - + Có tiền sử ĐTĐ thai nghén
 - + Tăng huyết áp
 - + HDL ≤ 35 hoặc triglycerid ≥ 250 mg/dL
 - + IGT hay IFG ở lần xét nghiệm trước
- Phụ nữ có thai:

50g OGTT với kết quả sau 1h ở tuần thứ 24- 28 của thai kỳ (nếu trước đó đã bị ĐTĐ thai nghén, nên xét nghiệm sớm hơn). Nếu sàng lọc sơ bộ dương tính, làm tiếp 100g OGTT 3h.

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày các xét nghiệm hóa sinh trong chẩn đoán đái tháo đường?
2. Trình bày các xét nghiệm hóa sinh để phân biệt đái tháo đường typ 1 và typ 2?

3. Trình bày các xét nghiệm hóa sinh trong theo dõi điều trị đái tháo đường?
4. Giải thích sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi đái tháo đường

BÀI 2. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH TIM MẠCH

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày được các xét nghiệm enzym và isozym thường dùng trong chẩn đoán, theo dõi, điều trị xơ vữa động mạch và nhồi máu cơ tim
- Trình bày được các xét nghiệm không phải enzym và isozym dùng trong chẩn đoán, theo dõi, điều trị xơ vữa động mạch và nhồi máu cơ tim

*** Kỹ năng**

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh tim mạch trên một số xét nghiệm cận lâm sàng

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập
- Chủ động tìm kiếm tài liệu và chuẩn bị bài trước giờ học

NỘI DUNG

1. Các xét nghiệm đánh giá nguy cơ xơ vữa động mạch

Vai trò của enzym trong sự vận chuyển các thành phần của mảng XVĐM từ các LP lưu thông: cholesterol esterase (CE), lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT), elastase.

-Rối loạn tổng hợp glycoprotein và muco-polysaccarid, ái lực của các chất trên với LP lưu thông.

Sự cân bằng giữa yếu tố huyết tương (rối loạn LP, tăng cholesterol máu) và yếu tố động mạch (tăng huyết áp, sự đông máu, sự lão hóa và hiện tượng mất khả năng đàn hồi của mô liên kết, thiếu oxy máu).

Hiện nay, chưa có biện pháp có thể đề phòng những tai biến mạch máu nhất là ở tim và não do XVĐM gây nên, đôi khi ở tuổi 30. Do vậy, biện pháp hữu hiệu có thể là xác định những yếu tố có nhiều nguy cơ gây XVĐM, qua đó người thầy thuốc có thể khi ở tuổi cho bệnh nhân những lời khuyên về chế độ ăn hoặc dùng thuốc thích hợp.

Những thông số có nhiều nguy cơ gây xơ vữa động mạch, các yếu tố nguy cơ của XVĐM

- + Triglycerid
- + LDL-cholesterol
- + HDL-cholesterol↓
- + Apo A↓
- + Apo B ↑
- + Tỷ số Apo A/Apo B ↑

Như vậy, các thông số về lipid máu cần theo dõi là TG, TC, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Apo A và Apo B. Các thông số khác trong máu cần kiểm tra bao gồm urê, acid uric, glucose và glucose nước tiểu.

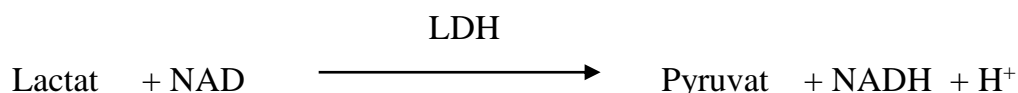
Ở tuổi > 30: sau mỗi 2-3 năm cần kiểm tra các thông số trên 1 lần.

Ở tuổi >45: 1 năm cần kiểm tra các thông số trên 1 lần,

2. Các xét nghiệm enzym chẩn đoán NMCT

2.1. LDH (*Lactatdehydrogenase*)

Là enzym xúc tác cho phản ứng:



- Nguồn gốc có nhiều trong các mô khác nhau, dễ dàng được giải phóng khi cơ tim bị tổn thương

- LDH được cấu tạo bởi 4 chuỗi polypeptide thuộc hai loại H và M, sự tổ hợp của 4 chuỗi tạo nên 5 Isoenzym:

LDH₁: có nhiều trong cơ tim và hồng cầu

LDH₂: Hệ thống lưới nội mô

LDH₃: Phổi

LDH₄: Thận, tụy và rau thai

LDH₅: có nhiều trong cơ vân và gan

- Các isozym LDH có nguồn gốc tổ chức khác nhau nên tùy tổ chức hay mô nào tổn thương sẽ dẫn đến tăng hoạt độ isozym tương ứng. LDH₁ và LDH₂ đặc hiệu cho tim.

- *Mẫu bệnh phẩm:*

+ Huyết tương/huyết thanh

+ Không cần yêu cầu bệnh nhân nhịn ăn trước khi lấy máu

- *Giá trị tham chiếu:*

+ Bình thường: Nồng độ LDH toàn phần huyết thanh < 480UI/L

+ Nồng độ này tăng sau nhồi máu cơ tim 10-12 giờ và đạt cực đại ở 48-72 giờ.

Tăng gấp 2-8 lần so với bình thường và trở về bình thường sau 10-12 ngày. LDH không đặc hiệu cho NMCT.

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:*

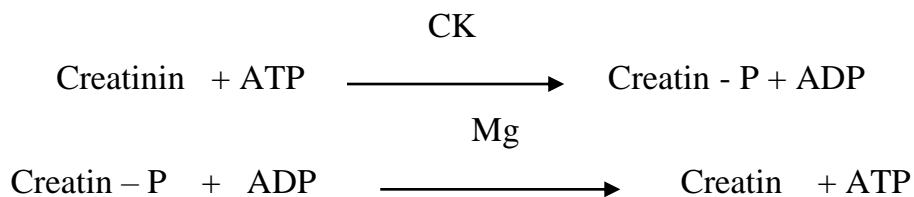
+ Mẫu bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu: Hoạt độ enzyme LDH trong hồng cầu cao gấp 100 lần so với hoạt độ enzyme này trong huyết thanh, vì vậy mẫu bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu sẽ làm ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

+ Bệnh phẩm bảo quản quá lâu, hoặc trong tủ lạnh (4⁰ C quá 12h) sẽ làm giảm LDH.

2.2. *Creatinin kinase (CK)*

2.2.1. *CK toàn phần*

CK xúc tác cho phản ứng:



CK là enzyme được tìm thấy chủ yếu ở cơ tim, cơ vân và một hàm lượng ít hơn ở mô não. Xác định hoạt tính CK là một xét nghiệm hữu ích trong quy trình chẩn đoán các bệnh lý cơ vân, nhồi máu cơ tim và bệnh lý mạch máu não. Tất cả các quá trình bệnh lý tác động tới các cơ quan này đều có thể là nguyên nhân gây tăng hoạt độ CK toàn phần.

Trong nhồi máu cơ tim, tăng CK thường xảy ra trước khi tăng các transaminase và LDH song hiện tại nhiều cơ sở điều trị chuyên khoa đã thay thế xét nghiệm này bằng troponin I hoặc T do tính đặc hiệu với cơ tim cao hơn so với xét nghiệm xác định hoạt độ CK.

- *Giá trị tham chiếu:*

- + Hoạt độ CK bình thường trong huyết thanh ở nam 40-150 U/L, ở nữ 38-174U/L
- + Trong NMCT, CK toàn phần tăng có ý nghĩa nhất trong các xét nghiệm enzym để chẩn đoán. CK huyết thanh tăng 3-5 giờ sau NMCT, đạt cực đại 24-36 giờ và tăng 6-12 lần so với bình thường. Vì tăng cao, tăng sớm, độ nhạy 98-100%, độ đặc hiệu 85%.
- + Sau NMCT, CK toàn phần trở về bình thường sau 3-4 ngày, nếu CK toàn phần tăng quá 5 ngày sau NMCT thì có hiện tượng NMCT lại.
- + Nếu có tổn thương cơ xương rất khó xác định chẩn đoán NMCT bằng CK

Enzym	Thay đổi hoạt độ có giá trị chẩn đoán	Thay đổi hoạt độ tối đa	Trở về bình thường
CK	4-8 giờ	16-36 giờ	3-6 ngày
AST	4-8 giờ	12-48 giờ	3-6 ngày
LDH	6-12 giờ	24-60 giờ	7-15 ngày

2.2.2. Isoenzym CK

- CK được cấu tạo bởi hai chuỗi polypeptide được gọi là các tiểu đơn vị B và M. Tùy theo cách tổ hợp hai chuỗi mà tạo thành 3 dạng isozym CK
- CK –BB (CK1; CK não): cấu tạo bởi hai chuỗi B và một chuỗi M, chỉ có dạng vết trong huyết thanh vì không qua hàng rào máu não (0-3%)
- CK- MB (CK2): Cấu tạo bởi 1 chuỗi B và 1 chuỗi M, có ở huyết thanh với tỷ lệ < 6%
- CK- MM (CK3): Cấu tạo bởi 2 chuỗi M, có ở huyết thanh từ 94-100%.
- Các isozym có thể có các dưới lớp
 - + CK- MB có hai dưới lớp: MB1, MB2
 - + CK-MM có dưới lớp: MM1, MM2, MM3

- Liên quan đến nhồi máu cơ tim là MB2, MM3
- Giá trị CK-MB trong chẩn đoán NMCT giống CK toàn phần nhưng đặc hiệu hơn. CK-MB tăng cao trong vòng 4-8 giờ sau NMCT và đạt cực đại ở 15- 24 giờ. Tăng 10-20 lần so với bình thường (chiếm khoảng 20-30% CK toàn phần, bình thường chỉ < 6%). Độ nhạy CK-MB đạt 95-98%. CK-MB còn tăng trong chấn thương tim, viêm cơ tim, bệnh tim di truyền, bồng nhiệt và bồng điện, thiếu máu, phẫu thuật thay van tim.

Vì thời gian bán hủy nhanh nên không dùng xét nghiệm này để chẩn đoán muộn sau cơn đau tim.

- *Giá trị tham chiếu:*

Bình thường: CK-MB <10 U/L

2.2.3. *Nồng độ CK- MB (CKMB mass)*

- Không phải xác định hoạt độ mà xác định lượng CK trong huyết thanh bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục hoặc miễn dịch khuếch tán
- CK-MB mass giúp chẩn đoán sớm và chẩn đoán phân biệt ở bệnh nhân có tổn thương cơ tim kèm cơ xương, theo dõi điều trị, đánh giá chẩn đoán sớm ở bệnh nhân không ổn định.
- CK-MB mass rất nhạy và có ý nghĩa trong 6 giờ đầu sau đau ngực (nhạy hơn đo hoạt độ CK- MB) tương đương xét nghiệm Myoglobin, nhưng đặc hiệu hơn.
- CK -MB mass > 24 ng/L/h hoặc 4 lần trong 90 phút khi bắt đầu điều trị, chứng tỏ tưới máu lại tốt.

+ Khi chẩn đoán phân biệt tổn thương cơ xương dùng tỷ số CKMB mass/ CK hoạt tính. Giá trị tỷ số này bình thường < 2,5%.

Thời gian sau nhồi máu cơ tim	0- 2 giờ (Lần)	3-4 giờ (Lần)	5-6 giờ (Lần)
Hoạt tính CK	15	35	70
Hoạt tính CKMB	10	25	55
Nồng độ CKMB	30	70	90
Myoglobin	35	80	90

* *Các bệnh khác của tim có tăng hoạt độ enzyme huyết thanh*

Suy tim: CK tăng nhẹ, GOT, GPT, LDH tăng

Loạn nhịp nhanh: CK tăng nhẹ

Viêm cơ tim: CK tăng

2.3. *Các enzym AST, ALT*

2.3.1. *AST (Aspartat amino transferase)*

- AST là enzym xúc tác phản ứng:



- Nguồn gốc tổ chức:

AST có ở mọi tổ chức nhưng chủ yếu tập trung nhiều ở cơ tim, gan, cơ xương. AST khu trú phần lớn ở bào tương của tế bào, còn khoảng 35% ở ty thể.

- Giá trị tham chiếu:

+ Bình thường hoạt độ của AST trong huyết thanh là: Nam: < 37 U/L; Nữ: < 31 U/L

+ Trong nhồi máu cơ tim: AST tăng. Tăng sớm 4-6 giờ và đạt cực đại 16-48 giờ. Tăng 2-25 lần so với bình thường, trở về bình thường sau 3-8 ngày. Nếu AST tăng kéo dài chứng tỏ có đợt nhồi máu cơ tim khác.

- AST còn tăng trong phẫu thuật tim, chấn thương tim, suy tim cấp (do ứ đọng máu dẫn tới hoại tử tế bào cơ tim), thấp tim cấp.

2.3.2. ALT

Cũng tăng trong NMCT. Nhưng hầu như không dùng để chẩn đoán NMCT

3. Các xét nghiệm không phải enzym

3.1. Troponin T (TnT)

- Nguồn gốc:

Troponin là các sợi tơ cơ được tìm thấy trong cơ vân và cơ tim. Có 2 typ sợi cơ: một loại dày chứa myosin và một loại sợi mỏng bao gồm 3 protein khác nhau: actin, tropomyosin và troponin. Bản thân troponin là một phức hợp gồm 3 thành phần: Troponin C, I và T. Các Troponin tim T và I (còn được biết như TnI, TnT, cTnI, cTnT) là các protein điều hòa chức năng co bóp đặc hiệu đối với các sợi cơ tim do chúng kiểm soát tình trạng tương tác giữa các sợi actin và myosin trung gian qua canxi.

- Khi có tình trạng tổn thương cơ tim, các troponin tim được giải phóng vào máu, vì vậy 2 troponin T và I được sử dụng để xác định bệnh nhân có bị nhồi máu cơ tim hay bị một tổn thương cơ tim khác (ví dụ như tình trạng đùng dập cơ tim xảy ra trong chấn thương ngực). Các troponin tim thường được định lượng cùng các marker sinh học khác của tim (CK, CK-MB, myoglobin)

- Giá trị tham chiếu:

+ Bình thường < 0,04 µg/L hay < 0,04 ngm/L

- Sau khi xảy ra tình trạng tổn thương cơ tim, Troponin T sẽ tăng trong vòng 3-12h, đạt nồng độ đỉnh 12-24h và trở về bình thường sau 10-15 ngày.

- Mức tăng TnT trong huyết thanh phụ thuộc mức độ tổn thương NMCT và sự tưới máu lại. Nồng độ TnT trong huyết thanh ở ngày đầu phụ thuộc vào thời gian tắc mạch. Khi bị nhồi máu nồng độ TnT có thể tăng gấp 300 lần so với bình thường, thời gian tăng kéo dài và bền vững hơn so với CK và LDH và có giá trị hơn vì đặc hiệu hơn.

3.2. Troponin I (cTnI)

Chỉ có ở cơ tim, đặc hiệu 100% cho tim. Sau khi xảy ra tình trạng tổn thương cơ tim, Troponin I sẽ tăng trong 3-6h, đạt nồng độ đỉnh sau 14-20h và trở về bình thường sau 5-7 ngày.

* *Chỉ định*

Xét nghiệm hữu ích được chỉ định để:

- + Loại trừ chẩn đoán nhồi máu cơ tim cấp
- + Theo dõi hội chứng vành cấp
- + Nghi ngờ tổn thương cơ tim ở bệnh nhân có những bệnh lý khác về cơ, suy thận, tổn thương đa cơ quan.

* *Giá trị tham chiếu:*

- Bình thường < 0,1 – 0,2 µg/L. Không có dương tính giả
- Khi NMCT:
 - + TnI tăng cùng với TnT 3-6 giờ sau cơn đau và đạt giá trị cực đại ở 14-20 giờ
 - + Độ nhạy của TnI giống TnT trong pha đầu của NMCT cấp. Tăng cùng với CK-MB mass, CK isozym, Myoglobin
 - + TnI chỉ có một đỉnh tăng ở pha đầu tiên
 - + Sau ghép tim nếu không có sự loại trừ quả tim ghép thì TnI trở về bình thường rất nhanh (khoảng 2-3 tuần), trong khi TnT phải mất 2-3 tháng.

3.3. Myoglobin

Myoglobin là một protein chính chuyên trữ oxy và có chứa hem chỉ được thấy trong bào tương của các tế bào cơ tim và cơ vân. Myoglobin được gắn với oxy theo cách có thể hồi phục và đóng vai trò như một bể chứa oxy để đáp ứng nhu cầu oxy trong một thời gian rất ngắn.

Khi xảy ra tình trạng tổn thương tế bào cơ do một quá trình bệnh lý (ví dụ do nhồi máu cơ tim hay do chấn thương) myoglobin sẽ được giải phóng vào máu. Nồng độ myoglobin thường bắt đầu tăng lên trong 2 đến 3h sau khi mô cơ tim bị nhồi máu, đạt tới mức đỉnh vào 8 – 12h và thường trở lại bình thường trong vòng 1 ngày.

Myoglobin giúp cho chẩn đoán sớm (trước 3h) tình trạng nhồi máu cơ tim (chỉ định này hiện nay ít được áp dụng do nhiều nguyên nhân gây tình trạng dương tính giả). Myoglobin là dấu ấn sinh học tim tăng sớm nhất khi có tình trạng hoại tử cơ tim.

Test đạt độ nhạy >95% trong vòng 6 giờ từ khi khởi phát triệu chứng. Tình trạng giải phóng myoglobin có thể xảy ra trước khi có tăng hoạt độ CK -MB từ 2-5 giờ.

- *Giá trị tham chiếu:*

+ Nam: 28 - 72 ng/mL

+ Nữ: 25 - 58 ng/mL

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:*

+ Mẫu bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu

+ Tiêm bắp nhiều lần có thể gây tăng nồng độ myoglobin máu

+ Tăng nồng độ myoglobin có thể xảy ra khi có tình trạng tổn thương cơ vân, gắng sức quá mức, hoặc uống quá nhiều rượu.

+ Các thuốc có thể làm tăng nồng độ myoglobin máu là: statin, theophyllin.

* *Một số xét nghiệm khác:*

- **C-Reactive Protein (CRP):** Là một protein của pha cấp, có thể là một dấu ấn của quá trình xơ vữa động mạch cấp và mạn tính cùng với một thành phần viêm nhiễm. Trong hầu hết các nghiên cứu cho thấy việc đo lường troponin tim là yếu tố tiên lượng trong giai đoạn ngắn và CRP tiên lượng cho giai đoạn dài; tuy nhiên, không phải cho tất cả các trường hợp. Khi có sự hoại tử tế bào cơ tim, CRP tăng.

- **Các cytokine:** Một số interleukin kích thích hoặc ức chế (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18) thông qua việc hỗ trợ gián tiếp sự sản sinh CRP, phát triển xơ vữa động mạch và các tình trạng cấp tính. Những cytokine này kích thích hoặc ức chế các leukocyte, thường qua tế bào T và ảnh hưởng trên các monocyte – tác nhân gây xơ vữa động mạch. Một số nghiên cứu cho thấy IL-6 có giá trị tiên lượng hơn so với CRP.

- **Tốc độ máu lắng:** Tốc độ máu lắng tăng 70 – 100 mm trong những giờ đầu của NMCT và giảm dần sau 4-6 tuần. Do đó xét nghiệm này có ý nghĩa lâm sàng vì thời gian này, hoạt độ các enzyme của tim trong huyết thanh đã trở về bình thường.

- **Bạch cầu trung tính:** Bạch cầu trung tính tăng trong nhồi máu cơ tim và trở về bình thường sau khoảng 15 ngày.

- **NT-proBNP (*N-terminal pro B-type natriuretic peptide*):** là peptid gồm 76 acid amin. Tiền thân của NT-proBNP là pre-pro-peptid bao gồm 134 acid amin. Pre-pro-peptid tách ra thành: proBNP (108 gốc acid amin) và một đoạn peptid tín hiệu (26 gốc acid amin). Khi được giải phóng vào trong máu, proBNP sẽ bị thủy phân bởi một enzyme protease là furin, tạo thành NT-proBNP (76 acid amin) và BNP (32 acid amin). Ở người, NT-proBNP và BNP có hàm lượng lớn trong cơ tâm thất trái, hàm lượng nhỏ trong mô tâm nhĩ và cơ tâm thất phải. Khi tăng sức nén huyết động học tại tim (thành tim bị giãn, phì đại hoặc tăng áp lực tác động lên thành tim), NT-proBNP sẽ tăng phóng thích. NT-proBNP gia tăng nồng độ ở bệnh nhân suy tim. NT-proBNP được thải trừ thụ động, chủ yếu là qua thận. Xét nghiệm định lượng NT- proBNP có độ nhạy cao và thông dụng hơn BNP trong chẩn đoán bệnh suy tim.

- **D – Dimer:** D-dimer trong huyết tương chính là sản phẩm thoái giáng của fibrin được hình thành dưới tác động của plasmin trên các cầu nối chéo của đoạn D fibrin và sự xuất hiện sản phẩm này trong huyết tương chỉ dẫn cơ chế tạo cục đông đã được hoạt hóa và thrombin được tạo ra.

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày các xét nghiệm enzym và isozym thường dùng trong chẩn đoán, theo dõi, điều trị xơ vữa động mạch và nhồi máu cơ tim?
2. Trình bày các xét nghiệm không phải enzym và isozym dùng trong chẩn đoán, theo dõi, điều trị xơ vữa động mạch và nhồi máu cơ tim?

BÀI 3. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI RỐI LOẠN LIPID MÁU

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày được đặc điểm và vai trò các loại lipoprotein huyết tương
- Giải thích được các xét nghiệm đánh giá rối loạn lipid máu và ý nghĩa lâm sàng của các xét nghiệm

*** Kỹ năng**

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi rối loạn lipid máu trên một số xét nghiệm cận lâm sàng

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
- Chủ động tìm kiếm tài liệu và chuẩn bị bài trước giờ học

NỘI DUNG

1. Lipoprotein huyết tương

- Lipid là thành phần quan trọng của màng tế bào. Lipid không tan trong nước nên để tuần hoàn được trong huyết tương và hệ bạch huyết, chúng phải kết hợp với protein đặc hiệu tạo thành phức hợp lipoprotein (LP)
- Lipid là những sản phẩm ngưng tụ của các acid béo với alcol. Ngoài ra, lipid là danh từ chỉ dùng cho acid béo, cholesterol tự do và cholesterol este.
- Trong cơ thể, lipid tồn tại dưới 3 dạng:
 - + Cấu trúc: có trong tất cả các mô, tham gia cấu tạo màng tế bào, thành phần là các loại lipid phức tạp, phổ biến là phospholipid.
 - + Dự trữ: tạo nên lớp mỡ dưới da thành phần chủ yếu là triglycerid (TG).
 - + Lưu hành: gồm phospholipid (PL), triglycerid (TG), cholesterol tự do (FC), cholesterol este (CE) và acid béo tự do.

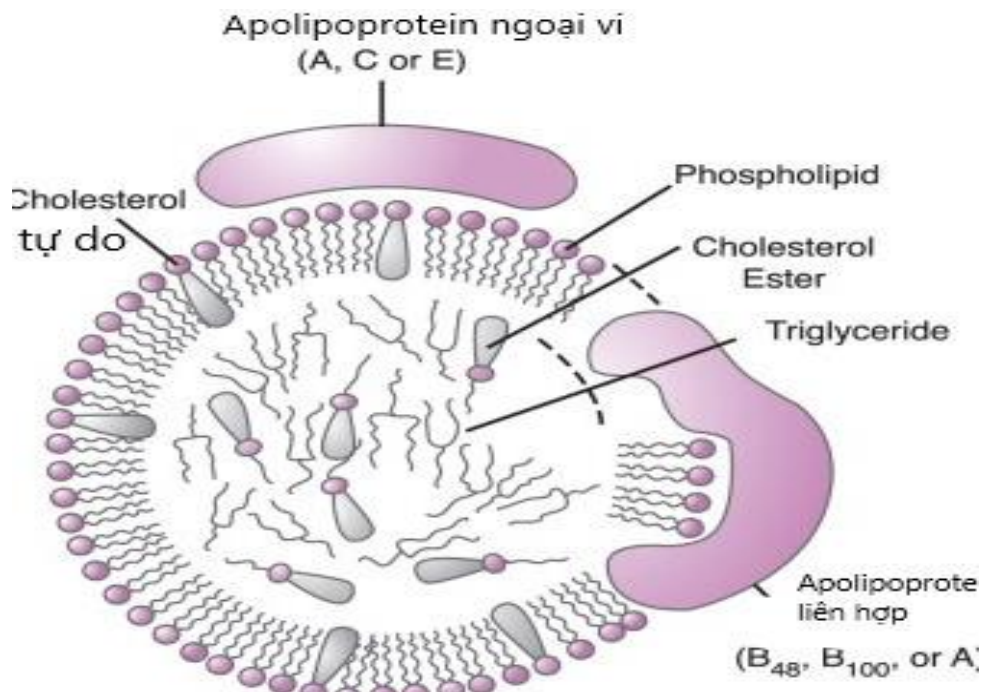
1.1. Cấu trúc của lipoprotein

- Thành phần: Triglycerid, phospholipid, cholesterol, cholesterol este, protein
- Cấu trúc: hình cầu, đường kính 100-500A
 - + Phần vỏ: Gồm cholesterol tự do, apoprotein, phospholipid (các phân tử ưa nước), đảm bảo tính tan của lipoprotein trong huyết tương, vận chuyển các lipid không tan
 - + Phần trung tâm: Gồm triglycerid, cholesterol este (các phân tử kỵ nước)
- Apoprotein (Apo): Là thành phần của lipoprotein. Các apoprotein có nhiều chức năng quan trọng:
 - + Chức năng hòa tan: nhờ có apoprotein mà lipoprotein hòa tan được trong nước, chính vì vậy mà nó được vận chuyển trong máu và bạch huyết. Tỷ lệ protein trong thành

phần cấu tạo càng cao thì tính tan trong nước của lipoprotein càng cao. Nếu tính tan bị rối loạn hoặc sự vận chuyển lipoprotein bị chậm sẽ dẫn đến tình trạng ứ đọng các phân tử giàu lipid – một trong các yếu tố gây xơ vữa động mạch.

+ Chức năng điều hòa: các apo có chức năng hoạt hóa hay ức chế một enzym chuyển hóa lipoprotein. Ví dụ: Apo A-I hoạt hóa enzym LCAT.

+ Chức năng nhận diện: các phân tử protein trong cấu trúc của lipoprotein có chức năng nhận diện các receptor ở màng tế bào. Thông qua receptor đặc hiệu, các lipoprotein mang những apo tương ứng mới có thể vào trong tế bào. Ví dụ: apo B của LDL được các receptor của màng nhận diện để đưa LDL vào trong tế bào.



1.2. Phân loại lipoprotein

Lp được phân loại dựa trên tỷ trọng của chúng theo siêu ly tâm phân đoạn. Độ lắng của các loại Lp khi siêu ly tâm tỷ lệ nghịch với trữ lượng lipid

- Chylomicron (CM): tỷ trọng $\leq 0,96\text{g/ml}$, là những hạt mỡ nhũ tương hóa lơ lửng trong huyết tương và được tạo thành nhiều nhất bởi tế bào màng ruột. CM có hàm lượng TG cao (90%) còn lại là cholesterol (5%), phospholipid (4%). Apoprotein chủ yếu là apo B-48, apo E và apo A. CM chỉ có mặt trong thời gian ngắn ở huyết tương sau bữa ăn giàu chất béo, nên huyết tương có màu đục. Chức năng của CM là vận chuyển TG ngoại sinh đến gan.

- Lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL = very low density lipoprotein): tỷ trọng 0.96-1.006, được tạo thành ở tế bào gan và là dạng vận chuyển TG nội sinh - được tổng hợp ở gan vào hệ tuần hoàn VLDL chứa 65% TG, 20% Cholesterol, 10% phospholipid và 5% protein. VLDL là yếu tố gây vữa xơ động mạch. Apo của VLDL gồm ApoB-100, ApoC (I, II và III), apo E.

- Lipoprotein tỷ trọng trung gian (IDL = intermediate density lipoprotein), còn gọi là VLDL tàn dư, là sản phẩm thoái hoá của VLDL. IDL có trong máu tuần hoàn với số lượng nhỏ nhưng có thể tích lũy khi có rối loạn.

- Lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL - low density lipoprotein): Là sản phẩm thoái hoá của VLDL trong máu tuần hoàn, có tỷ trọng 1.109 - 1.063g/ml. Thành phần có 10% TG, 50% cholesterol, 20% phospholipid và 20% protein. Chức năng chính của LDL là vận chuyển phần lớn cholesterol từ máu tới các mô để sử dụng. LDL được gắn vào thụ thể đặc hiệu ở màng tế bào, rồi được đưa vào trong tế bào. Nồng độ LDL trong huyết tương từ 3.38 đến 4.16 mmol/l. Apo chính là apo B.

- Lipoprotein tỷ trọng cao (HDL = high density lipoprotein) tỷ trọng 1.063 - 1.210 g/ml, được tổng hợp ở gan và giải phóng vào hệ tuần hoàn dưới dạng HDL mới sinh, rồi chuyển thành HDL 3 -> HDL 2 nhờ xúc tác của LCAT (lecithin cholesterol acyl transferase). Thành phần: TG 5%, cholesterol 20%, phospholipid 25% và protein 55%, chức năng chính của HDL là vận chuyển trở về các phân tử cholesterol từ các mô ngoại vi đến gan và ở gan, HDL là yếu tố bảo vệ chống vữa xơ động mạch. Ở người, HDL trong máu tăng dần theo tuổi và sau dậy thì, hàm lượng HDL ở nữ cao hơn ở nam giới.

- Lipoprotein (a) = viết tắt là Lp (a): giống LDL nhưng có thêm một glycoprotein đặc hiệu gọi là apo (a) và được nối với apoB bằng một liên kết disulfid, có khả năng glycosyl hoá cao.

Nồng độ Lp (a) trong huyết thanh liên quan đến sự phát triển của bệnh mạch vành sớm, nhồi máu cơ tim và lên mạch máu não.

Lipoprotein	Thành phần				Apoprotein
	Cholesterol	Triglycerid	Phospholipid	Protein	
Chylomicrons	5%	90%	1%	4%	Apo C, B-48, E, A
VLDL	20%	65%	5%	10%	B-100, C, E
IDL	35%	30%	15%	20%	B-100, E
LDL	50%	10%	20%	20%	B-100
HDL	20%	5%	50%	25%	A, C, E

2. Các loại xét nghiệm lipid máu

2.1. Cholesterol (PTL = 387)

Cholesterol huyết tương có 2 nguồn gốc: ngoại sinh (thức ăn) và nội sinh (do cơ thể tổng hợp).

Cholesterol ngoại sinh được vận chuyển từ ruột đến gan bởi chylomicron, còn cholesterol nội sinh được tổng hợp chủ yếu ở gan (khoảng 1,2g/ngày) thì một phần được vận chuyển tới tế bào ngoại biên bởi các LP như VLDL, IDL, LDL, phần khác đổ vào

mật, xuống ruột, ở ruột cholesterol lại có thể được tái hấp thu hoặc biến đổi thành coprosterol thải theo phân.

Khoảng 25 - 40% cholesterol huyết tương ở dưới dạng tự do, 60 - 75% dưới dạng ester hóa với acid béo 16 hoặc 18 carbon. Trong xét nghiệm hai dạng này thường được đo chung với nhau gọi là cholesterol toàn phần [CT].

* *Giá trị tham chiếu:* Bình thường 3,9 – 5,2 mmol/l.

Cholesterol huyết tăng lên theo tuổi ở cả nam và nữ cho đến 60 tuổi. Trước 50 tuổi cholesterol ở nam cao hơn nữ nhưng từ 50 tuổi trở lên cholesterol ở nữ có khuynh hướng cao hơn nam.

* *Phương pháp định lượng:*

- Phương pháp tối ưu nhất là định lượng cholesterol theo phương pháp so màu.
- Định lượng bằng phương pháp đo độ đục sau khi làm kết quả huyết thanh (nếu nồng độ triglyceride < 400mg/dl)
- Hoặc có thể tính toán dựa vào công thức Friedewald sau khi đã xác định được LDL - C hoặc HDL-C:

+ Tính theo mmol/l: $LDL - C = Cholesterol - (triglyceride/2,2 + HDL-C)$

+ Tính theo mg/dl: $LDL - C = Cholesterol - (triglyceride/5 + HDL-C)$

Không áp dụng công thức này khi Triglyceride > 4,5 mmol/L (> 400 mg/dL)

* *Thay đổi bệnh lý:*

- Cholesterol tăng nguyên phát trong bệnh tăng cholesterol huyết gia đình (kiểu Iia) và thứ phát trong các bệnh thiếu năng giáp trạng, thận nhiễm mỡ, đái tháo đường, viêm tụy, vàng da tắc ruột, XVĐM ...

Đặc biệt có một mối tương quan thuận giữa nồng độ cholesterol huyết và tần suất bị bệnh động mạch vành (BMV) đã được khẳng định qua nhiều nghiên cứu lâm sàng và dịch tễ, nên cholesterol toàn phần được coi là một yếu tố nguy cơ độc lập đối với BMV.

- Cholesterol giảm nguyên phát trong các bệnh di truyền như không có α LP, hoặc không có β LP và giảm thứ phát trong các bệnh như cường giáp, suy gan, suy dinh dưỡng do nhiều nguyên nhân khác nhau. Với mục đích phòng bệnh tim mạch xét nghiệm cholesterol thường được chỉ định cho các đối tượng có yếu tố nguy cơ như:

+ Trẻ em thanh thiếu niên có cha mẹ hoặc họ hàng gần bị đột tử trước 60 tuổi.

+ Trẻ em có cha mẹ có tiền sử tăng lipid huyết hoặc về một phía cha hay mẹ có cholesterol huyết trên 300mg/dl.

Cholesterol trên 200mg/dl ở trẻ vị thành niên 2 - 19 tuổi được coi là cao và cần nghiên cứu sâu hơn bằng cách chỉ định thêm các xét nghiệm lipid và LP khác. Theo khuyến cáo của hội XVĐM Châu Âu thì BMV ít gặp ở nồng độ cholesterol < 200mg/dl. Nồng độ cholesterol từ 200-250 có nguy cơ vừa và > 250 có nguy cơ cao.

2.2. Triglycerid (PTL= 875)

Triglycerid là ester của glycerol với 3 acid béo. Ở người trong tổ chức mỡ dự trữ những acid béo thường là 18 và 16 carbon có hay không có liên kết đôi như acid palmitic và oleic.

Triglycerid là một dạng mỡ và là nguồn cung cấp năng lượng chính cho cơ thể, nó được tổng hợp ở gan từ acid béo, protein và glucose. Hầu hết triglyceride được trữ trong mô mỡ dưới dạng glycerol, monoglyceride, acid béo và được cơ thể mang ra tái sử dụng như một nguồn cung cấp năng lượng khi cần.

* *Giá trị tham chiếu:*

- Bình thường ≤ 150 mg/dl hay $\leq 1,7$ mmol/l
- Giới hạn cao: 150 -199 mg/dl hay 1,7 – 2,25 mmol/l
- Cao: 200 -299 mg/dl hay 2,26 – 5,64 mmol/l
- Rất cao: ≥ 500 mg/dl hay $\geq 5,65$ mmol/l

* *Thay đổi bệnh lý:*

TG tăng nguyên phát trong bệnh tăng lipid huyết gia đình, các kiểu rối loạn LP huyết kiểu Iib, kiểu I, IV và V. TG huyết tăng thứ phát trong ĐTĐ, xơ gan do rượu, viêm tụy, viêm gan, tắc mật, hội chứng thận hư và các biểu hiện lâm sàng của XVĐM. Trong những năm gần đây tăng TG huyết được coi là yếu tố nguy cơ độc lập đối với XVĐM. Đặc biệt khi giá trị TG lúc đói không cao nhưng tăng TG huyết sau ăn kéo dài là một nguy cơ tiềm ẩn. Việc định lượng TG huyết sau ăn giúp nhiều cho phòng bệnh tim mạch. Trên lâm sàng xét nghiệm TG thường được chỉ định để tìm nguy cơ XVĐM, phân loại rối loạn LP huyết và theo dõi điều trị bằng thuốc hạ lipid huyết và một số thuốc khác.

* Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Có thai và lấy máu khi bệnh nhân không nhịn ăn sẽ làm tăng nồng độ triglyceride máu (cần yêu cầu bệnh nhân nhịn ăn 12h trước khi lấy máu làm xét nghiệm).
- Tình trạng thay đổi triglyceride theo nhịp ngày đêm: nồng độ triglyceride thấp nhất buổi sáng, cao nhất buổi trưa.
- Các thuốc có thể làm thay đổi nồng độ triglyceride:
 - + Thuốc làm tăng: thuốc chẹn β giao cảm, thuốc tránh thai, thuốc lợi tiểu thiazid...
 - + Thuốc làm giảm: niacin, acid ascorbic...

2.3. Phospholipid (PTL= 774 theo Lecithin)

Phospholipid: chiếm khoảng 30% lipid toàn phần.

Phospholipid (PL) bao gồm lecithin (60-65%), sphingomyelin (20-25%), cephalin (5-8%).

* *Trị số bình thường:*

- 60-100mg/dl (biểu thị bằng phospho).
- 150-250mg/dl (biểu thị bằng lecithin) (1,94-3,21mmol/L).

Số liệu Việt Nam: $207 \pm 0,28 \text{g/L}$ ($2,67 \pm 0.36 \text{ mmol/l}$).

* *Thay đổi sinh lý:*

- Phospholipid thấp khi mới sinh rồi tăng dần tới 14 tuổi thì đạt trị số bình thường.
- Phospholipid tăng khi có thai và giảm dưới tác dụng của insulin.

* *Thay đổi bệnh lý:*

- Tăng phospholipid và cholesterol trong vàng da tắc mật (trong gan và ngoài gan) xơ gan mật thứ phát sau rối loạn ống dẫn mật mạn tính, xơ gan mật nguyên phát.

- Tăng nhẹ và không thường xuyên trong viêm gan virus cấp.
- Giảm trong xơ gan mất bù nặng.

- Khi bị xơ gan cấp phospholipid tăng trong một số ca, nhưng đến giai đoạn áp chót phospholipid giảm.

- Phospholipid tăng trong thận nhiễm mỡ.

- Đối với nguy cơ XVĐM: phospholipid (có tính chất ưa nước) đóng vai trò quan trọng trong việc hòa tan và bình ổn cholesterol huyết thanh, vì vậy sự xác định tỷ số phospholipid/cholesterol là một thử nghiệm về nguy cơ sinh XVĐM tốt hơn là cholesterol. Tỷ số này càng giảm thì cholesterol càng có khuynh hướng lắng đọng trên động mạch. Trị số bình thường 1 - 1,2 (tăng trong bệnh Niemann - Pick).

Tất cả lipid huyết đều ở dưới dạng kết hợp với protein:

- Acid béo tự do kết hợp với albumin tạo thành phức hợp albumin - acid béo. Phức hợp này có khả năng vận chuyển acid béo rất lớn. Một ngày có thể chuyển 50-150g acid béo, mặc dù acid béo chỉ chiếm khoảng 1% trong phức hợp albumin - acid béo.

- Các lipid còn lại (cholesterol, Triglycerid, Phospholipid) tham gia phức hợp với các protein đặc biệt được gọi tên là những apolipoprotein hoặc apoprotein (Apo) để tạo thành các lipoprotein (LP).

2.4. HDL-C

- HDL- C được tổng hợp ban đầu ở gan và một phần nhỏ ở ruột dưới dạng những phân tử tiền chất. HDL- C có hai vai trò quan trọng cung cấp apoprotein cho CM, VLDL- C và tham gia vận chuyển cholesterol "trở về" gan

- Giá trị tham chiếu:

+ Đối với nam: 0,9 - 1,4 mmol/l

+ Đối với nữ: 1,1 - 1,7 mmol/l

HDL-C giảm là một trong những yếu tố dự báo nguy cơ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh tim mạch.

- *Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:* Giá trị HDL-C bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như hút thuốc lá, tập luyện, tuổi, giới.

- Nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh HDL-C là yếu tố nguy cơ độc lập với cholesterol toàn phần. Có một mối tương quan nghịch giữa HDL-C và tần suất BMV.

2.5. LDL-C

- LDL-C có mối tương quan thuận với tần số chết do BMV.

Tần suất NMCT và hệ số nguy cơ tương ứng với nồng độ LDL-C

Nồng độ LDL-C (mg/dl)	Tần suất NMCT	Hệ số nguy cơ
< 120	0,8	1,0
120 - 149	9,5	11,9
150 - 169	19,1	23,8
170 - 189	38,7	48,4
> 190	9,4	117,3

- Giá trị bình thường < 130mg/dl.

- Nếu có thêm yếu tố nguy cơ khác thì LDL-C cần giảm xuống < 100mg/dl

3. Những xét nghiệm hóa sinh nâng cao đánh giá nguy cơ XVDM

3.1. Non – HDL – C

- Non-HDL-C được tính bằng công thức: $\text{Non-HDL-C} = \text{TC} - (\text{HDL-C})$.

- Giá trị tham chiếu:

+ Lý tưởng là: <3,37 mmol/ L (130 mg/ dL)

+ Gần / trên tối ưu: 3,37-4,12 mmol/ L (130-159 mg/ dL)

+ Cao: 4,9-5,7 mmol/ L (190-219 mg/ dL)

+ Rất cao: >5,7 mmol/ L (220 mg/ dL)

3.2. Apoprotein A – I (Apo A-I)

- Apo A-I là một thành phần của lipoprotein mật độ cao (HDL). Apo A-I gắn vào màng tế bào và thúc đẩy sự di chuyển của cholesterol và phospholipid từ bên trong tế bào đến bề mặt bên ngoài. Khi ra khỏi tế bào, các chất này kết hợp với apo A-I để tạo thành HDL. Apo-I cũng kích hoạt một phản ứng gọi là esterification cholesterol chuyển đổi cholesterol thành một dạng có thể được tích hợp đầy đủ vào HDL và vận chuyển qua máu.

- Giá trị bình thường:

Nam: 105 – 175 mg/dl

Nữ: 105 – 205 mg/dl

Apo A-I trong máu giảm là yếu tố dự báo nguy cơ xơ vữa động mạch

3.2. Apoprotein B (Apo B)

- Apoprotein B (còn được gọi là Apoprotein B -100) là một protein tham gia vào quá trình chuyển hóa lipid và là thành phần protein chính của lipoprotein như lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) và lipoprotein tỷ trọng thấp.

- Giá trị tham chiếu:

ApoB bình thường đối với nam = 55-140 mg/dL, đối với nữ = 55-125 mg/dL, dưới 100 mg/dL được xem như nguy cơ thấp đối với bệnh tim mạch và đái tháo đường.

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày định nghĩa, thành phần và cấu trúc của lipoprotein huyết tương?
2. Trình bày phân loại lipoprotein huyết tương. Nêu đặc điểm sinh học và những chức năng chính của từng loại lipoprotein huyết tương?
3. Giải thích các xét nghiệm đánh giá rối loạn lipid máu và ý nghĩa lâm sàng của các xét nghiệm?

BÀI 4. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH GAN MẬT

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày được các xét nghiệm đánh giá chức năng chuyển hóa các chất, chức năng khử độc và bài tiết của gan
- Giải thích được các xét nghiệm enzym đánh giá chức năng của hệ thống gan-mật
- Giải thích được các xét nghiệm đặc hiệu chẩn đoán viêm gan do virus

*** Kỹ năng**

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh gan mật trên một số xét nghiệm cận lâm sàng.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
- Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Đại cương

Gan đảm nhiệm nhiều nhiệm vụ khác nhau và phức tạp, bao gồm:

- Chức năng chuyển hóa các chất: carbohydrat, lipid, acid amin và protein, bilirubin, hormon.
- Chức năng bài tiết: acid mật, cholesterol, bilirubin.
- Chức năng đối với hệ máu: sản xuất các yếu tố đông máu, sản xuất tế bào hồng cầu trong thai nhi.
- Chức năng khử độc đối với các chất như bilirubin, amoniac, alcol và thuốc....
- Chức năng tàng trữ các chất, bao gồm glycogen, lipid, acid amin và protein, sắt, đồng, các vitamin...
- Chức năng miễn dịch: thực bào đối với vi khuẩn và các chất ngoại sinh khác, bài tiết IgA, tham gia trong cơ chế thể dịch.

2. Các chỉ số đánh giá chức năng gan

*** Các xét nghiệm sử dụng đánh giá chức năng gan**

- Xét nghiệm thông thường

ALT, AST, phosphatase kiềm, γ -glutamyltransferase (γ -GT), leucin aminopeptidase, 5 nucleotidase, albumin, protein toàn phần, bilirubin.

- Xét nghiệm đặc hiệu

α -fetoprotein, amoniac, ceruloplasmin, BSP, sắt và ferritin, acid mật huyết thanh.

- Xét nghiệm nước tiểu

Urobilinogen, bilirubin

- Xét nghiệm miễn dịch

Kháng thể IgM, IgG đối với viêm gan.

Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B

Kháng thể của kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B.

Kháng thể IgM và IgG của viêm gan D.

Kháng thể kháng ty thể.

- Xét nghiệm máu

Thời gian prothrombin, các yếu tố đông máu.

Định lượng các tuỷ hemoglobin bất thường.

Nghiên cứu enzym hồng cầu...

2.1. Các chỉ số đánh giá chức năng chuyển hóa chất

Đánh giá chức năng chuyển hóa chất của gan bao gồm nhiều xét nghiệm hóa sinh. Tổng hợp protein là một chức năng chuyển hóa chính của gan. Mặc dầu gan sản xuất hầu hết các protein trong huyết tương, việc định lượng albumin và thời gian prothrombin đưa ra những thông tin rất hữu ích cho việc phân tích các thành phần protein cá thể. Đây là 2 chỉ số được dùng phổ biến vì chúng phản ánh sự tổng hợp và giải phóng chất của gan.

2.1.1. Albumin huyết thanh

Albumin là protein có ý nghĩa nhất để định tính khả năng tổng hợp chất của gan. Trạng thái dinh dưỡng của bệnh nhân có tầm quan trọng lớn, bởi vì sự tổng hợp albumin phụ thuộc vào số lượng acid amin từ thực đơn, đặc biệt là tryptophan. Hoạt động cân bằng của hormon, áp lực thẩm thấu, chức năng thận cũng ảnh hưởng đến nồng độ albumin huyết thanh. Khi gan bị bệnh, nồng độ albumin huyết thanh sẽ giảm và sự giảm này không xảy ra ngay vì nửa đời sống của albumin xấp xỉ 20 ngày, do vậy sự suy giảm tổng hợp albumin sẽ được phát hiện sau khoảng 3 tuần lễ. Ý nghĩa của việc định lượng albumin huyết thanh là đánh giá bệnh gan mạn tính hơn là tình trạng cấp tính. Nếu nồng độ albumin huyết thanh giảm có nghĩa là gan đã bị giảm chức năng trong thời gian dài trước đó. Bởi vậy, khi nồng độ albumin huyết thanh bình thường chưa thể loại bỏ bệnh lý gan và trạng thái bệnh lý gan cấp tính có thể đang tồn tại.

- Giá trị tham chiếu:

+ Trị số bình thường: 34 – 48 g/l.

+ Albumin máu tăng trong: Mất nước (nôn nhiều, tiêu chảy nặng).

+ Albumin máu giảm trong: Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận). Bệnh không có albumin huyết bẩm sinh. Giảm tổng hợp (viêm gan nặng, xơ gan), kém hấp thu, kém dinh dưỡng, Mất albumin (bong, tổn thương rỉ dịch, bệnh đường ruột mất protein). Ung thư, nhiễm trùng.

2.1.2. Thời gian prothrombin

Thời gian prothrombin được dùng để đánh giá chức năng gan nhưng ít được sử dụng để chẩn đoán ban đầu về bệnh lý gan. Việc xác định từng điểm của thời gian prothrombin có ý nghĩa cho giai đoạn tiếp theo của bệnh hoặc đánh giá nguy cơ chảy máu trên bệnh nhân. Thời gian prothrombin xác định con đường đông máu ngoại lai cho nên bất cứ một trong những yếu tố đông máu được sản xuất bởi gan (yếu tố I, II, V, VII, IX và X) bị thiếu hụt, thời gian prothrombin sẽ kéo dài. Bởi vì nửa đời sống của các yếu tố đông máu được sản xuất từ gan nằm trong khoảng 6 giờ đến 5 ngày nên những trạng thái bệnh lý gan cấp tính có thời gian prothrombin bất thường xuất hiện sớm hơn và có thể là một xét nghiệm đầu tiên cho thấy sự nghiêm trọng của suy giảm chức năng gan. Thời gian prothrombin kéo dài và sự bất bình thường tăng là dấu hiệu để chẩn đoán sự suy giảm trầm trọng chức năng gan. Điều chú ý là mặc dù thời gian prothrombin không liên quan đặc hiệu với bệnh gan nhưng chỉ số này có giá trị đặc biệt trong nghiên cứu khả năng tổng hợp chất của gan.

2.1.3. Lipid và lipoprotein huyết thanh

Có nhiều sự bất thường của chuyển hóa lipid và lipoprotein huyết thanh trong bệnh lý gan. Hình ảnh điển hình được chú ý là mức tăng triglycerid (TG) và acid béo, sự giảm cholesterol este (CE) và sự thay đổi đi kèm của nồng độ lipoprotein. Những bệnh lý trên có thể do sự thiếu hụt của hai enzym nguồn gốc gan - đó là lectithin cholesterol acyltransferase (LCA) và lipoprotein lipase (LPL). Gan sản xuất lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) và lipoprotein tỷ trọng cao (HDL), những lipoprotein này có nồng độ giảm trong bệnh gan. Sự xuất hiện của lipoprotein bất thường - LpX - là yếu tố có độ nhạy và độ đặc hiệu cho bệnh lý ứ mật (cholestasis).

2.1.4. Globulin huyết thanh

α -globulin huyết thanh cũng có xu hướng giảm trong bệnh gan mạn tính; γ -globulin huyết thanh tăng nhất thời trong bệnh gan cấp tính và giữ mức tăng trong bệnh gan mạn tính, sự tăng cao nhất của γ -globulin xuất hiện trong tình trạng viêm gan cấp trên bệnh gan mạn tính và xơ gan sau hoại tử. Đặc biệt, có sự tăng kèm theo của IgG và IgM trong bệnh lý viêm gan cấp trên bệnh gan mạn tính. IgM tăng trong xơ gan ứ mật nguyên phát và IgA tăng trong xơ gan do rượu.

2.1.5. Bilirubin huyết thanh

Định lượng nồng độ bilirubin liên hợp và bilirubin tự do là phương pháp hữu ích trong chẩn đoán vàng da và bệnh gan. Nồng độ bilirubin huyết thanh là kết quả của sự cân bằng giữa quá trình sản sinh bilirubin từ thoái hóa hemoglobin và khả năng thanh lọc của gan đối với bilirubin huyết thanh. Nồng độ trung bình của bilirubin toàn phần huyết tương ở người trưởng thành có biểu hiện bên ngoài khỏe mạnh <1mg/dL, trong đó bilirubin tự do < 0,8mg/dL và bilirubin liên hợp < 0,2mg/dL. Khi nồng độ bilirubin toàn phần tăng trên mức nghi ngờ, điều quan trọng

là định rõ nồng độ của bilirubin tự do và bilirubin liên hợp, mỗi kết quả định lượng này rất hữu ích cho việc phân loại sự tăng bilirubin huyết tương. Sự tăng bilirubin tự do xảy ra khi trên 50% bilirubin toàn phần là bilirubin liên hợp và sự tăng bilirubin tự do xảy ra khi trên 80% của bilirubin toàn phần là bilirubin tự do. Khi một dạng của bilirubin nổi trội thì tiền sử của bệnh nhân cùng những phát hiện về sinh lý học và các xét nghiệm khác sẽ giúp tìm ra nguyên nhân đặc trưng của tình trạng bệnh lý này.

Nồng độ bình thường của bilirubin huyết tương

Tuổi	Bilirubin toàn phần	Bilirubin liên hợp
Trẻ < 1 tháng	4,0 - 8,0 mg/dL (68 - 137 μ mol/L)	0 - 2,0 mg/dL (0- 34 μ mol/L)
Người trưởng thành	0,2 - 1,0 mg/dL (3,4 - 17,0 μ mol/L)	0 - 0,2 mg/dL (0- 3,4 μ mol/L)

Những trạng thái gây sự tăng của các loại bilirubin huyết tương

Tình trạng rối loạn	Sai sót trong chuyển hóa bilirubin
1. Tăng Bilirubin tự do huyết tương	
- Huyết tán	Sự sản sinh tăng
- Tạo hồng cầu không hữu hiệu	Sự sản sinh tăng
- Vàng da sinh lý khi mới đẻ	Hoạt tính UDP-glucuronyltransferase giảm
	Sự hấp thụ bilirubin ở ruột tăng
- Hội chứng Crigler-Najjar	
Typ I	UDP-glucuronyltransferase không hoạt tính
Typ II	UDP-glucuronyltransferase giảm hoạt tính
- Hội chứng Gilbert	UDP-glucuronyltransferase giảm hoạt tính
	Sự hấp thu của gan bị giảm
- Suy tim bẩm sinh	Sự vận chuyển bilirubin đến gan suy yếu
2. Tăng bilirubin liên hợp huyết tương	
- Hội chứng Dubin-Johnson	Bài tiết mật suy yếu
- Hội chứng Rotor	Sự hấp thu và tàng trữ của gan giảm
	Bài tiết mật giảm
- Ứ mật trong gan	Bài tiết mật giảm
- Tổn thương tế bào gan	Bài tiết mật giảm

2.2. Các chỉ số đánh giá chức năng khử độc và bài tiết của gan

2.2.1. Amoniac huyết tương

Nồng độ amoniac huyết tương là một chỉ số phản ánh quan trọng về khả năng của gan biến đổi amoniac có độc tính thành Urê và sau đó bài tiết ra nước tiểu. NH₃ là sản phẩm được sinh ra từ vi khuẩn ở ống tiêu hóa. Tĩnh mạch của vận chuyển NH₃ về

gan và gan là nơi duy nhất có những enzym cần thiết cho sự tổng hợp Urê, sau đó Urê được bài xuất dễ dàng bởi thận. Nồng độ NH_3 huyết tương tăng liên quan đến bệnh lý gan tiến triển, hôn mê và các hội chứng thần kinh khác. Mặc dù việc định lượng NH_3 cho giá trị hạn chế trên bệnh nhân đã được chẩn đoán với bệnh lý gan, nó vẫn có ích để đánh giá bệnh nhân hôn mê và những trạng thái tâm thần thay đổi chưa biết căn nguyên. Nồng độ NH_3 huyết tương trong giới hạn 15-45 $\mu\text{g/dL}$ (11-32 $\mu\text{mol/dL}$) là bình thường.

2.2.2. Xét nghiệm với chất màu ngoại sinh

Các xét nghiệm với chất màu ngoại sinh là những xét nghiệm truyền thống được dùng để đánh giá chức năng khử độc và bài tiết của gan. Xét nghiệm chất màu đánh giá đầu tiên về khả năng gan vận chuyển các chất ngoại sinh vào trong tế bào gan, sau đó đánh giá khả năng chuyển hóa chúng của gan-thông thường là khả năng liên hợp để tạo ra các chất có độ tan hơn và bài tiết nhanh vào mật. Những xét nghiệm này đưa ra bức tranh nhạy cảm về chức năng toàn diện của gan. Xét nghiệm thông thường nhất là nghiệm pháp Bromosulfophtalein (nghiệm pháp BSP): tiêm tĩnh mạch chất màu BSP liều 5mg/kg thận trọng, tại thời điểm 45 phút sau khi tiêm sẽ lấy máu và đo lường số lượng chất màu còn lại trong máu, chức năng gan bình thường nếu gan bài tiết được 95% lượng chất màu trong 45 phút.

2.2.3. Acid mật

Acid mật được hình thành duy nhất ở gan. Nó là sản phẩm chuyển hóa của cholesterol. Acid mật đóng vai trò trong tiêu hóa lipid, cho phép loại bỏ có hiệu quả cholesterol quá thừa cùng các lipid khác qua mật, giúp kiểm soát hàm lượng các chất trong mật thông qua việc bài tiết các chất như: bilirubin, cholesterol, lecithin và nước. Đánh giá chức năng biến đổi các acid mật từ vòng tuần hoàn thông qua sự so sánh nồng độ muối của mật và nồng độ muối mật trong máu. Nồng độ muối mật của mật ở ruột được đo lường bằng mg/ml và nồng độ muối mật trong tuần hoàn ngoại vi được đo lường bằng $\mu\text{g/ml}$.

Nồng độ acid mật huyết thanh tăng trong các bệnh gan nhưng nó có tác dụng nhất trong chẩn đoán phân biệt bệnh gan-mật có tăng bilirubin máu bẩm sinh với tình trạng huyết tán.

2.2.4. Urobilinogen trong nước tiểu và phân

Urobilinogen là chất không màu, sản phẩm chuyển hóa của bilirubin khi bị oxy hóa bởi vi khuẩn ruột và tạo thành urobilin có màu nâu. Ở những cá thể bình thường, một phần Urobilinogen được bài xuất qua phân và phần còn lại được tái hấp thu qua tĩnh mạch cửa về gan, một tỷ lệ nhỏ không được tế bào gan giữ lại và sẽ được bài xuất bởi thận dưới dạng Urobilinogen trong nước tiểu. Urobilinogen nước tiểu tăng trong bệnh huyết tán và trong các trường hợp chức năng của tế bào gan bị suy giảm, như viêm gan,.... Sự vắng mặt của Urobilinogen trong phân và nước tiểu thường gặp ở bệnh nhân tắc mật hoàn toàn. Urobilinogen nước tiểu có giới hạn bình thường là

0-4mg/24 giờ.

2.3. Định lượng các enzym của gan

Mọi thương tổn tế bào gan đều dẫn đến sự phân giải và hoại tử tế bào gan, giải phóng các enzym vào máu. Việc đo lường hoạt độ của các enzym này trong huyết thanh được sử dụng để đánh giá sự tổn hại của tế bào gan và chẩn đoán phân biệt của tế bào gan với bệnh tắc mật. Các enzym phổ biến được định lượng trong các bệnh lý gan-mật bao gồm: phosphatase kiềm; các amino-transferase; những enzym ít được sử dụng hơn là γ -glutamyltransferase, lactatdehydrogenase cùng các isozym của nó, 5'-nucleotidase, ornithin carbamyl transferase và leucin aminopeptidase.

2.3.1. Phosphatase kiềm (ALP = Alkaline phosphatase)

ALP có trong một số mô nhưng được sử dụng nhiều nhất trong chẩn đoán lâm sàng bệnh gan và bệnh xương. Hoạt độ ALP tăng nhẹ đến tăng trung bình ở những bệnh nhân bị rối loạn chức năng tế bào gan như viêm gan, xơ gan; tăng nhất thời trong tất cả các loại bệnh gan. Sự tăng mạnh của hoạt độ ALP xảy ra trong tắc mật ngoài gan như sỏi đường dẫn mật chung, tắc mật trong gan như tắc mật do thuốc hoặc xơ đường mật nguyên phát. Enzym này luôn luôn tăng trong bệnh gan di căn.

Bệnh Paget-u di căn xương và các bệnh khác liên quan đến sự tăng hoạt tính của tạo cốt bào đều dẫn đến tăng hoạt độ ALP huyết thanh dù không có bệnh lý gan. Enzym này được tìm thấy trong rau thai và hoạt tính tăng ở phụ nữ mang thai.

2.3.2. Aminotransferase (Transaminase)

Aspartat transferase (AST) hay glutamat oxaloacetat transaminase (GOT) và alamin transferase (ALT) hay glutamat pyruvat transaminase (GPT) là 2 enzym được sử dụng rộng rãi trong đánh giá sự tổn thương của tế bào gan. AST có trong tất cả các mô, đặc biệt là tim, gan và cơ xương. ALT có mặt trước hết ở gan và ít hơn ở thận, cơ xương. Trong viêm gan virus nặng gây nên sự hoại tử cấp và mạnh mẽ của tế bào gan, hoạt tính các aminotransferase huyết thanh bị tăng đáng kể. Bệnh gan trung tâm và mạn tính như viêm gan virus thể dưới lâm sàng hoặc thể không vàng da.

Xơ gan do rượu, thâm nhiễm hạt và xâm nhập u có thể liên quan đến trạng thái bất thường nhẹ về hoạt tính enzym huyết thanh.

Cần lưu ý các transaminase huyết thanh có thể giảm thực sự trên một số bệnh nhân viêm gan cấp nặng bởi sự giải phóng toàn diện các enzym của tế bào gan.

2.3.3. γ -glutamyltransferase (γ GT hoặc GGT)

γ GT có nồng độ cao trong thận và gan. Hầu hết bệnh nhân gan- mật có hoạt độ của enzym này trong huyết thanh tăng cao, điều này không đặc hiệu cho các tít của bệnh gan nhưng nó là xét nghiệm thường quy và nhạy để đánh giá chức năng gan của người nghiện

rượu. Hoạt độ enzym tăng cao nhất trong tắc đường mật. Đo lường hoạt độ của enzym cũng được áp dụng trong những trường hợp không vàng da để chẩn đoán khối u gan và được coi như một xét nghiệm để chẩn đoán bệnh lý gan ở bệnh nhân có tăng hoạt độ phosphatase kiềm.

2.3.4. *Lactat dehydrogenase (LDH)*

enzym này mặt trong tất cả các mô và được giải phóng vào huyết thanh từ thương tổn của nhiều tổ chức khác nhau, tuy nhiên việc phân tích các isozym của LDH có thể cho những thông tin có ích về sự thay đổi của mô là nguồn gốc sản sinh các isozym. LDH 5 có nhiều nhất ở gan, cơ xương, do vậy sự tăng isozym này thường gặp trong vàng da. Sự tăng vừa phải hoạt độ enzym gặp phổ biến trong viêm gan cấp do virus và xơ gan, bệnh đường mật có thể gây tăng nhẹ enzym này. Hoạt độ enzym tăng cao trong huyết thanh có thể xuất hiện trong cacinoma di căn gan.

2.4. *Viêm gan*

Trạng thái viêm gan có thể gây nên bởi virus, vi khuẩn, ký sinh trùng, phóng xạ, thuốc, các chất hóa học và độc chất. Các virus viêm gan gồm týp A, B, C, D (hay delta) và E, virus Epstein-Barr, cytomegalo virus...

Viêm gan A: Thời gian ủ bệnh ngắn, thường lây truyền qua thức ăn và nước. Chẩn đoán viêm gan dựa vào việc phát hiện huyết thanh học kháng thể virus viêm gan A (anti-HAV).

Viêm gan B: Thời gian ủ bệnh dài, 3 đường dây truyền chính là đường tiêu hóa, vòng chu sinh và đường tình dục, ngoài ra cũng tồn tại đường lây truyền phân-miệng. Virus viêm gan B (HBV) có trong các dịch sinh vật, bao gồm: nước mắt, nước bọt, tinh dịch, sữa, máu, nước tiểu, phân, ...

Virus viêm gan B là tiểu phần hình cầu với 2 lớp áo và lõi trung tâm là DNA được bao quanh áo protein. Tiểu phần virus tồn tại với nồng độ thấp trong huyết thanh người bệnh viêm gan cấp được gọi là tiểu phần Dane hay HBV. Sau khi bị nhiễm HBV, phần lõi của kháng nguyên được tổng hợp trong nhân của tế bào gan và đi vào bào tương của tế bào gan, tại đây chúng được bao phủ bởi lớp áo protein. Kháng nguyên có mặt trong lõi virus (HBcAg) và kháng nguyên bề mặt (HBsAg) được phát hiện trong huyết thanh. Một kháng nguyên khác gọi là nguyên e (HBeAg) cũng được tìm thấy trong huyết thanh. Xấp xỉ 90% người bệnh nhiễm HBV hồi phục trong vòng 6 tháng và được đo lường bằng sự gia tăng kháng thể của kháng nguyên bề mặt (anti-HBsAg), khoảng 10% bệnh nhân viêm gan sẽ bị viêm gan mạn tính.

Anti-HBcAg có trong huyết thanh sớm hơn anti-HBsAg. HBeAg trong huyết thanh liên quan đến số lượng các tiểu phần virus bị nhiễm và được phát hiện trong huyết thanh khi kháng nguyên bề mặt (HBsAg) có mặt.

Viêm gan C: Người ta đã phát hiện kháng thể của virus viêm gan C (HCV) ở hầu hết những cá thể bị nhiễm HCV. Nhiễm HCV có tỷ lệ cao phát triển thành viêm gan mạn, xơ gan và carcinoma. Bởi vậy, viêm gan C là nguyên nhân chính của viêm gan mạn trong thế kỷ này. Kháng thể HCV thường không phát hiện được trong vài tháng đầu tiên của sự nhiễm trùng nhưng sẽ xuất hiện trong huyết thanh của hầu hết người bệnh ở thời kỳ sau của bệnh.

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày các xét nghiệm đánh giá chức năng chuyển hóa các chất, chức năng khử độc và bài tiết của gan?
2. Giải thích sự biến đổi của các xét nghiệm enzym đánh giá chức năng của hệ thống gan-mật?
3. Giải thích các xét nghiệm đặc hiệu chẩn đoán viêm gan do virus?

BÀI 5. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VÀ THEO DÕI BỆNH THẬN

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được chức năng của thận và các tính chất của nước tiểu
- Trình bày được các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh thận
- Giải thích được nguyên nhân xuất hiện các chất bất thường trong nước tiểu

* Kỹ năng

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán và theo dõi bệnh thận trên một số xét nghiệm cận lâm sàng

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
- Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Đại cương

1.1. Thận

1.1.1. Chức năng tạo nước tiểu của thận

Sự bài tiết nước tiểu xảy ra ở đơn vị chức năng của thận là nephron. Mỗi thận có khoảng 1 triệu nephron. Mỗi nephron gồm một bó mao mạch được bọc bởi bao Bowman, ống thận (bao gồm ống lượn gần, quai helle, ống lượn xa, ống góp). Sự bài tiết nước tiểu nhờ hai quá trình siêu lọc và tái hấp thu.

1.1.1.1. Sự lọc của cầu thận

Hàng ngày có tới 180 lít nước tiểu ban đầu được hình thành. Sự lọc của cầu thận nhờ áp lực hiệu dụng (Pf).

$$Pf = Pg - (Po + Pc)$$

Pg: Áp suất thủy tĩnh trong cầu thận (chính là áp suất của mao động mạch có tác dụng đẩy nước ra bao Bowman).

Po: Áp suất keo của huyết tương (có tác dụng hút nước từ bao Bowman vào mao mạch).

Pc: Áp suất thủy tĩnh trong bao Bowman (đôi lập với sự hút nước từ bao Bowman vào trong mạch).

Bình thường Pg = 50 mmHg, Po = 25mmHg, Pc = 5mmHg, Pf = 20mmHg

Ở người huyết áp hạ 60-70 mmHg, Pg = 30-35 mmHg sẽ dẫn đến tình trạng vô niệu.

- Mao mạch cầu thận cho nước và các chất có phân tử nhỏ trong máu qua lại dễ dàng và như một màng chắn các phân tử lớn. Các phân tử lớn như các protein TLPT 70.000 không qua được. Vì vậy nước tiểu ban đầu (nước tiểu ở trong bao Bowman) nồng độ các chất như trong huyết tương (trừ protein). Nhiều yếu tố khác nhau ảnh hưởng tới quá trình siêu lọc của các chất có phân tử lớn như protein.

- Màng mạch cầu thận được cấu tạo bởi ba lớp.
- + Endothelium: Lớp tiếp giáp với mao mạch, ở đây có những cửa sổ đường kính 500- 1000 Å⁰.
- + Màng cơ bản: Là lớp giữa, gồm 3 lớp dày khoảng 3200Å⁰.
- + Màng epithelium tiếp giáp với bao Bowman: là những tế bào cao 350-500nm, có những khe trống khoảng 250-500Å⁰
- Các nghiên cứu siêu cấu trúc đã chỉ ra rằng các phân tử lớn đi qua các cửa sổ của lớp endothelium, qua lớp màng cơ bản, qua các khe của lớp epithelium. Sự lọc cầu thận bị cản trở ở màng cơ bản và khe lọc. Trên bề mặt và trong lớp màng cơ bản có những điện tích âm thuộc hai loại : các glycoprotein và nhất là các proteoglycan, chính lớp polyanion là lực cản rất lớn đối với các protein mang điện tích âm.
- Ngoài ra, sự lọc còn phụ thuộc quá trình lọc: đó là lưu lượng máu cầu thận, gradient áp suất chuyển màng, nồng độ protein trong máu cũng như hệ số siêu lọc của mạch cầu thận
- Vai trò của hình dáng phân tử : Những phân tử có hình dáng khác nhau cũng được vận chuyển qua mao mạch cầu thận khác nhau. Những phân tử có hình dáng mềm dẻo trong dung dịch, sự lọc qua mạch cầu thận dễ dàng hơn.

1.1.1.2. Sự tái hấp thu ở ống thận

* **Chất không được hấp thu**

Một số chất được đào thải qua cầu thận nhưng không được tái hấp thu ở ống thận như inulin, manitol, natri hyposulfit. Vì vậy đo độ thanh thải của các chất này để đánh giá mức độ tổn thương của cầu thận.

* **Tái hấp thu hoàn toàn (glucose)**

Bình thường glucose được lọc qua cầu thận với tốc độ 150g/24h và hầu như được tái hấp thu hoàn toàn nên trong nước tiểu chỉ có 6mg/24h. Quá trình tái hấp thu ở ống lượn là quá trình vận chuyển tích cực cần năng lượng là ATP và nhờ chất vận chuyển là “Co-transport”, sự vận chuyển này kèm theo sự hấp thu natri. Khi vận chuyển, glucose không bị phosphoryl hoá, chuỗi carbon cũng không bị thay đổi khi qua màng.

* **Tái hấp thu 99% (nước)**

- Nước được tái hấp thu ở ống lượn gần, ống lượn xa, quai Helle và ống góp.
- Ở ống lượn gần nước được tái hấp thu 80%, cùng với natri, clo và nước ở đây là tương đương làm cho nước tiểu không bị cô đặc hoặc hoà loãng.
- Ở quai Helle và ống lượn xa 90% lượng nước còn lại được tái hấp thu, phụ thuộc vào ADH. Hormon này được cố định trên chất nhận đặc biệt của màng ống thận.

* **Tái hấp thu phần lớn (natri, clo, ure)**

- Ở ống lượn gần 70% muối được tái hấp thu. Sự hấp thu thay đổi ngược chiều với áp lực động mạch thận. Yếu tố chính gây sự tái hấp thu là áp suất thẩm thấu và áp lực thuỷ tĩnh trong mao mạch ống thận. Sự giảm của dòng máu qua thận (hạ huyết áp, giảm

thể tích máu) thì sự tái hấp thu ở ống lượn gần lại tăng để hạ thấp lượng natri đào thải ra nước tiểu và ngược lại.

- Ở ống lượn gần lượng natri được tái hấp thu là 16.800mEq/24h. Ở ống lượn xa khoảng hơn 10% natri được tái hấp thu.

- Sự tái hấp thu natri ở ống lượn là quá trình tích cực đòi hỏi năng lượng lớn tương đương với sự tiêu thụ 24g glucose/24h, nghĩa là chiếm 90% sự tiêu thụ oxy của thận

- Ở quai Helle, sự tái hấp thu natri là thụ động theo gradient điện thế gây ra bởi clo.

- Ở ống góp cũng sự tái hấp thu natri chịu ảnh hưởng của aldosteron. Cuối cùng thì lượng natri còn lại trong nước tiểu là 100-150mEq/24h.

- Clo được tái hấp thu thụ động song song với natri.

- Urê được tái hấp thu đến 40-50%, ure tái hấp thu thụ động hoàn toàn phụ thuộc vào nồng độ ure trong máu.

*** Chất được bài tiết ở cầu thận**

Acid uric được cầu thận lọc khoảng 6mg/phút, ở ống thận 95-98% lượng đó được tái hấp thu, lượng acid uric được đào thải khoảng 0,33 mg/phút tương đương 600mg/24h.

Creatinin được lọc qua cầu thận và cũng được tái hấp thu ở ống thận. Hàm lượng creatinin được coi như một dấu hiệu để theo dõi chức năng thận.

*** Tái hấp thu protein**

Thận tái hấp thu phần lớn những protein đã được lọc qua cầu thận. 99% albumin lọc qua cầu thận được tái hấp thu ở ống lượn gần. Đối với các protein có TLPT nhỏ (các chuỗi nhẹ lamda, kapa, lysozym, β -2microglobulin, hormon) cũng được tái hấp thu hầu hết ở ống lượn gần nên đào thải ra nước tiểu một lượng không đáng kể. Các xét nghiệm thông thường không phát hiện được và được coi là không có protein.

1.2. Chức phận chuyển hoá

Chuyển hoá chất xảy ra ở thận rất mạnh nhằm cung cấp năng lượng cho thận hoạt động (bằng chứng là thận sử dụng 10% oxy của toàn cơ thể).

- Trong thận chuyển hóa glucid chiếm ưu thế, chủ yếu là con đường đường phân. các dẫn xuất phosphoryl như: hexosephosphat, triose phosphat dễ dàng được khử phosphat nhờ các phosphatase ở thận, acid phosphoric được bài xuất.

- Với chuyển hoá lipid, các lecithin được khử phosphat nhờ glycerophosphatase, các chất ceton được thoái hoá hoàn toàn.

- Với chuyển hoá protid, thận có nhiều hệ thống enzym khử amin, tạo ra các acid ceton, giải phóng NH_3 dưới dạng NH_4^+ ở thận.

1.1.3. Vai trò của thận trong thăng bằng acid-base

Có 3 cơ chế chính điều hoà thăng bằng acid-base nhằm duy trì lượng bicarbonat có trong khu vực ngoài tế bào.

1.1.3.1. Thận đào thải các acid không bay hơi

Thận đào thải các acid không bay hơi như acid lactic, thể ceton, acid sulfuric sản phẩm của chuyển hoá protid, acid phosphoric sản phẩm của chuyển hoá các phospholipid.

1.1.3.2. Thận tái hấp thu bicarbonat

Gần 90% bicarbonat được tái hấp thu ở ống lượn gần. Trong tế bào ống thận, CO_2 và H_2O được tạo thành trong các quá trình chuyển hoá chuyển thành H_2CO_3 dưới tác dụng của carbonic anhydrase. H_2CO_3 phân ly thành H^+ và HCO_3^- . Ion H^+ được bài tiết ra khỏi tế bào ống thận, HCO_3^- cùng với Na^+ được tái hấp thu trở lại máu.

1.1.3.3. Thận tân tạo ion bicarbonat

Ở ống lượn xa ion H^+ cũng được đào thải thế chỗ cho Na^+ đã được tái hấp thu cùng với HCO_3^- , Na^+ từ các muối phosphatdinatri chuyển thành muối phosphat mononatri, pH của nước tiểu cũng giảm.

1.1.3.4. Thận bài tiết ion H^+ dưới dạng muối amoni

Ở tế bào ống lượn xa, amoni được tạo ra chủ yếu do thủy phân glutamin dưới tác dụng của glutaminase. Amoniac khuếch tán thụ động ra nước tiểu cùng với H^+ đào thải dưới dạng muối amon. Hàng ngày có khoảng 30-50 mEq ion H^+ được đào thải dưới dạng muối amon và khoảng 10-30 mEq dưới dạng các muối acid khác.

1.1.4. Chức phận nội tiết

- Thận có vai trò điều hoà hằng định nội môi, thăng bằng nước, điện giải và huyết áp thông qua hệ thống Renin-angiotensin-aldosteron.

Hệ thống bên cạnh cầu thận bài tiết ra một protein enzym là renin, có tác dụng thủy phân protein. Renin có trọng lượng phân tử 40.000. Renin thủy phân angiotensinogen giải phóng angiotensin I, không có tác dụng sinh học gồm 10 acid amin. Một enzym khác của máu cắt 2 acid amin ở đầu C tận (His và Leu) tạo angiotensin II có các tác dụng sinh học:

- + Co mạch và tăng huyết áp mạnh gấp 50 lần so với adrenalin.
- + Co cơ trơn.
- + Tăng bài tiết aldosteron của vỏ thượng thận.

- Thận bài tiết yếu tố tạo hồng cầu là erythropoietin-Ep, có tác dụng kích thích tế bào hồng cầu tiền bối phát triển thành hồng cầu trưởng thành.

2.2. Nước tiểu

Nước tiểu là dịch bài xuất quan trọng nhất chứa phần lớn các chất cặn bã của cơ thể. Những thay đổi về các chỉ số hoá lý và đặc biệt là những thay đổi về thành phần hoá học của nước tiểu phản ánh các rối loạn chuyển hoá.

2.2.1. Tính chất chung của nước tiểu

2.2.1.1. Thể tích nước tiểu

- Thể tích nước tiểu trung bình 24h ở người lớn khoảng 1.000-1.400 ml, tương đương 18-20 ml/kg thân trọng. Thay đổi theo điều kiện sinh lý, bệnh lý. Lượng nước

tiểu tính theo thân trọng ở trẻ em nhiều hơn người lớn. Uống ít nước, làm việc trong điều kiện ẩm, nóng, ra nhiều mồ hôi, lượng nước tiểu ít.

- Một số trường hợp bệnh lý nước tiểu có thể > 2500 ml/24h trong bệnh đái tháo đường, đái nhạt.

- Lượng nước tiểu cũng có thể dưới 750 ml/24h trong các trường hợp thiếu niệu, vô niệu trong viêm cầu thận cấp, viêm ống thận cấp do ngộ độc, mất máu, bồng nặng.

2.2.1.2. Các tính chất vật lý của nước tiểu

* **Màu sắc**

Bình thường có màu vàng nhạt đến màu hổ phách tùy theo lượng nước tiểu và độ đậm đặc. Ở bệnh gan mật nước tiểu có màu nâu vàng của bilirubin. Nước tiểu màu hồng do có máu, đục như nước vo gạo do có dưỡng chấp.

* **Độ sánh**

Độ sánh của nước tiểu bình thường cao hơn nước một chút. Các trường hợp nước tiểu có máu, mủ, protein, dưỡng chất nước tiểu sánh hơn và có nhiều bọt.

* **Mùi**

Mùi của nước tiểu đặc biệt, để ngoài không khí có mùi khai do ure biến đổi thành amoniac. Một số bệnh lý nước tiểu có mùi ceton, mùi hôi (trường hợp sốt cao, ung thư thận, ung thư bàng quang).

* **Sức căng bề mặt của nước tiểu**

Sức căng bề mặt của nước tiểu thấp hơn nước khoảng 64-69 dyne/cm² (của nước là 72). Trong viêm gan, tắc mật, nước tiểu có muối mật gây sức căng bề mặt giảm.

* **Tỷ trọng**

Tỷ trọng nước tiểu thay đổi trong ngày. nước tiểu 24h ở điều kiện 15⁰C tỷ trọng dao động 1,005-1,030. Trường hợp đái đường tỷ trọng có thể tới 1,03-1,04, trường hợp đái nhạt tỷ trọng lại thấp.

* **pH**

- pH của nước tiểu 24h hơi acid khoảng 5-6, trung bình 5,8 do sự có mặt của các acid acetoacetic, acid uric, phosphat acid và các muối amoni.

- pH thay đổi theo chế độ ăn, ăn nhiều rau nước tiểu ít acid, có khi trung tính hoặc hơi kiềm. Ăn nhiều thịt, pH nước tiểu càng acid, lao động mạnh về cơ bắp, hoạt động thể dục thể thao cũng tăng độ acid trong nước tiểu. Trong đái tháo đường nặng, pH nước tiểu acid do bài xuất các thể ceton. Các trường hợp viêm bể thận, bàng quang, pH kiềm do phản ứng lên men amoniac,

2.2.1.3. Thành phần hoá học của nước tiểu

Thành phần trung bình của các chất trong nước tiểu 24h được trình bày ở bảng sau

Thành phần các chất trong nước tiểu 24h

Anion (gam)	Cation (gam)	Chất hữu cơ (gam)
Clorua 6-12	Na ⁺ 4,0-6,0	Ure 20-30
Phosphat 2,5-4,0	K ⁺ 2,0-3,0	Creatinin 1,0-1,8
Sulphat 2,0-3,5	Ca ²⁺ 0,15-0,25	Acid uric 0,4-0,8
	NH ₄ ⁺ 0,3-1,2	Acid amin 2,0-4,0
	Mg ²⁺ 0,10-0,2	Acid hyppuric 0,1-1,0

* Các chất hữu cơ

- Ure: lượng nitơ từ ure trong nước tiểu chiếm 80-85% nitơ toàn phần của nước tiểu. Nồng độ ure trong nước tiểu tỷ lệ thuận với chế độ ăn giàu đạm. sốt cao, đái tháo đường, ưu năng tuyến thượng thận, nhiễm độc asenic và phospho. Nồng độ ure trong nước tiểu giảm do tổn thương biểu mô ống thận như viêm thận cấp do nhiễm độc .

- Creatinin: Sự bài xuất creatinin trung bình ở người trưởng thành nam giới là 20-25 mg/kg thân trọng. Teo cơ, thoái hoá cơ, ưu năng tuyến cận giáp trạng creatinin trong nước tiểu tăng.

- Acid uric: chế độ ăn nhiều đạm, lượng acid uric tăng. viêm thận, bệnh chuyển hoá nucleoprotein ở tế bào như bệnh bạch cầu, acid uric nước tiểu tăng.

- Acid amin: nước tiểu chứa tất cả acid amin, mỗi acid amin chiếm khoảng 10-30 mg trong nước tiểu 24h. riêng glycine và histidine nhiều hơn, khoảng trên 100 mg/24h.

- Các hormon, vitamin, enzym: Trong nước tiểu có amylase, có các vitamin B1, PP, C và các dạng dẫn xuất của chúng, có các hormon sinh dục nam, sinh dục nữ, vỏ thượng thận dưới dạng dẫn xuất gluco liên hợp.

* Các chất vô cơ

- Clorua: nồng độ clo trong nước tiểu phụ thuộc vào chế độ ăn. trong viêm thận, nhiễm trùng clo giảm trong nước tiểu.

- Phosphat: Sự bài xuất phosphat tăng ở nước tiểu gập trong các bệnh nhuyễn xương, ưu năng tuyến giáp và thiếu năng cận giáp trạng.

2.2.2. Các chất bất thường trong nước tiểu

* Glucid

Nước tiểu bình thường có một lượng nhỏ các glucid như: glucose, fructose, arabinose, galactose, nên nước tiểu có tính khử yếu khó phát hiện bằng phản ứng khử thuốc thử Fehling. Trong trường hợp bệnh đái tháo đường, nồng độ glucose trong máu tăng quá ngưỡng (1,7g/l) nên bị đào thải ra nước tiểu. Cũng có trường hợp glucose máu không cao nhưng khả năng tái hấp thu ống thận giảm cũng có glucose trong nước tiểu. Một số bệnh rối loạn enzym bẩm sinh trong nước tiểu xuất hiện galactose, fructose.

* **Protein**

- Nước tiểu bình thường có một lượng nhỏ protein khoảng 50-100 mg/24h, có 55-60 % nguồn gốc huyết thanh, khoảng 40% là các glycoprotein có nguồn gốc từ thận và các đường dẫn nước tiểu. các xét nghiệm thông thường không phát hiện được nên trong nước tiểu người bình thường được coi là không có protein.

- Nồng độ protein trong nước tiểu > 150 mg/24h được coi là bệnh lý, xuất hiện trong các trường hợp: sốt cao, khoảng 0,5-1,0g/24h. Bệnh đái tháo đường với tổn thương sớm ở thận thể hiện trong nước tiểu có một lượng albumin rất nhỏ gọi là albumin niệu vi lượng (microalbuminurie). Trong các bệnh hệ thống như viêm đa động mạch, xơ cứng bì, các trường hợp này lượng albumin khoảng 1g/24h. Bệnh paraprotein, nước tiểu có các protein trọng lượng phân tử thấp như protein Bence Jones. Bệnh suy tim và đặc biệt trong các bệnh về thận.

* **Sắc tố mật, muối mật**

Sắc tố mật là bilirubin liên hợp, sắc tố mật và muối mật có trong nước tiểu trong các trường hợp tổn thương gan và đường mật, nhất là trong các trường hợp vàng da do viêm gan và tắc mật.

* **Hồng cầu và hemoglobin**

Nước tiểu có hồng cầu trong viêm thận cấp, trong lao thận, ung thư thận. Có hemoglobin trong các trường hợp sốt rét ác tính, hoàng đản do tiêu huyết, bông nặng.

* **Porphyrin**

Người bình thường hàng ngày bài xuất khoảng 50-200 mg porphyrin (copoporphyrin I và II). Có hai loại porphyrin niệu: porphyrin niệu vô căn nguyên nhân di truyền do thiếu một enzym của quá trình tổng hợp Hem ở tuỷ xương hoặc ở gan. Porphyrin niệu thứ phát do nhiễm các chất độc có tác dụng ức chế quá trình tổng hợp Hem.

* **Dưỡng chấp**

Nước tiểu có dưỡng chấp trong các trường hợp bệnh giun chỉ gây tổn thương bạch mạch tại chỗ liên quan tới đường bài xuất nước tiểu.

* **Nitrit**

Nitrit được tạo thành từ nitrat bị khử bởi các enzym reductase do một số vi khuẩn sản xuất ra. Sự có mặt nitrit trong nước tiểu biểu hiện có nhiễm trùng đường tiết niệu.

* **Các thể cetonic**

Nước tiểu bình thường chứa vài gam acid acetic/1lit nước tiểu và vài trăm miligam acid β -hydroxybutyric, các chất này tăng trong đói lâu ngày, đái tháo đường và một số trường hợp dùng thuốc mê.

2. Các xét nghiệm đánh giá chức năng thận

2.1. Các xét nghiệm chẩn đoán bệnh thận

2.1.1. Định lượng Urê

Urê là xét nghiệm cổ điển nhất trong các xét nghiệm hóa sinh. Urê là sản phẩm chính của chuyển hóa protein, được tổng hợp ở gan, đào thải ra nước tiểu. Bản thân Urê không độc nhưng nồng độ Urê trong máu tăng là dấu hiệu của thiếu năng thận.

Nồng độ Urê trong máu người khỏe mạnh bình thường (huyết tương hoặc huyết thanh) dao động 3-8 mmol/L (20-30mg/dl).

Nồng độ Urê trong nước tiểu: 12-30g/24h (200-500mmol/24h).

Nồng độ Urê máu và nước tiểu ở người bình thường dao động chút ít tùy thuộc vào chế độ ăn. Nồng độ Urê trong máu tăng được coi là bệnh lý về thận khi $> 8,33\text{mmol/L}$ khi đói. Nồng độ Urê máu giảm rất hiếm gặp, thường là ở giai đoạn cuối của thiếu năng gan, hôn mê gan.

2.1.2. Định lượng creatinin trong huyết thanh.

Creatin là acid methylguanidin acetic, được tổng hợp ở gan qua máu vận chuyển tới cơ. Tại cơ creatin gắn với phosphat từ ATP tạo thành creatin phosphat, một dạng dự trữ năng lượng cho cơ. Khi cơ hoạt động, phản ứng trao đổi năng lượng, creatinin được hình thành, ra khỏi cơ, vào máu rồi đào thải qua thận. Creatinin được lọc ở cầu thận (70-80%), được bài tiết ở ống thận, tuy vậy creatinin vẫn được đánh giá khả năng lọc của cầu thận. Nồng độ creatinin trong máu phụ thuộc vào khối lượng cơ. Người có khối lượng cơ lớn nồng độ creatinin trong máu và cả trong nước tiểu đều cao hơn. Nồng độ creatinin tăng sau ăn, tăng 20-50% sau khi tiêm đạm và thay đổi trong ngày: thấp nhất vào 7h sáng, đạt đỉnh cao khoảng 7h tối, huyết thanh cao hơn khoảng 20-40% so với buổi sáng. Nồng độ creatinin trong huyết thanh người trưởng thành bình thường ở nam giới là $53-97\ \mu\text{mol/L}$ (0,6-1,1 mg/dl), ở nữ là $44-80\ \mu\text{mol/L}$ (0,5-0,9mg/dl). Ở một người, creatinin là một thông số về máu ít thay đổi nhất. Giá trị nồng độ creatinin phụ thuộc vào kỹ thuật xét nghiệm, với kỹ thuật hóa học (phản ứng Jaffe không đặc hiệu bao gồm khoảng 20% các chất không phải creatinin cũng tham gia phản ứng như ceton, một vài loại kháng sinh thuộc nhóm cephalosporin). Định lượng creatinin bằng kỹ thuật enzym cho kết quả chính xác hơn.

Khi cầu thận bị tổn thương, nồng độ creatinin trong máu tăng sớm hơn so với nồng độ Urê. Do đó creatinin trong máu là xét nghiệm đáng tin cậy hơn nồng độ Urê trong máu. Thí dụ: trường hợp Urê máu 17mmol/L kèm theo creatinin máu $350\ \mu\text{mol/L}$ thể hiện suy thận nặng hơn so với trường hợp có Urê máu 35mmol/L và creatinin máu $230\ \mu\text{mol/L}$. Khi nồng độ creatinin trong máu tăng $170\ \mu\text{mol/L}$ tương ứng với sự phá hủy ít nhất 50% chức phận thận.

2.1.3. Creatinin trong nước tiểu

Lượng creatinin trong nước tiểu phản ánh khối lượng cơ của người, nó không bị ảnh hưởng bởi thể tích nước tiểu hoặc chế độ ăn. Ở người trưởng thành bình thường,

creatinin trong nước tiểu khoảng 15-25mg/kg thân trọng/24h ở nam và 10-22 mg/kg/24h ở nữ.

2.1.4. Độ thanh lọc (độ thanh thải)

Tất cả các kỹ thuật xét nghiệm để đánh giá chức năng thận đều dựa trên việc xác định nồng độ các sản phẩm chuyển hóa trong máu và thường là ure và creatinine. Suy thận khởi phát chỉ khi 20-30% nephron còn hoạt động và nồng độ các chất chuyển hóa bắt đầu tăng trong máu. Tốc độ creatinine và ure được lọc khỏi máu vào nước tiểu được gọi là độ thanh thải. Độ thanh thải (ml/phút) được định nghĩa là thể tích huyết tương với một lượng chất nào đó được lọc qua hoàn toàn ra ngoài nước tiểu theo đơn vị thời gian. Xác định độ thanh thải được sử dụng để ước tính tốc độ lọc của cầu thận.

2.1.4.1. Độ thanh lọc Urê

Urê được lọc qua cầu thận nhưng 40% được tái hấp thu ở ống thận bởi cơ chế khuếch tán ngược thụ động. Độ thanh lọc Urê chỉ đánh giá sự lọc của cầu thận với độ chính xác khoảng 60% vì hai lý do: thứ nhất độ thanh lọc Urê phụ thuộc vào lưu lượng nước tiểu, khi lưu lượng nước tiểu < 2ml/phút thì giá trị rất không chính xác cho dù đã đưa về hệ số điều chỉnh, thứ hai, nồng độ của Urê trong máu thay đổi theo thời gian trong ngày và thay đổi theo chế độ ăn và những điều kiện khác. Hiện nay người ta ít sử dụng thông số này.

2.1.4.2. Độ thanh lọc creatinin

Độ thanh lọc creatinin là một thông số có giá trị trong chẩn đoán tiên lượng và theo dõi điều trị bệnh. Trong quá trình tiến triển của bệnh thận, độ thanh lọc creatinin đo mức độ suy thận, có thể giúp quyết định hướng điều trị, trong khi đó nồng độ Urê máu chỉ phản ánh sự thoái hóa của propid. Tuy nhiên là một thông số dao động và phụ thuộc vào kỹ thuật xét nghiệm (như đã nêu ở trên). Nếu được xác định bằng kỹ thuật enzym sẽ cho giá trị creatinin trong máu thấp hơn và clearance creatinin cao hơn so với kỹ thuật Jaffe. Gault và Cockcroft đưa ra một công thức có thể chấp nhận được đó là:

$$\text{Clearance creatinin (ml/min)} = \frac{(140 - \text{tuổi/[năm]}) \times (\text{trọng lượng[kg]})}{72 \times \text{Creatinin/ht(mg/dl)}}$$

đối với nam giới

Clearance của phụ nữ được tính bằng 90% của nam giới, ở người bình thường trưởng thành, C creatinin được coi là dao động trong khoảng 90-120ml/min. Vì chức năng lọc của cầu thận giảm theo tuổi cho nên cũng có khuyến cáo đưa ra là cứ tăng 10 tuổi trên tuổi 20 thì C creatinin giảm 4ml/min. Đơn giản hơn có thể coi ở người trưởng thành bình thường. C creatinin khoảng 2ml/s. Bệnh lý về thận C creatinin giảm:

0,83ml/s -> 1/2 số nephron bị tổn thương.

0,83 -> 0,5 -> suy thận vừa, có bù trừ.

0,5 -> 0,33 -> suy thận mạn trầm trọng, cần kiểm tra chế độ ăn, cân đối nước, muối, protid.

0,33 - 0,17 giai đoạn cần có biện pháp can thiệp như chạy thận nhân tạo.

<0,17 giai đoạn cuối cùng, chỉ còn 5% nephron hoạt động.

2.1.5. Protein trong nước tiểu

Protein niệu đã từ lâu được coi là một dấu hiệu của các bệnh về thận. Ở người bình thường khỏe mạnh, lượng protein niệu rất thấp chỉ khoảng 50-100mg/24h, có 55-60% nguồn gốc huyết thanh (trong đó chỉ có 40% là albumin còn lại là IgG và các mảnh của IgA, chuỗi nhẹ lamda, kappa) khoảng 40% là các glycoprotein có nguồn gốc từ thận và các đường dẫn nước tiểu người bình thường được coi là không có protein.

Nồng độ protein trong nước tiểu > 150mg/24h được coi là bệnh lý. Protein niệu xuất hiện gián đoạn hay nhất thời thường không mang tính chất bệnh lý. Lượng protein niệu này thường khoảng 1g/24h, hầu hết là albumin. Lượng protein niệu đào thải hàng ngày phụ thuộc vào tuổi, trong điều kiện lao động ở tư thế đứng lâu, protein niệu sẽ hết sau một vài ngày nghỉ ngơi. Protein niệu có thể xuất hiện kèm theo triệu chứng lâm sàng của bệnh thận, cũng có thể không kèm theo các triệu chứng lâm sàng. Trong nước tiểu cùng với protein có thể có hồng cầu, trường hợp này thường là biểu hiện của bệnh lý mà trước hết là bệnh lý về cầu thận.

Phân loại protein niệu:

- Căn cứ vào lượng protein niệu bài xuất trong nước tiểu có thể chia thành:

+ Protein niệu vừa: khi lượng protein niệu < 50mg/Kg thân trọng/24h. Thường gặp trong viêm thận cấp, viêm bể thận cấp hoặc mạn do nhiễm khuẩn hoặc nhiễm độc.

+ Protein niệu nặng: khi lượng protein trong nước tiểu > 50mg/Kg thân trọng/24h, thường gặp trong hội chứng thận hư nhiễm mỡ.

- Căn cứ vào nguyên nhân gây protein niệu:

2.1.5.1. Protein niệu trước thận, thường do nguyên nhân không phải thận

Protein niệu do sự thay đổi huyết động như trong trường hợp dùng thuốc co mạch như angiotensin hay noradrenalin, tăng huyết áp hoặc suy tim.

Protein niệu do sự quá tải. Do huyết tương chứa một lượng lớn protein có TLPT nhỏ, có thể lọc qua cầu thận với nồng độ lớn vượt quá khả năng tái hấp thu của ống thận. Đó là các protein Bence Jones (các chuỗi nhẹ Kappa, lamda trong chi), hemoglobin niệu (trong bệnh tan máu).

2.1.5.2. Protein niệu tại thận, do nguyên nhân tại thận, cầu thận hoặc ống thận hoặc cả hai Protein niệu cầu thận.

Protein niệu cầu thận được coi là do tăng tính thấm thấu của cầu thận. Có nhiều nguyên nhân gây protein niệu cầu thận, thí dụ các bệnh nhiễm khuẩn, viêm gan B, sốt rét, viêm màng tim, giang mai. Bằng thực nghiệm thấy rằng nếu lượng protein niệu bằng

hoặc lớn hơn 3g/24h là đồng nghĩa với protein niệu cầu thận. Protein niệu cầu thận có thể vượt quá 20g/24h. Nếu cầu thận tổn thương ở mức độ nhẹ, màng cầu thận chỉ cho qua những phân tử protein có TLPT vừa phải, trong nước tiểu có các protein có TLPT khoảng 40.000-90.000, trong đó 70% là albumin, còn lại là globulin; được gọi là protein niệu chọn lọc (proteinurie selective). Việc xác định protein niệu chọn lọc liên quan tới tế bào cầu thận. Trong hội chứng thận hư tổn thương cầu thận tối thiểu, nhạy cảm corticoid là protein niệu chọn lọc. Trong khi đối với bệnh thận khác protein niệu chọn lọc không phải luôn luôn là dấu hiệu tốt. Nếu cầu thận tổn thương nặng nề, trong nước tiểu có các protein có TLPT lớn được gọi là protein niệu không chọn lọc (proteinurie nonselective). Việc phân biệt protein niệu chọn lọc và không chọn lọc rất cần thiết đối với các trường hợp hội chứng thận hư. Có thể phân biệt bằng điện di protein trong nước tiểu hoặc bằng việc so sánh clearance của albumin hoặc transferrin với IgG.

Protein niệu ống thận

Các trường hợp protein niệu ống thận đơn thuần thường có lượng protein niệu tăng vừa phải, khoảng 1-2g/24h, bao gồm các protein có TLPT từ 50.000-10.000 Da, bao gồm post-gamaglobulin (10.000), β 2 microglobulin (11.800), lysozym (14.000), Retinol binding protein (21.000) là chủ yếu và cũng có một ít albumin. Tuy nhiên β 2 microglobulin được coi là dấu hiệu chỉ điểm để xác định tổn thương ống thận.

Có nhiều nguyên nhân gây protein niệu ống thận: hội chứng Fanconi (một bệnh rối loạn bẩm sinh), Bệnh di truyền ứ glycogen (bệnh Wilson), bệnh u tủy xương, nhiễm độc một số kim loại nặng (Cd, Pb, As, Hg), một số thuốc như Vitamin D, hoặc một vài loại kháng sinh như các aminosid. Trường hợp protein niệu ống thận kèm theo lượng lớn albumin (được gọi là protein niệu typ hỗn hợp) thường gặp trong viêm thận kẽ, viêm thận mủ, nhồi máu thận, hoại tử ống thận, thiếu máu cục bộ thận, ghép thận.

Đối với một khía cạnh khác của bệnh lý ống thận là: Tế bào ống thận cũng nhiều enzym, sự hư hỏng của tế bào ống thận sẽ giải phóng một lượng enzym này trong nước tiểu. Vì vậy người ta cũng xác định hoạt độ một số enzym sau:

Alamin aminopeptidase (AAP), gamaglutamyl transferase (GGT), phosphatase alkalin là những enzym có ở diềm bàn chải của tế bào ống thận.

Lactat dehydrogenase (LDH), leucin aminopeptidase là những enzym của bào tương.

N-acetyl-D-glucosaminidase (NAG) là enzym của lysosom.

Glutamat dehydrogenase là enzym của mitochondria

Tuy nhiên việc xác định hoạt độ những enzym này còn nhiều vấn đề bất cập về kỹ thuật nên thường chỉ áp dụng trong những trường hợp nhiễm độc ống thận cấp.

2.1.5.3. Protein niệu sau thận (protein của tổ chức)

Bình thường trong nước tiểu có khoảng 30mg/24h protein có nguồn gốc tổ chức. Protein này được bài tiết ở thận bao gồm các protein có TLPT rất cao, một loại

glycoprotein đã được phân lập bởi Tamm và Horsfall. Trọng lượng phân tử của chuỗi polypeptid cơ bản là 80.000 Da, chúng dễ dàng trùng hợp thành những phân tử có TLPT $3,5 - 28.10^6$ Da). Những protein này được tạo ra từ tế bào epithelium của quai Henle, ống lượn xa và ống góp. Trong nước tiểu còn có urokinase một protein enzym còn ít được biết. Immunoglobulin A (IgA) được tạo thành bởi lymphocyt, được bài tiết từ tế bào epithelium của đường tiết niệu. Sự bài tiết IgA có chức năng quan trọng là chống nhiễm trùng.

Protein niệu sau thận thường gặp trong các trường hợp viêm, hoặc có tổn thương ở niệu quản, bàng quang, tuyến tiền liệt, niệu đạo.

2.1.5.4. Micro - albumin niệu

Người ta gọi micro-albumin niệu (về mặt bệnh học) là trường hợp trong nước tiểu lượng albumin có khoảng 30-80mg/24h. Tuy nhiên do kỹ thuật định lượng albumin nên danh từ micro-albumin niệu dành cho những trường hợp nồng độ albumin trong nước tiểu từ 30-300mg/24h. Ngày nay micro-albumin niệu là một dấu hiệu quan trọng để phát hiện giai đoạn khởi đầu của bệnh cầu thận ở những bệnh nhân ĐTĐ, tăng huyết áp động mạch.

2.2.2. Các xét nghiệm theo dõi bệnh thận

Những xét nghiệm theo dõi bệnh thận bao gồm:

- Định lượng creatinin trong máu
- Định lượng Urê trong máu
- Hệ số thanh lọc creatinin
- Protein niệu

2.2.2.1. Hội chứng thận hư

Hội chứng thận hư (thận hư nhiễm mỡ) thường được đặc trưng bởi 4 thông số sinh học:

- Protein niệu cao và rất cao ($>3g/24h$) và kéo dài.
- Protein máu thấp và albumin máu thấp ($<25g/L$) alpha - 2-globulin máu cao.
- Các loại lipoprotein máu đều cao, cholesterol, triglycerid máu cao.
- Phù, phù có thể mất đi khi bệnh nhân ăn chế độ kiêng muối hoặc uống thuốc lợi tiểu.

Về nước tiểu: Lượng nước tiểu giảm rõ rệt, kèm theo protein niệu từ 3-10g/24h, có khi tới 30-40g/24h. Nước tiểu có màu đục hoặc như sữa.

Về huyết tương: Huyết tương đục chứng tỏ thành phần lipoprotein cao.

- Protein toàn phần giảm tới 40-60g/L, trong đó albumin giảm nhiều, chỉ còn 20-25g/L.
- Gama globulin giảm nhưng không thường xuyên.
- Alpha - 2 - globulin tăng, trung bình 14g/L.

- Lipoprotein huyết tương tăng, nhất là LDL và VLDL, sự tăng thường song với protein niệu và giảm albumin máu. Cholesterol máu tăng tới 10-15, có khi tới 20mmol/L, triglycerid từ 5-10mmol/L.

Ở những bệnh nhân thận hư ngoài việc theo dõi các thông số thể hiện đặc trưng của bệnh, cần theo dõi protein niệu. Việc xác định protein niệu chọn lọc, không chọn lọc ở những bệnh nhân này là rất cần thiết cho hướng điều trị, cũng như việc theo dõi sự xuất hiện tổn thương ống thận với dấu hiệu có β_2 micro globulin.

2.2.2.2. Suy thận

Suy thận được định nghĩa bằng sự giảm thể tích lọc cầu thận. Tổn thương xảy ra đột ngột thường dưới dạng vô niệu gọi là suy thận cấp. Tổn thương xảy ra chậm chạp qua nhiều tháng, nhiều năm được gọi là suy thận mạn.

2.2.1. Suy thận cấp, các dấu hiệu của suy thận cấp

- Urê máu tăng cao, trên 16 mmol/L do chức năng thận giảm mạnh
- Độ thanh lọc creatinin dưới 0,16ml/s do giảm đột ngột độ lọc của cầu thận.
- Biểu hiện lâm sàng là vô niệu (lượng nước tiểu < 100ml/24h) hoặc giảm niệu (lượng nước tiểu 400-500ml/24h).

Suy thận cấp có thể có nguyên nhân nội khoa:

- Do mất nhiều nước và điện giải.
- Choáng do giảm lượng máu, làm giảm lưu lượng máu qua thận.
- Nhiễm độc cấp do kim loại nặng (muối Hg, As, Pb) nọc rắn, một số thuốc kháng sinh, sulffamid.
- Nhiễm trùng huyết, sốt rét.
- Bệnh về gan mật và tụy tạng.

Suy thận cấp có thể có nguyên nhân ngoại khoa:

- Nhiễm trùng huyết sau nạo phá thai, sau đẻ khó.
- Đa chấn thương, bỏng nặng, dập cơ có myoglobin niệu
- Sỏi niệu, u tiền liệt tuyến.

Các trường hợp suy thận cấp cần thiết phải làm thêm các xét nghiệm sau:

- Kali huyết tương, xét nghiệm này cần làm sớm nhất vì có ý nghĩa sống còn của bệnh nhân (bình thường $K^+ = 3,8 - 5,4$ mmol/L) nếu > 6,5mmol/L (kèm theo tình trạng nhiễm acid chuyển hóa), ứ nước (dấu hiệu loãng máu) là những chỉ tiêu chỉ định lọc máu ngoài thận.

- Lon đồ huyết tương và nước tiểu, kể cả calci và phosphat, hai lần/ngày. Khi lưu lượng nước tiểu trở về bình thường xét nghiệm mỗi ngày một lần.

- Theo dõi bilan phospho/calci, nồng độ hormon cận giáp (PTH) để đề phòng tình trạng cường thứ phát tuyến cận giáp.

- Định lượng Urê, creatinin/máu, pH, pCO₂, CO₂ toàn phần, thể tích huyết cầu (hematocrit).

2.2.2. *Suy thận mạn là sự suy giảm dần dần độ lọc của cầu thận*

Thông số hóa sinh chủ yếu là độ thanh lọc creatinin

0,83ml/s -> 1/2 số nephron bị tổn thương. Bệnh nhân thường có thiếu máu, cao huyết áp.

0,83 - 0,5 -> suy thận vừa, có bù trừ.

0,5 - 0,33 -> suy thận mạn trầm trọng, cần kiểm tra chế độ ăn, cân đối nước, muối, protid. Cần theo dõi sự duy trì cân bằng nội môi.

0,33 - 0,17 giai đoạn cần có biện pháp can thiệp như chạy thận nhân tạo.

<0,17 giai đoạn cuối cùng, chỉ có biện pháp can thiệp: thẩm phân phúc mạc, thẩm phân máu (hemodialyse) hoặc ghép thận mới có hy vọng cứu được bệnh nhân vì trong trường hợp này chỉ còn 5% nephron hoạt động.

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày chức năng của thận và các tính chất của nước tiểu?
2. Trình bày các xét nghiệm đánh giá chức năng thận và phân tích ý nghĩa lâm sàng của các xét nghiệm đó?
3. Giải thích nguyên nhân xuất hiện các chất bất thường trong nước tiểu?

BÀI 6. CÁC XÉT NGHIỆM ĐÁNH GIÁ CHỨC NĂNG TUYẾN GIÁP

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày được cơ chế điều hòa sản xuất hormon tuyến giáp
- Giải thích được các xét nghiệm chẩn đoán đánh giá chức năng tuyến giáp

*** Kỹ năng**

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp trên một số xét nghiệm cận lâm sàng.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
- Vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

NỘI DUNG

1. Đại cương

Tuyến giáp sản xuất ra hormon tuyến giáp và calcitonin. Calcitonin do tế bào C cạnh nang tuyến bài tiết và liên quan đến điều hòa hằng định nội môi của calci. Hormon tuyến giáp (thyroxin-T₄ và triiodothyronin-T₃) giữ vai trò then chốt trong điều hòa chuyển hóa của cơ thể, sự phát triển của hệ thần kinh và nhiều chức năng khác.

1.1. Sự hình thành hormon tuyến giáp

Tuyến giáp nằm ở phần thấp phía trước cổ, có hình giống con bướm. Tuyến giáp gồm 2 thùy nằm trên 2 mặt của khí quản, phần eo vắt ngang qua phía trước khí quản, nối 2 thùy. Phía sau tuyến giáp là tuyến cận giáp và dây thần kinh quặt ngược thanh quản.

Tuyến giáp bào thai hình thành từ ruột trước, di chuyển về vị trí của nó vào tuần thứ 4-8 của thai kỳ. Vào tuần thứ 11, tuyến giáp bắt đầu sản xuất ra lượng hormon tuyến giáp có thể đo lường được. Hormon tuyến giáp đóng vai trò then chốt với sự phát triển thần kinh của bào thai. Iod là yếu tố quan trọng với tuyến giáp. Một bộ phận trên thế giới có sự thiếu hụt iod trầm trọng, cả bà mẹ và em bé đều bị suy giáp, không có khả năng bài tiết hormon tuyến giáp. Tác động trên bào thai là trầm trọng nhất do suy giáp làm chậm phát triển tinh thần và chứng đần độn. Ở những vùng không thiếu iod, các bệnh lý khác của tuyến giáp cũng xuất hiện. Suy giáp bẩm sinh xuất hiện với tỷ lệ 1/4000 trẻ đẻ ra sống. Nếu bà mẹ có chức năng tuyến giáp bình thường, bào thai sẽ được bảo vệ bởi một lượng nhỏ hormon tuyến giáp từ mẹ qua nhau thai. Tuy nhiên, ngay sau đẻ, trẻ cần được sử dụng hormon tuyến giáp với liều thích hợp nếu không sự phát triển thần kinh của trẻ sẽ bị suy giảm nghiêm trọng. Ở các nước phát triển, thử nghiệm sàng lọc suy giáp được tiến hành với tất cả trẻ sơ sinh để ngăn ngừa biến chứng nặng nề của bệnh bằng cách điều trị hormon giáp bổ sung kịp thời.

1.2. Tổng hợp hormon tuyến giáp

Tuyến giáp bài tiết 2 hormon là thyroxin hay T4 (3,5,3',5'-L-tetraiodothyronin) và triiodothyronin hay T3 (3,5,3'-L-triiodothyronin). Tuyến giáp còn bài tiết một lượng nhỏ dạng không hoạt động 3,3,5'-L-triiodothyronin (reverse T3) và monoiodotyrosin (MIT) và diiodotyrosin (DIT)- tiền chất của T3 và T4.

Khoảng 40% T4 bài tiết được chuyển thành T3 và 45% thành rT3 bởi quá trình khử iod ở các mô ngoại vi. T3 hoạt động mạnh hơn T4 bốn đến năm lần và khoảng 1/3 T4 được chuyển thành T3 ở mô ngoại vi nên T4 được xem như tiền hormon.

Tổng hợp hormon tuyến giáp bao gồm nhiều phản ứng được xúc tác bởi các enzym đặc hiệu, bắt đầu từ sự hấp thu iod vào tuyến giáp và tích lũy bởi quá trình iod hóa các gốc tyrosin trong phân tử protein thyroglobulin. Các phản ứng này được kích thích bởi TSH. Các dạng suy giáp bẩm sinh do thiếu hụt một trong các enzym liên quan đã được mô tả.

1.3. Hormon tuyến giáp trong máu

Thyroglobulin được dự trữ trong dịch nang của tuyến giáp. TSH kích thích giải phóng hormon tuyến giáp thông qua các giai đoạn thực bào dịch nang bởi tế bào nang, hòa với lysosom để tạo túi thực bào và phân cắt protein, rồi giải phóng vào tuần hoàn. Quá trình phân cắt protein còn giải phóng mono- và triiodotyrosin (MIT và DIT), chúng thường được thoái hóa trong tế bào nang và iod giải phóng ra được giữ lại và tái sử dụng. Một lượng nhỏ thyroglobulin cũng đi vào tuần hoàn.

Nồng độ T4 và T3 trong huyết tương lần lượt là 60-150 nmol/L và 1-2,9 nmol/L. Cả 2 hormon đều gắn với phần lớn protein trong tuần hoàn, chỉ 0,04% T4 và 0,4% T3 ở dạng tự do và có tác dụng hormon. Mặc dù nồng độ T4 bình thường cao gấp 50 lần T3 nhưng FT4 chỉ gấp 2-3 lần FT3. Ở mô, phần lớn tác động của T4 là do chuyển thành T3, vì vậy T4 có thể xem như là tiền hormon.

Protein gắn hormon tuyến giáp chính là thyroxin-binding globulin (TBG), ngoài ra hormon tuyến giáp còn được vận chuyển bởi thyroxin-binding prealbumin (TBPA) và albumin. TBG bão hòa khoảng 1/3 ở nồng độ hormon tuyến giáp bình thường. Chỉ dạng hormon tự do không gắn với protein là dạng hoạt động. Lượng hormon T4 và T3 trong máu thay đổi có ý nghĩa bởi sự thay đổi hàm lượng các protein gắn hormon này. Ví dụ, khi có thai, nồng độ estrogen cao làm tăng sản xuất TBG ở gan. Nồng độ TBG cao làm nồng độ T4 và T3 cao. Ở người có chức năng tuyến giáp bình thường, nồng độ hormon dạng hoạt động FT3 và FT4 ở trong khoảng bình thường. Do vậy, định lượng FT4 và FT3 có thể cần thiết để loại trừ các lầm lẫn do sự bất thường nồng độ protein gắn hormon.

Tác dụng sinh lý chính xác của TBG là không biết. Những người có thiếu hụt TBG có yếu tố di truyền không có bất thường về lâm sàng. Tuy nhiên, gắn hormon tuyến giáp với TBG tạo cơ chế đệm để duy trì nồng độ hormon tự do hằng định do bất cứ thay

đôi nào. Sự gắn TBG còn làm giảm sự mất hormon qua thận và có thể có vai trò đặc hiệu tạo thuận lợi cho việc hấp thu hormon của tế bào.

Chỉ một lượng nhỏ T4 và T3 bài tiết ra ngoài thận do phần lớn gắn TBG. Con đường thoái hóa chính của hormon tuyến giáp là khử iod và chuyển hóa ở mô, nhưng chúng cũng có thể liên hợp ở gan và bài tiết ra ngoài qua mật.

1.4. Điều hòa bài tiết hormon tuyến giáp

Hiểu biết về trục dưới đồi-tuyến yên-tuyến giáp là cơ bản để phân tích chính xác các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp. TRH được tổng hợp và dự trữ ở vùng dưới đồi, khi bài tiết sẽ có tác dụng kích thích tuyến yên sản xuất và bài tiết TSH. Đến lượt mình, TSH kích thích tuyến giáp tổng hợp và bài tiết hormon tuyến giáp. Khi hormon tuyến giáp tăng sẽ ức chế bài tiết TRH và TSH. Cơ chế điều hòa feedback này đòi hỏi vùng dưới đồi, tuyến yên, tuyến giáp hoạt động bình thường cũng như không có các tác nhân ảnh hưởng nào hay các yếu tố tác động giống TSH nào.

2. Các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp

Các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp là cần thiết cho chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh tuyến giáp. Phần lớn các phòng xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp bằng xét nghiệm TSH và FT4, tiến hành thêm xét nghiệm khác nếu kết quả không rõ rệt hoặc lâm sàng yêu cầu.

Danh pháp và viết tắt của các xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp

Nồng độ	Viết tắt
<i>Nồng độ hormon</i>	
Thyroxin toàn phần	T4
Triiodothyronin toàn phần	T3
Thyroxin tự do (Free thyroxine)	FT4
Triiodothyronin tự do (Free triiodothyronin)	FT3
Thyrotropin (thyroid-stimulating hormon)	TSH
Reverse T3	rT3
<i>Protein gắn hormon tuyến giáp trong huyết thanh</i>	
Thyroxin-binding globulin	TBG
Thyroxin-binding prealbumin (transthyretin)	TBPA
<i>Các xét nghiệm trong bệnh tuyến giáp tự miễn</i>	
Kháng thể kháng thyroglobulin	TgAb
Kháng thể kháng microsomal	TMab
Kháng thể kháng thyroid peroxidase	TPO Ab
Kháng thể kháng receptorTSH antibodies	TRAb
<i>Các hormon và protein khác liên quan đến tuyến giáp</i>	
Hormon giải phóng thyrotropin	TRH

Thyroglobulin	Tg
Calcitonin	Ct

2.1. Định lượng T₃ và T₄

* Định lượng T₃ toàn phần

- Khi nồng độ hormon giáp trong máu giảm xuống hay khi cơ thể phải đối mặt với tình trạng stress thực thể hay tâm thần, vùng dưới đồi sẽ bị kích thích để giải phóng ra hormon TSH. Khi được tiết ra, TRH sẽ kích thích thùy trước tuyến yên sản xuất ra hormon kích thích tuyến giáp TSH. Sau đó TSH kích thích sản xuất và giải phóng Tri-iodthyroxin (T₃) và thyroxin (T₄). Hầu hết hormon giáp được sản xuất tại tuyến giáp dưới dạng T₄. Nồng độ T₄ trong máu cao hơn rất nhiều T₃, song T₃ là một hormon có hoạt tính sinh học mạnh hơn.

- Có 2 loại T₃: Phần T₃ tự do hay dạng có hoạt tính (chỉ chiếm 0,2% T₃ toàn phần) và phần lớn được gắn với các protein huyết tương. Các tình trạng làm tăng protein huyết tương như khi có thai, bị bệnh gan có thể sẽ làm tăng giá tạo nồng độ T₃ toàn phần nhưng nồng độ T₃ tự do sẽ không bị tác động.

- Xét nghiệm định lượng nồng độ T₃ toàn phần được chỉ định khi bệnh nhân có biểu hiện các triệu chứng cường giáp song nồng độ T₄ tự do bình thường hay ở mức ranh giới giúp đánh giá chức năng tuyến giáp, chẩn đoán các trường hợp cường giáp do T₃.

- *Giá trị tham chiếu:*

+ Bình thường: 1.3 - 3.1 nmol/l

+ T₃ máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

+ T₃ máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, suy giáp.

* Định lượng T₄ toàn phần

Trong máu, T₄ lưu hành dưới hai thể:

- Thể tự do, có hoạt tính sinh học chiếm 0,02% T₄ toàn phần

- Thể liên kết với protein không có hoạt tính sinh học, chiếm 99,98% T₄ toàn phần.

- Ở các mô, một số cơ quan như gan, thận và tuyến yên có khả năng chuyển T₄ thành T₃ là hormon có hoạt tính sinh học mạnh hơn.

- Nồng độ T₄ toàn phần có thể được định lượng trực tiếp trong huyết thanh bằng phương pháp miễn dịch phóng xạ.

- *Giá trị tham chiếu:*

+ Bình thường: 66 – 181 nmol/l

+ T₄ máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

+ T₄ máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, suy giáp.

2.2. Định lượng T₃ tự do và T₄ tự do

Việc định lượng hormon tự do có khó khăn về mặt kỹ thuật vì việc gắn các hormon tự do với kháng thể trong thử nghiệm sẽ làm rối loạn cân bằng giữa dạng gắn protein và dạng tự do, gây giải phóng hormon tự do từ protein. Nhiều kỹ thuật định lượng FT4 và FT3 đã được đưa vào sử dụng. Về mặt lý thuyết, nó giải quyết được vấn đề gắn protein và không còn cần đến việc gián tiếp đánh giá hormon tự do bằng các xét nghiệm như hấp thu resin, tính chỉ số FT4 hay đo tỷ số T4/TBG. Tuy nhiên, với sự bất thường lớn về nồng độ protein gắn hormon, kết quả của phép định lượng hormon tự do có thể sai do các vấn đề kỹ thuật của phương pháp. Các kháng thể kháng hormon tuyến giáp có thể xuất hiện trong huyết tương và ảnh hưởng đến xét nghiệm định lượng hormon tự do. Việc định lượng TSH có thể giúp giải quyết cả trong 2 trường hợp trên.

Ở phụ nữ có thai, vì lý do nào đó chưa biết rõ, nồng độ bình thường của FT4 giảm trong quá trình mang thai ở người có chức năng tuyến giáp bình thường trong khi nồng độ TBG tăng nên T4 tăng. Tình trạng của tuyến giáp về lâm sàng không thay đổi.

Tương tự như T3, FT3 có thể bình thường trong suy giáp nên việc định lượng FT3 không có giá trị chẩn đoán bệnh này. Tuy nhiên, FT3) là xét nghiệm nhạy trong đánh giá cường giáp. Ở bệnh nhân cường giáp, thông thường cả FT4 và FT3 tăng và FT3 thường tăng nhiều hơn. Tuy nhiên có một số trường hợp cường giáp FT3 tăng nhưng FT4 không tăng (thường ở mức độ cao trong giải tham chiếu), trường hợp này gọi là nhiễm độc giáp T3 (T3-toxicosis). Đôi khi FT4 tăng còn FT3 bình thường, trường hợp này thường do bệnh nhân bị cả các bệnh không phải tuyến giáp, gây giảm chuyển T4 thành T3, FT3 sẽ tăng khi bệnh kèm theo thuyên giảm.

2.3. Định lượng hormon kích thích tuyến giáp (TSH)

Vì sự giải phóng TSH từ tuyến yên được kiểm soát qua cơ chế feedback âm tính bởi hormon tuyến giáp, việc định lượng TSH có thể dùng như một chỉ điểm cho chức năng tuyến giáp bình thường, giảm trong cường giáp, và không bị ảnh hưởng bởi sự thay đổi giáp. Nồng độ TSH huyết tương tăng trong suy giáp tiên phát, bình thường ở người có nồng độ TBG.

Định lượng TSH là xét nghiệm chẩn đoán suy giáp. Trong trường hợp bệnh rõ, TSH huyết tương tăng và thường rất cao. Những trường hợp nhẹ, TSH tăng ít hơn. TSH nhạy hơn T4 trong các trường hợp này. Hiện tại, các kỹ thuật định lượng TSH đủ nhạy để phân biệt giữa nồng độ bình thường (0,3-5 mU/L) và nồng độ thấp ở bệnh nhân cường giáp rõ (<0,1 mU/L). Nhưng nồng độ thấp có thể gặp ở bệnh nhân không có triệu chứng lâm sàng rõ ràng hoặc bệnh nhân bị bệnh không phải bệnh tuyến giáp. Chính vì vậy, ở các bệnh nhân nằm viện, nồng độ TSH huyết tương thường thấp thường do các bệnh không phải tuyến giáp hơn là do cường giáp. Trong khi đó, nồng độ tăng nhẹ thường gặp khi bệnh nhân ốm bình phục cũng như suy giáp nhẹ và suy giáp mới bắt đầu. Do vậy, TSH mặc dù là xét nghiệm đầu tiên để đánh giá chức năng

tuyến giáp nhưng nó không hoàn toàn tin cậy và việc đo lường thêm cả FT4 là cách thức tốt hơn để đánh giá. Lý do thứ hai cần sử dụng kết hợp 2 xét nghiệm để tránh chẩn đoán nhầm các bệnh nhân rối loạn chức năng tuyến giáp thứ phát sau bệnh tuyến yên, mặc dù rối loạn này hiếm gặp hơn rất nhiều so với rối loạn tiên phát của tuyến giáp. Sự kết hợp 2 xét nghiệm còn cần để đánh giá các bệnh nhân đang được điều trị bệnh tuyến giáp, đặc biệt ở các giai đoạn sớm.

2.4. Các xét nghiệm khác

Các kỹ thuật sử dụng đồng vị phóng xạ đánh giá chức năng tuyến giáp chia làm 2 loại. Các thử nghiệm định lượng sự hấp thu iod phóng xạ hiện không còn được dùng nhiều nữa. Trong khi đó thử nghiệm nhấp nháy (scintiscanning) lại được dùng phổ biến. Trong kỹ thuật này, người ta dùng liều đồng vị (thường là 9mTc) và theo dõi sự phân bố của nó trong tuyến giáp bằng camera gamma. Kỹ thuật này cho phép xác định các nhân nóng (hoạt động) và nhân lạnh (không hoạt động hoặc có thể ác tính) ở những bệnh nhân bướu giáp. Kỹ thuật còn cho phép phân biệt giữa bệnh Graves (tăng hấp thu đồng đều), bướu giáp đa nhân (hấp thu lốm đốm) hoặc adenoma (single hot spot) ở bệnh nhân nhiễm độc giáp, và có thể phát hiện các mô tuyến giáp lạc chỗ.

Có nhiều tự kháng thể kháng tuyến giáp có thể phát hiện trong máu bệnh nhân bị bệnh tuyến giáp. Ví dụ, thyroid stimulating immunoglobulin là các yếu tố bệnh sinh trong bệnh Graves. Kháng thể antiperoxidase tăng cao trong phần lớn các bệnh nhân bị viêm tuyến giáp Hashimoto, và trong một vài bệnh nhân bị Graves. Kháng thể anti-thyroglobulin và kháng thể kháng hormon tuyến giáp T3 và T4, gây ra các bất thường về kết quả xét nghiệm các hormon này.

*** Các bệnh lý tuyến giáp**

- Cường giáp

Cường giáp được định nghĩa là tình trạng tăng chuyển hóa do sản xuất quá nhiều hormon tuyến giáp. Rối loạn này có nhiều nguyên nhân khác nhau. Một số nhà lâm sàng thích sử dụng thuật ngữ nhiễm độc giáp hơn là cường giáp để mô tả tình trạng tăng chuyển hóa liên quan đến tăng lượng hormon tuyến giáp trong tuần hoàn. Bảng 5 trình bày các nguyên nhân và triệu chứng lâm sàng của cường giáp.

Nguyên nhân hay gặp nhất gây cường giáp là bệnh Graves, một bệnh tự miễn có đặc trưng là xuất hiện kháng thể kháng receptor TSH của tuyến giáp. Các tự kháng thể này gắn với receptor TSH của tuyến giáp và gây kích thích tuyến giáp sản xuất hormon tương tự như TSH.

Tỷ lệ mắc cường giáp trong quần thể là khá thấp (0,3% đến 0,6%), nữ bị nhiều hơn nam. Trên lâm sàng cường giáp dễ chẩn đoán hơn suy giáp. Về hóa sinh, cường giáp tiên phát có tăng T4 và T3, ức chế bài tiết TSH nên TSH rất thấp hoặc không đo

được; trừ trường hợp rất hiếm gặp là cường giáp do tăng tiết TSH (u tuyến yên bài tiết TSH hoặc tuyến yên kháng hormon tuyến giáp). Bệnh nhân cường giáp thường có nồng độ TSH dưới 0,05 mU/L. Nồng độ TSH huyết thanh trong giới hạn bình thường hầu như không thể loại trừ cường giáp.

Khi nồng độ TSH thấp, nên định lượng FT4, FT4 sẽ tăng trong phần lớn các trường hợp cường giáp. TSH thấp, FT4 tăng thường đủ để xác định chẩn đoán cường giáp. Nếu TSH thấp nhưng FT4 trong khoảng giá trị bình thường, cần định lượng T3 và T3 thường tăng nhiều hơn T4 trong giai đoạn sớm của bệnh Graves và trong một số trường hợp bướu giáp đơn nhân hay đa nhân nhiễm độc (gọi là nhiễm độc giáp T3). Sự tồn tại liên tục TSH thấp trong khi FT4 và T3 bình thường có thể là cường giáp thể lâm sàng không rõ (subclinical hyperthyroidism). Vì chỉ có T3 tự do là có hoạt tính sinh học, việc đo lường FT3 có thể hữu ích trong các trường hợp này.

Điều trị cường giáp bao gồm: (1) chỉ định các thuốc kháng giáp, (2) iod phóng xạ, (3) phẫu thuật cắt bỏ một phần tuyến giáp. Việc điều trị nhằm giảm sản xuất hormon tuyến giáp hoặc ức chế chuyển T4 thành T3 ở mô ngoại vi. Ở giai đoạn điều trị ban đầu, nên định lượng FT4 vài tuần một lần cho đến khi các triệu chứng giảm bớt và nồng độ FT4 huyết thanh bình thường trở lại; việc theo dõi liên tục sự tái phát của cường giáp nên tiến hành 2-3 lần một năm sau khi điều trị khỏi. Vì tuyến yên bị ức chế trong cường giáp, định lượng TSH huyết thanh không phải là xét nghiệm tốt để theo dõi tình trạng tuyến giáp ở giai đoạn bắt đầu điều trị kháng giáp. Sự cắt bỏ mô tuyến giáp hoặc điều trị thuốc kháng giáp quá liều đôi khi dẫn đến suy giáp và tăng TSH huyết thanh; theo dõi suy giáp ở các bệnh nhân cường giáp được điều trị cần phải tiếp tục suốt đời và có thể theo dõi bằng nồng độ TSH huyết thanh.

- Suy giáp

Suy giáp được định nghĩa là sự suy giảm bài tiết hormon tuyến giáp và tác dụng của chúng. Đây là rối loạn hay gặp, ở mức nhẹ hoặc trầm trọng, chiếm 2-15% quần thể. Nữ bị nhiều hơn nam, tần suất mắc của cả hai giới tăng theo tuổi. Có rất nhiều nguyên nhân có thể gây suy giáp tiên phát nhưng suy giáp cũng có thể thứ phát do giảm tích thích từ vùng dưới đồi hoặc tuyến yên. Tuy nhiên, hiếm bệnh nhân suy tuyến yên chỉ có biểu hiện duy nhất là suy giáp. Nguyên nhân hay gặp nhất của suy giáp là phù niêm thể teo, kết quả cuối cùng của phá hủy tuyến giáp do tự miễn. Các biểu hiện lâm sàng có thể rõ và dễ dàng phát hiện nhưng cũng có thể rất kín đáo, khó phát hiện. Phù niêm (myxedema) là dạng nặng của suy giáp. Chứng lùn đần độn (cretinism) là thuật ngữ dùng để mô tả suy giáp bẩm sinh.

- Suy giáp tiên phát

Suy giáp tiên phát có bướu xảy ra khi tổng hợp T4 và T3 suy giảm vì yếu tố ngoại sinh hoặc yếu tố nội sinh, tổn thương di truyền tổng hợp hormon giáp trạng. Kết quả là

vòng feedback dương tính gây phì đại tuyến giáp bù trừ do tăng bài tiết TRH và TSH. Suy giáp tiên phát không có bướu có đặc điểm mắt hoặc teo mô tuyến giáp, làm giảm sản xuất hormon tuyến giáp mặc dù được kích thích tối đa bởi TSH. Viêm tuyến giáp Hashimoto là nguyên nhân hay gặp nhất của suy giáp tiên phát ở các nước phát triển, nơi mà iod được cung cấp đủ trong chế độ ăn. Trên thế giới, thiếu iod là nguyên nhân hay gặp nhất của suy giáp có bướu. Nguyên nhân hay gặp nhất của suy giáp không có bướu là phẫu thuật loại bỏ hoặc phóng xạ loại bỏ tuyến giáp trong điều trị bệnh Graves.

Giảm nồng độ hoặc hoạt tính T4 và T3 dẫn đến tăng bài tiết TSH của tuyến yên và gây tăng TSH huyết thanh. Nồng độ TSH là đặc điểm quan trọng, đặc biệt trong phát hiện sớm suy giáp. Trong suy giáp nhẹ hoặc kín đáo, nồng độ hormon tuyến giáp có thể trong giới hạn bình thường nhưng nồng độ TSH tăng. Nguyên nhân của suy giáp thường được xác định dựa trên bệnh sử, thăm khám lâm sàng và xét nghiệm các tự kháng thể tuyến giáp trong máu.

Suy giáp tiên phát bẩm sinh có thể do không có tuyến giáp hoặc thứ phát do bất thường trong tổng hợp hormon tuyến giáp. Rối loạn này gặp với tỷ lệ 1/3500 đến 1/4000 trẻ sinh ra sống. Điều trị sớm bằng hormon tuyến giáp thay thế là vô cùng quan trọng để ngăn ngừa các tổn thương không hồi phục của hệ thần kinh. Chương trình sàng lọc suy giáp bẩm sinh đã được tiến hành ở tất cả các nước phát triển trên thế giới. Ở châu Âu và Nhật Bản, chương trình sàng lọc được tiến hành bằng định lượng TSH, sau đó là định lượng T4 ở những trẻ nhỏ có TSH trên 20 mU/L.

Suy giáp tiên phát dễ dàng được điều trị bằng thuốc uống thyroxin hàng ngày. Trong giai đoạn điều trị ban đầu, T4 huyết thanh thay đổi nhanh chóng nhưng TSH vẫn còn cao vì đáp ứng của tuyến yên với sự thay đổi nồng độ hormon tuyến giáp chậm. Phải mất 4-8 tuần để TSH đạt được trạng thái cân bằng mới sau. Theo dõi định kỳ TSH huyết thanh 2-3 lần một năm là việc cần làm để giúp duy trì tình trạng tuyến giáp bình thường và nồng độ TSH trong giới hạn bình thường. Cần tránh điều trị T4 quá liều để giảm nguy cơ tiêu xương và rung nhĩ.

- Suy giáp thứ phát

Suy giáp thứ phát là do bệnh lý của vùng dưới đồi hoặc tuyến yên làm suy giảm hoặc TSH hoặc TRH hoặc cả 2. Suy giảm một mình TSH hiếm gặp, phần lớn các bệnh nhân suy giáp thứ phát có thiếu hụt cả các hormon khác của tuyến yên. Trong suy giáp thứ phát, nồng độ hormon tuyến giáp thấp, nồng độ TSH thấp hoặc trong giới hạn bình thường. Khi cả T4 và TSH thấp, thử nghiệm TRH có thể có một vài lợi ích. Ở các bệnh nhân có tổn thương phá hủy tuyến yên gây thiếu hụt TSH, không có đáp ứng bài tiết TSH với TRH ngoại sinh. Ở những bệnh nhân bất thường vùng dưới đồi ảnh hưởng đến giải phóng TRH và TSH, đỉnh đáp ứng TSH với TRH có thể bình thường, nhưng chậm hơn (thường thời điểm 45-60 phút trong khi bình thường là 20-30 phút).

- Viêm tuyến giáp

Viêm tuyến giáp có thể do nhiễm khuẩn (thường là virus) hoặc bệnh tự miễn. Trong viêm tuyến giáp do virus, thường liên quan đến coxsackie, sởi, adenovirus, viêm nhiễm dẫn đến giải phóng các chất tiền keo và tăng nồng độ hormon tuyến giáp trong máu. Bệnh nhân thường bị nhiễm độc giáp thoáng qua, thường nhẹ. Giai đoạn này thường kéo dài tới 6 tuần và theo sau đó là giai đoạn giảm hormon tuyến giáp, mặc dù không đủ gây triệu chứng lâm sàng. Sau đó, chức năng tuyến giáp trở về bình thường.

Viêm tuyến giáp Hashimoto là một bệnh tự miễn, là một nguyên nhân gây suy giáp. Các kháng thể có nồng độ cao trong máu và bệnh thường phối hợp với xuất hiện các kháng thể đặc hiệu các cơ quan khác. Đôi khi, cường giáp thoáng qua có thể xảy ra trong giai đoạn sớm của bệnh như viêm tuyến giáp do virus.

- Bướu giáp

Bướu giáp là sự phì đại tuyến giáp, có thể xảy ra ở người cường giáp (bệnh Graves, bướu giáp đa nhân nhiễm độc, adenoma tuyến giáp), suy giáp (bệnh Hashimoto, thiếu iod) và người có chức năng tuyến giáp bình thường với các u lành và u ác của tuyến. Phì đại tuyến giáp sinh lý có thể xảy ra trong thời kỳ thiếu niên, không có bất cứ thay đổi nào về chức năng. Trừ trường hợp phì đại sinh lý, các xét nghiệm tuyến giáp nên tiến hành ngay cả khi bệnh nhân dường như có chức năng tuyến giáp bình thường vì kết quả có thể giúp chẩn đoán nguyên nhân. Các xét nghiệm không có vai trò trong chẩn đoán ung thư tuyến giáp, trừ trường hợp carcinoma tiết calcitonin. Khi bệnh nhân ung thư tuyến giáp được điều trị bằng iod phóng xạ và điều trị bổ sung thyroxin, hiệu quả điều trị có thể được đánh giá bằng việc định lượng thyroglobulin huyết tương. Vì bình thường có một lượng nhỏ thyroglobulin được giải phóng từ tuyến giáp cùng với các hormon tuyến giáp, hoạt động của tuyến giáp được suy luận từ sự có mặt của thyroglobulin trong huyết tương.

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày cơ chế điều hòa sản xuất hormon tuyến giáp?
2. Trình bày quá trình sinh tổng hợp hormon tuyến giáp?
3. Giải thích các xét nghiệm chẩn đoán đánh giá chức năng tuyến giáp?

BÀI 7. CÁC XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM TỤY CẤP, VIÊM TỤY MẠN

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày được các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy cấp, viêm tụy mạn
- Giải thích được đặc điểm và ý nghĩa lâm sàng các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy cấp, viêm tụy mạn

*** Kỹ năng**

- Nhận định được sự thay đổi các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy cấp, viêm tụy mạn trên một số xét nghiệm cận lâm sàng

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập
- Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

NỘI DUNG

Tụy là một tuyến tiêu hóa quan trọng của cơ thể, nặng khoảng từ 70 đến 105g, nó có cả chức năng nội tiết và ngoại tiết. Chức năng nội tiết được thực hiện bởi ít nhất 4 hormon của các đảo Langerhans tiết vào máu là insulin, glucagon, gastrin và somatostatin. Chức năng ngoại tiết được thực hiện bởi các enzym tiêu hóa như amylase có tác dụng tiêu hóa tinh bột, lipase tiêu hóa mỡ và trypsin tiêu hóa protein, cũng như có bicarbonate và một số cơ chất khác. Các enzym này được tụy bài tiết qua ống tụy, đi vào tá tràng ở chỗ sát với ống mật chủ. Các bệnh bẩm sinh của nhu mô tuyến tụy hoặc sự tắc đường ống tụy do khối u hoặc bởi bệnh ở vùng xung quanh bóng Vanter có thể gây nên sự giảm hoặc mất hoàn toàn dịch tụy, dẫn đến thiếu các enzym tiêu hóa quan trọng này. Các bệnh của hệ thống nội tiết của các đảo Langerhans trong tụy sẽ được bàn đến ở chương đại tháo đường.

Các bệnh nhu mô quan trọng của tụy là viêm tụy cấp, mạn và ung thư tụy.

1. Viêm tụy cấp

Viêm tụy cấp thường được biểu hiện bằng một cơn đau dữ dội ở vùng thượng vị (triệu chứng này gặp ở 90-100% số bệnh nhân), có thể lan tỏa ra nơi khác và thường lan về phía sau lưng. Trong viêm tụy cấp, bệnh nhân có thể có nôn (30-96%), sốt (60-95%), chướng bụng (70-80%) và có thể tắc ruột do liệt. Trong viêm tụy cấp có thể có vàng da (8-30%), giảm huyết áp hoặc shock (30-40%). Trong các trường hợp viêm tụy cấp nặng và kinh điển, việc chẩn đoán thường dễ dàng; điều không may là các triệu chứng của viêm tụy cấp thường giống như ở một số bệnh ở ổ bụng khác. Ở các viêm tụy cấp mức độ nhẹ, vừa hoặc ở những bệnh nhân viêm tụy mạn mức độ nhẹ hoặc viêm tụy không liên tục, các triệu chứng có thể là mờ nhạt hoặc không điển hình. Các bệnh có các triệu chứng

lâm sàng thường làm người ta dễ nhầm lẫn với viêm tụy cấp (đôi khi với viêm tụy mạn đợt cấp) là loét thủng dạ dày, viêm hoặc sỏi đường mật, tắc ruột và chảy máu trong ổ bụng. Nhồi máu cơ tim đôi khi cũng cần chẩn đoán phân biệt với viêm tụy cấp vì với cơn đau tim cũng có khi lan tỏa về phía sau ổ bụng; hơn nữa, hoạt độ AST huyết tương thường tăng trong nhồi máu cơ tim cũng có thể tăng ở trên 50% số bệnh nhân viêm tụy cấp.

Viêm tụy cấp thường liên quan với nghiện rượu hoặc sỏi mật ở 60-90% các trường hợp. Khoảng 50% trường hợp viêm tụy cấp có liên quan đến bệnh sỏi mật. Một số đáng kể các bệnh nhân viêm tụy cấp cũng có liên quan đến xơ gan, đến bệnh gan do rượu hoặc do nhạy cảm với một số thuốc. Trong khi đó, rượu được cho là nguyên nhân thường gặp nhất của viêm tụy mạn tái phát.

*** Các xét nghiệm có ích trong chẩn đoán viêm tụy cấp**

1.1 α -Amylase huyết tương

Bình thường, hoạt độ α -Amylase huyết thanh là < 220 U/L khi đo ở nhiệt độ 37°C, trong đó, hoạt độ α -Amylase huyết thanh của riêng tụy là < 115 U/L.

Trong viêm tụy cấp, xét nghiệm thường được sử dụng nhất là đo được hoạt độ α -Amylase huyết tương, α -Amylase có một số isoenzym, một số isoenzym có nguồn gốc từ tụy và một số khác có nguồn gốc từ tuyến nước bọt. Độ thanh thải của α -Amylase khỏi huyết tương là khoảng 2 giờ. Một phần có ý nghĩa của α -Amylase được thanh thải theo đường thận bằng cách lọc qua cầu thận và phần còn lại (khoảng trên 50%) được thoái hóa theo con đường khác. Trong viêm tụy cấp, hoạt độ α -Amylase huyết thanh thường tăng trong khoảng từ khoảng 2-12 giờ, đạt mức độ cao nhất ở 24 giờ và trở lại bình thường ở giờ thứ 48-72 sau cơn đau tụy. Nếu có tiếp tục tổn thương tế bào tụy, mức độ tăng của α -Amylase huyết thanh sẽ còn kéo dài hơn và quay trở lại giới hạn bình thường trong những khoảng thời gian dài hơn.

Các nguyên nhân có thể gây tăng α -Amylase huyết tương là:

1. Viêm tụy cấp nguyên phát hoặc viêm tụy mạn tái phát như các trường hợp viêm tụy cấp tự phát, viêm tụy do chấn thương, viêm tụy do alcol, do cảm ứng với thuốc (các thiazide, furosemide, viên tránh thai, các tetracyclin, acid valproic, metronidazole), viêm gan do virus và cường cận giáp.
2. Các bệnh đường mật như viêm đường mật, sỏi đường mật, u, co thắt cơ Oddi gây nên bởi morphine và meperidine hoặc sau đặt ống thông đường mật.
3. Các bệnh ổ bụng cấp khác như loét dạ dày thủng hoặc không thủng, viêm phúc mạc, chảy máu trong ổ bụng, nhồi máu hoặc tắc ruột hoặc do phẫu thuật ổ bụng.
4. Bệnh ngoài tụy hoặc tăng Amylase không phải dạng α , ví dụ trong bệnh viêm tuyến nước bọt cấp hoặc do Amylase phân tử lớn (macroamylase).
5. Một số bệnh lý khác như suy thận, suy tim nặng, nhiễm ceton do đái tháo đường, có thai, chấn thương não, bồng lan rộng, chẹp đường mật...

Trong một số trường hợp bệnh đường ruột có sự viêm tụy thứ phát, một số trường hợp khác có sự giải phóng Amylase vào máu tuần hoàn khi tắc mật xảy ra và còn một số trường hợp khác không thể giải thích bằng giải phẫu. Tương tự như vậy, trong một số bệnh ổ bụng cấp không phải bệnh đường mật cũng có thể có sự viêm tụy hóa học bề mặt, ví dụ, khi tắc ruột hoặc khi nhồi máu ruột, có thể có sự thoát enzym trong lòng ống tiêu hóa.

Mức độ Amylase huyết thanh cũng tăng lên ở khoảng 10-15% số bệnh nhân sau phẫu thuật ổ bụng. Khoảng một nửa số trường hợp có sự tăng mức độ Amylase huyết thanh nguồn gốc nước bọt và khoảng một nửa có sự tăng mức độ Amylase huyết thanh nguồn gốc tụy.

Một số nghiên cứu đã thông báo rằng mức độ Amylase huyết thanh cao hơn 5 lần giới hạn tham chiếu trên thường gặp ở viêm tụy cấp do bệnh đường mật (ví dụ do viêm túi mật hoặc do sỏi trong túi mật hoặc trong đường mật nói chung) nhiều hơn do viêm tụy cấp tự phát hoặc do rượu. Tuy nhiên, sự tăng Amylase này không khác nhau đến mức có thể phân biệt giữa viêm tụy cấp và mạn. Mức độ Amylase huyết thanh được thấy là bình thường ở phần lớn các bệnh nhân bị carcinoma tụy nhưng đôi khi có thể tăng.

Các bệnh nhân có chức năng thận kém có thể có sự tăng giả của Amylase huyết thanh, isoenzym amylase của tụy, lipase, trypsin phản ứng miễn dịch và tỷ lệ thanh lọc Amylase/creatinin. Khi giá trị thanh lọc creatinin của thận giảm xuống còn khoảng 40 mL/phút có thể dẫn đến một sự tăng giả của hoạt độ α -Amylase huyết thanh. Tuy nhiên, một số bệnh nhân suy thận vẫn có các giá trị enzym được duy trì trong giới hạn bình thường (khoảng 60% có tăng Amylase và khoảng 40% có tăng lipase). Một nghiên cứu cho thấy sự tăng giả của Amylase cao nhất đạt 5 lần giá trị bình thường (tăng 4 lần bình thường trong suy thận mạn). Ở bệnh nhân suy thận mạn, hoạt độ lipase huyết thanh có thể tăng 6 lần, còn hoạt độ trypsin huyết thanh có thể tăng 5,5 lần so với bình thường. Các bệnh nhân suy thận cấp thường có giá trị hoạt độ các enzym này trong huyết thanh cao hơn ở những bệnh nhân suy thận mạn.

Độ nhạy và độ đặc hiệu của α -Amylase đối với viêm tụy cấp cũng có sự khác nhau rõ rệt khi sử dụng các kit khác nhau và cũng có sự khác nhau giữa những người sử dụng cùng một loại kit. Độ nhạy trung bình của α -Amylase trong viêm tụy cấp là khoảng 85-90%, (dao động từ 17 đến 100%) và độ đặc hiệu là khoảng 45-50% (dao động từ 0 đến 89%). Ở những bệnh ngoài tụy, sự tăng hoạt độ α -Amylase huyết thanh ở mức độ khoảng 3 lần giới hạn tham chiếu trên chiếm khoảng 15% (dao động từ 0 đến 36%).

1.2. Amylase nước tiểu

Vì α -Amylase có khối lượng phân tử nhỏ (chỉ khoảng 50.000 Da) nên nó là enzym duy nhất được lọc qua cầu thận và có mặt trong nước tiểu. Việc đo hoạt độ amylase nước tiểu cũng có thể có ích lợi, đặc biệt là khi mức độ amylase huyết thanh

bình thường hoặc tăng không rõ ràng. Amylase nước tiểu thường tăng trong 24 giờ sau sự tăng amylase huyết thanh và như một nguyên tắc, duy trì sự bất thường trong 7-10 ngày sau khi hoạt độ amylase huyết thanh trở về bình thường. Các nhà nghiên cứu đã thu lượm nước tiểu 1, 2 và 24 giờ để nghiên cứu về amylase nước tiểu. Thời gian thu lượm nước tiểu ngắn hơn đòi hỏi phải thật chính xác, trái lại mẫu nước tiểu thu lượm 24 giờ có thể gặp vấn đề liệu có thu được hoàn toàn lượng nước tiểu hay không? Bình thường, hoạt độ amylase trong nước tiểu là < 1000 U/L với nước tiểu tươi và < 900 U/24 giờ đối với nước tiểu lấy trong 24 giờ.

Thông thường các giá trị được báo cáo theo đơn vị /L, nhưng các giá trị này không hoàn toàn chính xác bởi vì chúng bị ảnh hưởng bởi thể tích nước tiểu dao động. Một trở ngại đối với cả việc xác định hoạt độ amylase trong cả huyết thanh và nước tiểu là sự liên quan của chúng đối với chức năng thận. Khi chức năng thận bị giảm đủ để gây nên một sự tăng nitơ ure máu trong huyết thanh, sự bài tiết amylase cũng giảm, dẫn đến sự tăng nhẹ hoặc trung bình về mức độ amylase huyết thanh và một sự giảm mức độ amylase nước tiểu.

1.3. Tỷ số thanh thải amylase/creatinin.

Vì sự bài tiết amylase của thận phụ thuộc vào chức năng đầy đủ của thận, sự bài tiết amylase trong nước tiểu tỷ lệ với độ thanh thải creatinin. Tuy nhiên, trong viêm tụy cấp, độ thanh thải amylase tăng so với độ thanh thải creatinin. Tỷ số thanh thải amylase/creatinin (amylase/creatinin clearance rate, viết tắt là A/CCR) được tính toán dựa trên phát hiện này. Sự xác định tỷ số A/CCR gồm việc thu lượm một mẫu huyết thanh và một mẫu nước tiểu không cần phải thu lượm mẫu nước tiểu theo thời gian hoặc thu toàn bộ nước tiểu trong 24 giờ. Tỷ lệ A/CCR trở lên bất thường vào 1-2 ngày sau sự tăng mức độ của amylase huyết thanh nhưng vẫn còn sự bất thường về amylase nước tiểu. Tỷ số A/CCR lúc đầu được cho là có độ nhạy 90% đối với viêm tụy cấp; về sau người ta thông báo rằng tỷ lệ này có độ nhạy 33-75%. Không có một xét nghiệm hóa sinh nào có thể phát hiện tất cả các trường hợp viêm tụy cấp và ngay cả các quá trình chẩn đoán xâm lấn cũng khó có thể phát hiện ra trường hợp viêm tụy tương đối nhẹ.

Tỷ số A/CCR đặc biệt đối với viêm tụy hơn những thay đổi về mức độ amylase huyết thanh. Nhiều bệnh nhân có tăng amylase máu nhưng không bị viêm tụy thứ cấp, chỉ có giá trị A/CCR bình thường. Mức độ chính xác của độ đặc hiệu của tỷ số A/CCR hiện còn chưa được xác định. Người ta cho rằng tỷ số A/CCR có thể tăng trong một số trường hợp bệnh lý như nhiễm ceton trong đái tháo đường hoặc trong bong. Sự thể hiện của tỷ số này trong suy thận là khác nhau. Khi tăng nitơ máu ở mức độ vừa phải tỷ số A/CCR có thể bình thường, nhưng trong tăng nitơ máu nặng hơn hoặc trong tăng urê máu ở mức độ cần chạy thận nhân tạo, tỷ số này có thể tăng. Một số tác giả cũng cho rằng các tỷ số khác nhau có thể là giới hạn trên của sự bình thường và gợi ý rằng phương pháp đo hoạt độ amylase có thể ảnh hưởng tới tỷ số này. Một số tác giả lại cho rằng tỷ

số này ít có giá trị. Vì vậy, người ta cho rằng cần phải nghiên cứu thêm về tỷ số này. Người ta cho rằng tỷ số này có giá trị trong viêm tụy cấp. Tuy nhiên, vì còn nhiều câu hỏi về độ nhạy của tỷ số này nên việc đo hoạt độ amylase huyết thanh và nước tiểu sẽ có ích nếu tỷ số A/CCR nằm trong giới hạn tham chiếu. Công thức tính tỷ số A/CCR như sau:

$$\begin{aligned} A/CCR (\%) &= [\text{Amylase NT}/\text{amylase huyết thanh} : \text{creatinin NT}/\text{cratinin HT}] \times 100\% \\ &= [\text{Amylase NT}/\text{amylase huyết thanh} : \text{creatinin HT}/\text{cratinin HT}] \times 100\% \end{aligned}$$

Ở đây, NT = nước tiểu, HT = huyết thanh

Bình thường, giá trị A/CCR < 3,1% khi các giá trị hoạt độ amylase huyết thanh và của nước tiểu đo ở 37⁰C. Giá trị này tăng một cách có ý nghĩa, đạt khoảng 8 đến 9% trong viêm tụy cấp.

Tất cả các giá trị được tính bằng số đơn vị /L. Do đó, nếu mẫu amylase nước tiểu được tính theo thời gian thì kết quả xét nghiệm amylase huyết thanh được coi như một kết quả tương ứng. Xét nghiệm amylase nước tiểu đặc biệt có ý nghĩa bởi vì nước tiểu có amylase tăng lâu hơn amylase trong huyết thanh và nó không bị ảnh hưởng bởi amylase phân tử lớn trong máu. Chức năng thận kém có thể là một yếu tố gây rối loạn tất cả các xét nghiệm về amylase và cratinin của huyết thanh và nước tiểu.

1.4. Amylase đại phân tử (macroamylase)

Amylase đại phân tử là một phức tạp phân tử lớn chứa - amylase gắn với các phân tử khác. Mặc dù amylase đại phân tử được cho là loại không phổ biến nhưng một số nghiên cứu cho thấy nó chiếm từ 1,1-2,7% số bệnh nhân có amylase máu tăng. Amylase đại phân tử không qua được màng lọc cầu thận nên được tích lũy trong huyết thanh. Nếu đo amylase trong huyết thanh sẽ đo được luôn cả amylase đại phân tử và vì vậy kết quả sẽ tăng. Kết quả này sẽ gây nên bệnh tụy giả. Vì amylase đại phân tử không ra được nước tiểu nên nồng độ amylase nước tiểu sẽ bình thường hoặc thấp sẽ cho một giá trị A/CCR thấp và mức độ amylase huyết thanh tăng cộng với một số A/CCR giảm có thể sử dụng để chẩn đoán sự tăng amylase đại phân tử trong máu. Tuy nhiên, trong viêm tụy cấp, mức độ amylase huyết thanh có thể tăng trước khi mức độ amylase nước tiểu tăng. Amylase đại phân tử có thể được xác định bằng kỹ thuật đặc biệt như sắc ký sàng lọc.

1.5. Isoenzym amylase

α -Amylase có hai nhóm isoenzym nguồn gốc tụy và nguồn gốc tuyến nước bọt. Mỗi nhóm gồm vài isoenzym. Việc tách amylase huyết thanh các isoenzym có thể được thực hiện bởi sự ức chế enzym hoặc bởi hóa chất chọn lọc hoặc bởi điện di. Trong viêm tụy cấp, người ta thấy có sự tăng isozym nguồn gốc tụy. Trong tăng amylase máu không có biểu hiện lâm sàng của viêm tụy, ví dụ: tăng ceton máu trong đái tháo đường hoặc sau phẫu thuật, ở một số bệnh nhân có sự tăng các isoenzym amylase kiểu tuyến nước

bột và một số khác có sự tăng isoenzym amylase kiểu tụy. Các kit định lượng hoạt độ các isoenzym kiểu tụy gần đây đã được sử dụng dựa trên nguyên tắc: sử dụng một enzym có nguồn gốc từ mầm lúa mì có khả năng ức chế amylase của tuyến nước bọt, trong khi không có sự tăng isoenzym amylase kiểu tụy, cho ta một gợi ý về một bệnh tăng amylase không phải do tụy. Mặc dù về mặt lý thuyết isoenzym amylase kiểu tụy đặc hiệu cho tụy, nhưng một số tác giả cũng cho thấy cũng có sự tăng isoenzym amylase kiểu tụy trong một số bệnh không phải tụy.

1.6. Lipase huyết thanh

Mức độ lipase huyết thanh được cho là đặc hiệu hơn đối với tổn thương tụy so với mức độ amylase.

Bình thường, hoạt độ lipase huyết thanh < 130 U/L khi đo ở 37°C.

Trong viêm tụy cấp, mức độ lipase tăng nhẹ, chậm hơn mức độ tăng amylase huyết thanh, bắt đầu từ 3 đến 6 giờ, với một đỉnh ở khoảng 24 giờ và có khuynh hướng duy trì sự tăng này lâu hơn và thường trở về giới hạn bình thường trong khoảng từ 7 - 10 ngày. Lipase được bài tiết qua màng lọc cầu thận, sau đó phần lớn được tái hấp thu ở ống lượn gần và được thoái hóa ở một số mô trong cơ thể. Việc định lượng hoạt độ lipase trong nước tiểu rất ít khi được sử dụng và việc đánh giá về độ nhạy và độ đặc hiệu của lipase đối với viêm tụy cấp cũng có những ý kiến khác nhau, độ nhạy khoảng 75-80% (dao động từ 18-100%) và độ đặc hiệu là khoảng 70% (dao động từ 40-90%). Một số tác giả cho là lipase rất nhạy và đặc hiệu với bệnh tụy cấp, đặc biệt là phương pháp sử dụng một chất cộng tác của lipase là colipase. Tuy nhiên người ta cho rằng lipase huyết thanh kém nhạy hơn amylase huyết thanh khoảng 10%, nhưng đặc hiệu hơn amylase huyết thanh 20-30%. Người ta cũng có sự liên quan với sự tăng amylase huyết thanh. Suy thận là một bệnh không phải bệnh tụy nhưng thường có sự tăng mức độ lipase huyết thanh. Khoảng 80% bệnh nhân suy thận có hoạt độ lipase huyết thanh tăng khoảng 2-3 lần giới hạn tham chiếu trên và có khoảng 5% có sự tăng trên 5 lần giới hạn tham chiếu trên. Các bệnh khác đôi khi cũng có sự tăng lipase huyết thanh là viêm đường mật, nhồi máu đường tiêu hóa và tắc ruột. Ở các bệnh nhân này có sự tăng lipase gần 3 lần so với giới hạn tham chiếu trên. Một số bệnh có liên quan đến viêm tụy cấp có thể gặp là quai bị, tắc mật ngoại gan, loét dạ dày và carcinoma tụy. Lipit máu tăng có thể gây nên sự giảm giả của mức độ lipase và amylase huyết thanh.

1.7. Trypsin phản ứng miễn dịch của huyết thanh

Một số tác giả gần đây đã đưa ra phương pháp miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay: RIA) để định lượng hoạt độ trypsin huyết thanh và đã có kit bán trên thị trường. Trypsin được sản xuất bởi một cơ quan duy nhất là tụy. Trong huyết thanh, một phần đáng kể trypsin được gắn với α_1 -antitrypsin và một phần nhỏ gắn với phức hợp α_2 -macroglobulin. Bình thường hoạt độ trypsin trong huyết thanh (đo bằng kỹ

thuật RIA) thật sự không phải là của trypsin mà là tiền chất của nó là trypsinogen. Trong bệnh tụy cấp có sự tăng trypsinogen để tạo thành trypsin. Một số kỹ thuật RIA cho phép đo trypsin gắn với α_1 -antitrypsin cũng như đo trypsinogen. Không đo được trypsin gắn phức hợp α_2 -macroglobulin.

Mức độ trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh được thấy tăng ở 95-100% bệnh nhân bị viêm tụy cấp hoặc trong đợt cấp của viêm tụy mạn. Mức độ trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh cũng tăng ở 80-100% số bệnh nhân suy thận. Ở một số bệnh ngoài tụy, người ta thấy trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh nằm trong giới hạn bình thường ở bệnh nhân xơ gan hoặc bị bệnh đường mật; tăng khoảng 50% ở bệnh nhân sỏi mật và 6-16% ở bệnh nhân xơ gan do uống rượu.

Một nghiên cứu cho thấy trypsin phản ứng miễn dịch tăng ở các bệnh nhân bị nhiễm virus như bị quai bị. Một báo cáo khác cho thấy 50% số bệnh nhân bị ung thư tụy có các giá trị trypsin phản ứng miễn dịch tăng, trái lại có 19% số bệnh nhân ung thư tụy có giá trị dưới mức bình thường.

Do chỉ có một số lớn các trung tâm y học hoặc phòng xét nghiệm của bệnh viện lớn có khả năng làm xét nghiệm trypsin phản ứng miễn dịch và thời gian làm xét nghiệm lâu nên xét nghiệm này ít được sử dụng để chẩn đoán viêm tụy cấp.

2. Viêm tụy mạn

2.1. Các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy mạn

2.1.1. α -Amylase huyết thanh

Xác định hoạt độ α -amylase huyết thanh là một xét nghiệm quan trọng trong chẩn đoán viêm tụy mạn, mặc dù nó ít có ý nghĩa hơn so với trong chẩn đoán viêm tụy cấp. Khoảng 50% số bệnh nhân viêm tụy mạn có hoạt độ α -amylase huyết thanh nằm trong giới hạn bình thường. Việc xác định lặp lại hoạt độ α -amylase huyết thanh ở những bệnh nhân này 3 ngày một lần là cần thiết. Hơn nữa, do giá trị hoạt độ α -amylase huyết thanh ở những bệnh nhân này chỉ nằm ở gianh giới bình thường hoặc tăng nhẹ, nên điều này có thể dẫn tới sự nhầm lẫn với các nguyên nhân khác cũng gây nên tăng hoạt độ α -amylase huyết thanh như đã nêu trên. Trong các trường hợp này, hoạt độ α -amylase trong nước tiểu hoặc tỷ số A/CCR là các xét nghiệm hữu ích nhất.

2.1.2. Trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh

Trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh như đã nêu trên là một xét nghiệm đối với viêm tụy cấp. Trong viêm tụy mạn, sự giảm trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh phụ thuộc vào mức độ suy giảm chức năng của tụy. Trong trường hợp suy giảm chức năng tụy nặng, hơn 75% số bệnh nhân có sự giảm trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh. Ở những trường hợp suy giảm chức năng tụy ở mức độ nhẹ hoặc trung bình, trypsin phản ứng miễn dịch trong huyết thanh thường nằm trong giới hạn bình thường. Giá trị này giảm gần 40% ở trẻ em đái tháo đường được điều trị bằng insulin.

2.2. Các xét nghiệm khác chẩn đoán viêm tụy mạn

*** Nghiệm pháp Bentriomide**

Bentriomide là một peptid tổng hợp gắn với phân tử p. amino benzoic acid (PABA). Bệnh nhân phải nhịn đói qua đêm cho đến khi bắt đầu làm nghiệm pháp. Một mẫu nước tiểu đối chứng được lấy trước khi nghiệm pháp được thực hiện. Một liều 500mg bentriomide được uống cùng với ăn một lượng thức ăn đủ để kích thích tụy. Sau khi bentriomide đi qua tá tràng, enzym của tụy là chymotrypsin sẽ thủy phân tách phân tử PABA ra khỏi phân tử peptid. Phân tử PABA sau đó sẽ được hấp thu ở tá tràng vào máu, được liên hợp ở gan và được bài tiết bởi thận dưới dạng các arylamine. Các arylamine này được định lượng ở mẫu nước tiểu thu lượm được trong vòng 6 giờ kể từ khi bắt đầu nghiệm pháp. Sự bài tiết các arylamine giảm <50% liệu thử nghiệm gợi ý về sự giảm hấp thu của tá tràng, cũng gợi ý về sự giảm hoạt độ chymotrypsin của tụy do chức năng của tụy bị suy giảm. Độ nhạy của nghiệm pháp này đối với viêm tụy mạn phụ thuộc vào mức độ nặng của bệnh, độ nhạy sẽ lớn hơn nếu tình trạng bệnh nặng hơn. Độ nhạy của nghiệm pháp này là 70-80% (dao động từ 39 đến 100%) và độ đặc hiệu là khoảng 90% (dao động từ 72 đến 100%).

Câu hỏi lượng giá

1. Trình bày các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy cấp, viêm tụy mạn
2. Giải thích đặc điểm và ý nghĩa lâm sàng các xét nghiệm chẩn đoán viêm tụy cấp, viêm tụy mạn?

BÀI 8. MỘT SỐ XÉT NGHIỆM MIỄN DỊCH HAY GẶP

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguồn gốc một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp
- Trình bày được nguyên lý định lượng một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp
- Giải thích được các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp

* Kỹ năng

- Nhận định được sự thay đổi một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp trên một số xét nghiệm cận lâm sàng.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
- Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. β -HCG (beta human chorionic gonadotropin)

1.1. Nguồn gốc

HCG là một glycoprotein có 2 tiểu đơn vị (alpha và beta). Trong quá trình mang thai, HCG do noãn tiết ra. Ở phụ nữ không mang thai, nó có thể tăng do u tế bào lá nuôi, ... định lượng B-HCG để phát hiện phụ nữ mang thai, chẩn đoán chửa trứng, chẩn đoán trước sinh (phát hiện hội chứng Down).

1.2. Nguyên lý định lượng

Beta hCG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Beta hCG trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng hCG từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng hCG từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ beta hCG có trong mẫu thử.

1.3. Giá trị bình thường

- Giá trị bình thường: < 1mIU/mL.

- Tăng trong trường hợp:

+ Có thai. Tăng cao hơn trong nhiễm độc thai và tăng cao nhất trong trường hợp chửa trứng, ung thư rau.

+ B-HCG cùng với AFP và E3 là bộ 3 xét nghiệm dùng cho chẩn đoán trước sinh đối với bệnh Down và các dị tật bẩm sinh khác như tật nứt cột sống...

- Giảm trong các trường hợp:

+ Nồng độ BHCG thấp hoặc không tương xứng với tuổi thai thì có thể là thai chết lưu hoặc thiếu năng rau.

1.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

Nguyên nhân	Sai sót	Sử trí
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 410 μmol/L, huyết tán, tang lipid máu, đang sử dụng biotin	Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm	Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại
Nồng độ > dải đo (0,1 - 10000 mIU/mL)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

2. CRP hs (high – sensitivity CRP)

2.1. Nguồn gốc

CRP là một protein pha cấp của gan sản xuất ra hoặc giải phóng vào máu sau một vài giờ khi mô bị tổn thương, do bị nhiễm trùng hoặc nguyên nhân khác gây ra viêm.

Có 2 loại CRP trong máu:

+ CRP chuẩn: Đánh giá tình trạng viêm tiến triển

+ CRP siêu nhạy (high-sensitivity CRP): chất này được coi như chất chỉ điểm với tình trạng viêm mạch cấp độ thấp.

Xét nghiệm CRP thường chỉ định trong các bệnh như nhiễm trùng do vi khuẩn, nhồi máu cơ tim, bệnh tự miễn,...

2.2. Nguyên lý định lượng

hs-CRP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng CRP trong thuốc thử kết hợp với CRP trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ CRP có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

2.3. Giá trị bình thường

- CRP < 0,5 mg/dl

- CRP tăng trong: thấp khớp dạng thấp, nhồi máu cơ tim, nhiễm khuẩn, viêm do phế cầu,

...

2.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Huyết thanh đục

- Vỡ hồng cầu

3. IgM (Immunoglobulin M)

3.1. Nguồn gốc

IgM chiếm 7% tổng số kháng thể của cơ thể người, là một kháng thể chủ yếu được sản xuất bởi các tế bào B, xuất hiện trong đáp ứng lần đầu với một số kháng nguyên. Vì vậy nó có vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch ở giai đoạn cấp tính:

gây ngưng kết vi khuẩn, virus, ký sinh trùng đơn bào tạo điều kiện cho đại thực bào dễ dàng tiêu diệt và chúng có vai trò kích hoạt bỏ thể.

3.2. Nguyên lý định lượng

IgM được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgM trong thuốc thử kết hợp với IgM trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgM có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

3.3. Giá trị bình thường

- Giá trị bình thường: 40-230 mg/dL.

- IgM máu tăng trong: tăng nhiều dòng gặp trong: xơ gan mật nguyên phát, nhiễm trùng hệ thống và thấp khớp cấp. Tăng đơn dòng gặp trong: bệnh Waldenström, bệnh bạch cầu. Sự tăng IgM trong suốt 4 tuần đầu sau sinh chỉ ra nhiễm trùng sơ sinh có tính chất bẩm sinh do mẹ bị Rubella, Cytomegalovirus, nhiễm toxoplasma hay giang mai.

- IgM máu giảm: hiếm khi thấy trường hợp liên quan đến sốt hồi quy.

3.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Huyết thanh đục
- Vỡ hồng cầu

4. IgG (Immunoglobulin G)

4.1. Nguồn gốc

IgG chiếm 75% tổng số kháng thể trong cơ thể người, chia làm 4 nhóm trong đó IgG4 chỉ chiếm 4% và không có chức năng hoạt hóa bỏ thể. Cấu trúc chuỗi nặng của IgG là chuỗi gamma. Khoảng một nửa IgG của cơ thể là ở trong huyết tương, nửa còn lại trọng lượng phân tử thấp được phân bố trong các khe kẽ đóng vai trò chống lại nhiễm trùng tại các cơ quan. IgG đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ cơ thể chống lại nhiễm trùng trong thời gian dài. IgG là loại duy nhất qua được hàng rào nhau thai vì vậy nó có vai trò đặc biệt trong chống nhiễm trùng ở giai đoạn sơ sinh. IgG có nhiều nhất trong máu, sữa, sữa non và dịch mô

4.2. Nguyên lý định lượng

IgG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgG trong thuốc thử kết hợp với IgG trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgG có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

4.3. Giá trị bình thường

- Giá trị bình thường: 700-1600 mg/dL.

- IgG máu tăng trong:

- + Tăng nhiều trong: bệnh tự miễn, u hạt, nhiễm trùng hạt mạn tính.

+ Tăng một dòng trong: đa u tủy typ IgG, bạch cầu cấp, bạch cầu mạn và một số bệnh ác tính khác.

- IgG giảm trong:

+ Suy giảm miễn dịch bẩm sinh, AIDS.

+ Bỏng, hội chứng thận hư, đa u tủy typ không IgG.

4.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Huyết thanh đục

- Vỡ hồng cầu

5. IgE (Immunoglobulin E)

5.1. Nguồn gốc

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng với ký sinh trùng như giun sán,...ngoài ra nó còn có vai trò quan trọng trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng,...

5.2. Nguyên lý định lượng

IgE được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. IgE có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IgE đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IgE đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ IgE có trong mẫu thử.

5.3. Giá trị bình thường

- Giá trị bình thường: < 100 U/L.

- IgE tăng trong: các trạng thái dị ứng, hen phế quản, viêm mũi dị ứng, eczema, nhiễm ký sinh trùng, nấm phổi.

- IgE giảm trong: ung thư giai đoạn cuối không điều trị, chứng mất điều hòa giãn mao mạch.

5.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Huyết thanh đục

- Vỡ hồng cầu

6. IgA (Immunoglobulin A)

6.1. Nguồn gốc

IgA là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong chống lại vi khuẩn xâm nhập từ bên ngoài mặt niêm mạc. IgA được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh nhiễm trùng của hệ hô hấp, hệ tiêu hóa, bệnh tự miễn, u tủy IgA...

6.2. Nguyên lý định lượng

IgA được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng Ig trong thuốc thử kết hợp với Ig trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-

kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ Ig có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

6.3. Giá trị bình thường

- Giá trị bình thường: 70-400 mg/dL.
- IgA máu tăng trong: nhiễm trùng (ở trẻ sơ sinh, đường hô hấp, đường tiêu hóa), xơ gan, xơ tủy IgA, bệnh tự miễn, sốt thấp khớp.
- IgA giảm trong: thiếu hoặc không có γ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, tiền sản giật.

6.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Huyết thanh đục
- Vỡ hồng cầu

7. Ferritin

7.1. Nguồn gốc

Ferritin là một protein chứa sắt là dạng dự trữ sắt chủ yếu của cơ thể được chỉ định trong một số bệnh về máu, gan...

7.2. Nguyên lý định lượng

Ferritin được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Ferritin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng ferritin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Ferritin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Ferritin có trong mẫu thử.

7.3. Giá trị bình thường

Nam 30-400 ng/mL

Nữ: 13 -150 ng/mL

7.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Huyết thanh đục
- Vỡ hồng cầu

Tự lượng giá

1. Trình bày nguồn gốc một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp?
2. Trình bày nguyên lý định lượng một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp?
3. Giải thích các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả một số xét nghiệm miễn dịch hay gặp?

PHẦN THỰC HÀNH

BÀI 9. KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ GLUCOSE, CHOLESTEROL TOÀN PHẦN VÀ TRIGLYCERID TRONG HUYẾT THANH

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc kỹ thuật định lượng glucose, cholesterol toàn phần và triglycerid trong huyết thanh

* Kỹ năng

- Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật định lượng glucose, cholesterol toàn phần và triglycerid trong huyết thanh

- Nhận định và phân tích được kết quả định lượng glucose, cholesterol toàn phần, triglycerid huyết thanh

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thận trọng, tỉ mỉ, tự chịu trách nhiệm với kết quả công việc của cá nhân và của nhóm

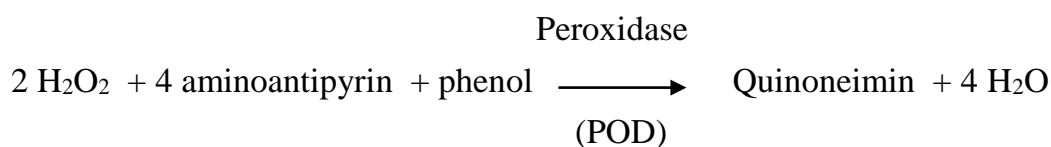
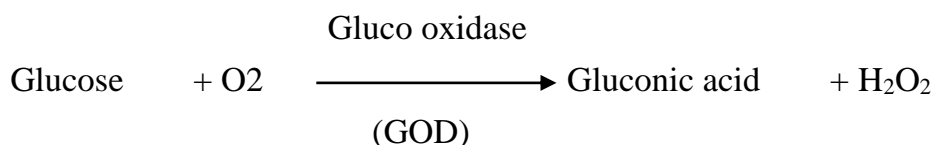
- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Định lượng nồng độ glucose trong huyết thanh

1.1. Nguyên tắc

Định lượng glucose máu sau khi oxy hoá glucose bởi glucose oxidase. Chất màu để đo quang là quinoneimin, được tạo ra từ 4-aminoantipyrin và phenol tác dụng với hydrogen peroxide (H₂O₂) dưới xúc tác của peroxidase



Đo mật độ quang học ở bước sóng 546nm, so với mẫu glucose chuẩn.

1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

- Ống nghiệm nhỏ
- Cuvet
- Máy đo quang
- Pipet bán tự động
- Cốc mở

1.2.2. Hóa chất

- Thuốc thử

Đệm phosphate pH 7,5	250mmol/l
Phenol	5mmol/l
4Aminoantipyrin	0,5mmol/l
Glucose oxidase	≥10kU/l
Peroxidase	≥1KU/L
Dung dịch glucose mẫu	100mg/dl(5,55mmol/l)

- Mẫu thử

- + Huyết thanh
- + Huyết tương chống đông bằng heparin
- + Xét nghiệm được tiến hành chậm nhất sau 1h sau khi lấy bệnh phẩm.
- + Để tránh sự phân huỷ, dùng các chất ức chế NaF, KF (dùng 20µl dung dịch NaF 2g/100ml cho 1ml máu) có thể để máu 1 ngày ở 20-25⁰C hay 7 ngày ở 4-8⁰ C

1.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử glucose, dung dịch chuẩn glucose + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Hút 1000µl thuốc thử glucose vào các ống nghiệm
5	Hút 10µl nước cất vào ống trắng
6	Hút 10µl dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 10µl huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều các ống nghiệm
9	Ủ 3 ống nghiệm
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350
11	Đọc, nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

1.4. Các bước cần lưu ý

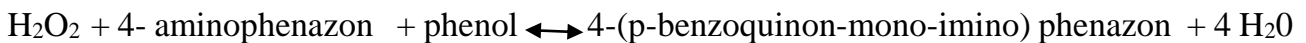
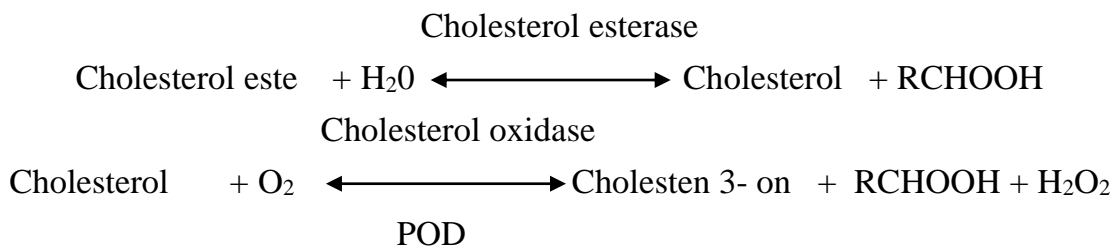
- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

- Bệnh phẩm để lâu không ly tâm và định lượng ngay gây hiện tượng hủy đường làm giảm kết quả. Sau 1 giờ giảm khoảng 7% Sử dụng chất chống đông NaF để tránh hủy đường

2. Định lượng cholesterol toàn phần huyết thanh

2.1. Nguyên tắc

Cholesterol có mặt trong huyết tương chuyển thành cholestron và H₂O₂ do các enzyme cholesterol esterase và cholesterol oxidase xúc tác. Sau đó H₂O₂ kết hợp với chất hiện màu nhờ tác dụng của enzyme peroxidase để chuyển thành hợp chất có màu, có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 532nm



2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

- Ống nghiệm nhỏ
- Cuvet
- Máy đo quang
- Pipet bán tự động
- Cốc mở

2.2.2. Hoá chất

Thuốc thử hỗn hợp gồm:

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| - Đệm phosphate (pH= 6,5) | 100mmol/L |
| - 4- aminophenazon | 0,25 mmol/L |
| - Phenol | 5mmol/L |
| - Peroxidase | > 5KU/L |
| - Cholesterol esterase | > 150 U/L |
| - Cholesterol oxidase | > 100 U/L |
| - Sodium azid | 200 mg/dL (5,17mmol/L) |

2.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm

	+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử cholesterol, dung dịch chuẩn cholesterol + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Hút 1000 μ l thuốc thử cholesterol vào các ống nghiệm
5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng
6	Hút 10 μ l dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều các ống nghiệm
9	Ủ 3 ống nghiệm
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350
11	Đọc, nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

2.4. Các bước cần lưu ý

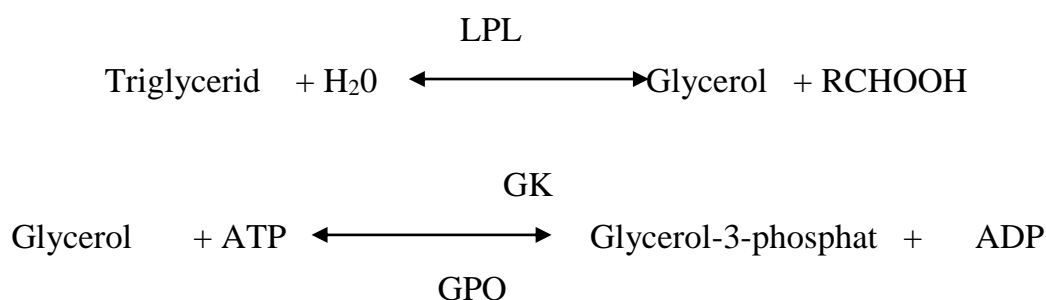
- Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Không sử dụng citrate, oxalate, fluorid. Bảo quản ở 2-80C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 3 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

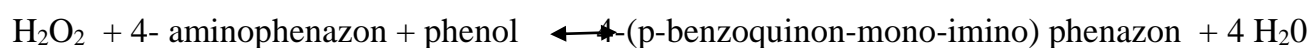
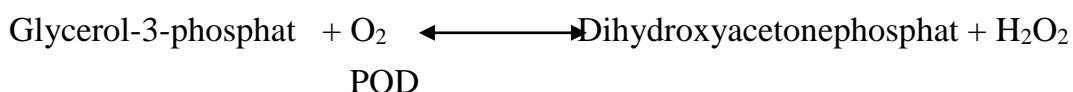
- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

3. Định lượng triglycerid huyết thanh

3.1. Nguyên tắc

Triglycerid có mặt trong huyết tương chuyển thành dihydroxyaceton- phosphat và H₂O₂ do các enzyme lipoprotein lipase (LPL) và kinase (GK), glycerol-3-phosphat-oxidase (GPO) xúc tác. Sau đó H₂O₂ kết hợp với chất hiện màu nhờ tác dụng của enzyme peroxidase để chuyển thành hợp chất có màu, có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 546nm





3.2. Chuẩn bị

3.2.1. Dụng cụ

- Ống nghiệm nhỏ
- Cuvet
- Máy đo quang
- Pipet bán tự động
- Cốc mở

3.2.2. Hoá chất

Thuốc thử hỗn hợp:

- Đệm pH = 7,5	50mmol/L
- 4-chlorophenol	5mmol/L
- 4- aminoantipyrin	0,25mmol/L
- Mg ²⁺	4,5mmol/L
- ATP	2mmol/L
- Lipase	> 1300 U/L
- Peroxidase	> 500 U/L
- Glycerol kinase	> 400 U/L
- Glycero – 3- phosphate oxidase	> 1500 U/L
Dung dịch triglyceride chuẩn	2,28 mmol/L

3.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử triglycerid, dung dịch chuẩn triglycerid + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Hút 1000µl thuốc thử triglycerid vào các ống nghiệm
5	Hút 10µl nước cất vào ống trắng
6	Hút 10µl dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 10µl huyết thanh vào ống thử

8	Lắc đều các ống nghiệm
9	Ủ 3 ống nghiệm
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350
11	Đọc, nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

3.4. Các bước cần lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

- Khi thấy kết quả Triglycerid bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?

+ Đối chiếu kết quả với chẩn đoán Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Các chất có thể làm tăng nồng độ triglycerid máu: Rượu, thuốc chẹn beta giao cảm, cholestyramin, corticosteroid, estrogen, thuốc ngừa thai uống, thuốc lợi tiểu thiazid.

+ Các chất có thể làm giảm nồng độ triglycerid máu: acid ascorbic, asparaginase, colestipol, clofibrat, dextronthyroxin, metformin, niacin. + Có thai, hoặc người bệnh không nhịn ăn sẽ làm tăng nồng độ triglycerid máu.

4. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật

- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

5. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ

KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE TRONG HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi				

		găng, tóc gọn gang, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	<p>Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm</p> <p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử glucose, dung dịch chuẩn glucose</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>- Dụng cụ, máy móc</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.</p> <p>+ Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp				
4	Hút 1000 μ l thuốc thử glucose vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử glucose lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.				
5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng				
6	Hút 10 μ l dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn	2			

7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử	2			
8	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
9	Ủ 3 ống nghiệm	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C trong thời gian 10 phút.				
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	- Chọn đúng kênh đo glucose - Đo đúng bước sóng 505nm	2			
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng điểm			/34			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 34

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

**THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ
KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT
THANH**

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Thang điểm
----	--------------------	------------	------------

			Hệ số	0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử cholesterol, dung dịch chuẩn cholesterol + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp				
4	Hút 1000 μ l thuốc thử cholesterol vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử cholesterol lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.	2			

5	Hút 10µl nước cất vào ống trắng	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10µl nước cất vào ống trắng				
6	Hút 10µl dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10µl dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn	2			
7	Hút 10µl huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10µl huyết thanh vào ống thử	2			
8	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
9	Ủ 3 ống nghiệm	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 05 phút.				
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	- Chọn đúng kênh đo cholesterol - Đo đúng bước sóng 510nm				
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng			/34			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 34

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ

KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID TRONG HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử triglycerid, dung dịch chuẩn triglycerid + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp				
4	Hút 1000 μ l thuốc thử triglycerid vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử triglycerid lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.	2			
5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng				

6	Hút 10 μ l dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn	2			
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử	2			
8	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
9	Ủ 3 ống nghiệm	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 05 phút.				
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	- Chọn đúng kênh đo triglycerid - Đo đúng bước sóng 505nm				
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng						/34

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 34

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

6. Các phụ lục kèm theo

6.1. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
-----	--------------------	---------	---------------------

1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử glucose, dung dịch chuẩn glucose + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	Giúp cho tiến hành quy trình thuận lợi, an toàn và đảm bảo chất lượng	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp
4	Hút 1000 μ l thuốc thử glucose vào các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử glucose lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.

5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Để đánh giá chất lượng thuốc thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng
6	Hút 10 μ l dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn	Để đo mật độ quang của ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều các ống nghiệm	Để trộn đều dung dịch	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
9	Ủ 3 ống nghiệm	Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C trong thời gian 10 phút.
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	Đo mật độ quang của các mẫu	- Chọn đúng kênh đo glucose - Đo đúng bước sóng 505nm
11	Đọc, nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
-----	--------------------	---------	---------------------

1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	<ul style="list-style-type: none"> - Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc - Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm 	<ul style="list-style-type: none"> - Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	<p>Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử cholesterol, dung dịch chuẩn cholesterol + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin 	Giúp cho tiến hành quy trình thuận lợi, an toàn và đảm bảo chất lượng	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp
4	Hút 1000 μ l thuốc thử cholesterol vào các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử cholesterol lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.

5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Để đánh giá chất lượng thuốc thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng
6	Hút 10 μ l dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn	Để đo mật độ quang của ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều các ống nghiệm	Để trộn đều dung dịch	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
9	Ủ 3 ống nghiệm	Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C trong thời gian 05 phút.
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	Đo mật độ quang của các mẫu	- Chọn đúng kênh đo cholesterol - Đo đúng bước sóng 510nm
11	Đọc, nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
-----	--------------------	---------	---------------------

1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử triglycerid, dung dịch chuẩn triglycerid + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp
4	Hút 1000 μ l thuốc thử triglycerid vào các ống nghiệm	Chuẩn máy, tránh nhầm lẫn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử triglycerid lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.

5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng
6	Hút 10 μ l dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn	Để đánh giá chất lượng thuốc thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Để đo mật độ quang của ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
9	Ủ 3 ống nghiệm	Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 05 phút.
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra.	- Chọn đúng kênh đo triglycerid - Đo đúng bước sóng 505nm
11	Đọc, nhận định kết quả	Tìm giá trị mật độ quang của ống chuẩn, ống thử	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau - Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế và cộng đồng	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

6.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử glucose, dung dịch chuẩn glucose + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp		
4	Hút 1000 μ l thuốc thử glucose vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử glucose lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.		
5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng		

6	Hút 10µl dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10µl dung dịch glucose chuẩn vào ống chuẩn		
7	Hút 10µl huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10µl huyết thanh vào ống thử		
8	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
9	Ủ 3 ống nghiệm	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 10 phút.		
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	- Chọn đúng kênh đo glucose - Đo đúng bước sóng 505nm		
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ		

	<p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử cholesterol, dung dịch chuẩn cholesterol</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>+ Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.</p> <p>+ Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp		
4	Hút 1000 μ l thuốc thử cholesterol vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử cholesterol lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.		
5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng		
6	Hút 10 μ l dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch cholesterol chuẩn vào ống chuẩn		
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử		

8	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
9	Ủ 3 ống nghiệm	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 05 phút.		
10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	- Chọn đúng kênh đo cholesterol - Đo đúng bước sóng 510nm		
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng),	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Lấy đủ 3 ống nghiệm và được đánh dấu lần lượt ống trắng, ống chuẩn, ống thử		

	<p>găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử triglycerid, dung dịch chuẩn triglycerid</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>		
5	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác, đảm bảo thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm trùng khớp		
4	Hút 1000 μ l thuốc thử triglycerid vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử triglycerid lần lượt vào cả 3 ống nghiệm.		
5	Hút 10 μ l nước cất vào ống trắng	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l nước cất vào ống trắng		
6	Hút 10 μ l dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l dung dịch triglycerid chuẩn vào ống chuẩn		
7	Hút 10 μ l huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 10 μ l huyết thanh vào ống thử		
8	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
9	Ủ 3 ống nghiệm	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 05 phút.		

10	Đo lần lượt các ống trắng, ống chuẩn, ống thử trên máy BTS350	- Chọn đúng kênh đo triglycerid - Đo đúng bước sóng 505nm		
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

6.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu đạt	Kết quả thực hiện	Xác nhận của người đánh giá
1	Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật	2		
2	Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV	1		
3	Số lần tự làm	1		

BÀI 10. KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK, CK - MB TRONG HUYẾT THANH

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp đo hoạt độ enzym CK, CK-MB trong huyết thanh

* Kỹ năng

- Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật

- Nhận định và phân tích được kết quả của xét nghiệm đo hoạt độ enzym CK, CK, CK-MB trong huyết thanh

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

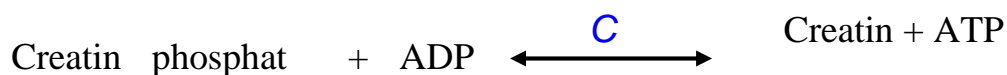
- Thận trọng, tỉ mỉ, tự chịu trách nhiệm với kết quả khi thực hiện kỹ thuật

- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Đo hoạt độ CK huyết thanh

1.1. Nguyên tắc



Hoạt độ enzym CK tỷ lệ thuận với sự tăng mật độ quang học của NADPH đo ở bước sóng 340nm theo thời gian

1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

Ống nghiệm nhỏ

Pipet chia độ, pipet tự động

Cuvet

Máy quang phổ

1.2.2. Hoá chất

- Thuốc thử đo hoạt độ CK huyết thanh (R1, R2)

- Thuốc thử bền vững trong thời hạn sử dụng khi được bảo quản ở 2 đến 8 độ C. Sau khi đưa ra sử dụng, thuốc thử bền vững trong vòng 10 ngày ở 2 đến 8 độ C và trong vòng 32 giờ ở 15-25 độ C

- Bệnh phẩm: Huyết thanh hoặc huyết tương được chống đông bằng Heparin hoặc EDTA. Hoạt độ của enzym sẽ giảm 2% trong vòng 7 ngày khi để ở 4 độ C hoặc trong vòng 24h ở 25 độ C. Không nhất thiết bệnh nhân cần phải nhịn ăn trước khi lấy máu.

1.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (4R1:1R2)
5	Hút 1000µl thuốc thử làm việc
6	Hút 40µl huyết thanh
7	Lắc đều các ống nghiệm
8	Ủ ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang
10	Tính toán kết quả
11	Nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

1.4. Ý nghĩa lâm sàng

Giá trị CK bình thường trong huyết tương phụ thuộc vào giới tính:

- Nam: 38-174 U/L ở 37oC.
- Nữ: 26-140 U/L ở 37oC.
- Hoạt độ CK – MB: < 25 U/L.
- Tỷ số CK-MB/CK = 2,5 – 3 %.

Khi chỉ số CK tăng, bác sỹ có thể chỉ định thêm các xét nghiệm, dựa vào triệu chứng lâm sàng mà chẩn đoán bệnh nhân có thể mắc các bệnh:

- Cơ tim tổn thương: Do viêm màng ngoài tim, nhồi máu cơ tim, viêm cơ tim, viêm màng trong tim, tổn thương cơ tim cấp.
- Bệnh lý ngoài tim: suy thận, suy giáp cấp, Bệnh nhược cơ, Thở dục quá sức, bệnh ác tính, lạm dụng rượu...

- Do chấn thương, thiếu máu cục bộ cơ tim.

1.5. Các bước cần lưu ý

- Mẫu máu bị vỡ hồng cầu: Tránh vỡ hồng cầu, mẫu bị huyết tán cần được loại bỏ và lấy mẫu máu khác

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

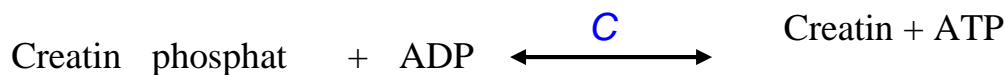
1.5. Tổ chức thực hiện

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật

- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

2. Đo hoạt độ CK- MB huyết thanh

2.1. Nguyên tắc



Hoạt độ enzym CK-MB tỷ lệ thuận với sự tăng mật độ quang học của NADPH đo ở bước sóng 340nm theo thời gian

2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

Ống nghiệm nhỏ

Pipet chia độ, pipet tự động

Cuvet

Máy quang phổ

2.2.2. Hoá chất

- Thuốc thử đo hoạt độ CK-MB huyết thanh (R1, R2)

- Thuốc thử bền vững trong thời hạn sử dụng khi được bảo quản ở 2 đến 8 độ C. Sau khi đưa ra sử dụng, thuốc thử bền vững trong vòng 10 ngày ở 2 đến 8 độ C và trong vòng 32 giờ ở 15-25 độ C

* Bệnh phẩm:

Huyết thanh hoặc huyết tương được chống đông bằng Heparin hoặc EDTA. Hoạt độ của enzym sẽ giảm 2% trong vòng 7 ngày khi để ở 4 độ C hoặc trong vòng 24h ở 25 độ C.

Không nhất thiết bệnh nhân cần phải nhịn ăn trước khi lấy máu.

2.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK -MB (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (4R1:1R2)
5	Hút 1000 μ l thuốc thử làm việc
6	Hút 40 μ l huyết thanh
7	Lắc đều các ống nghiệm
8	Ủ ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang
10	Tính toán kết quả
11	Nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

2.4. Các bước cần lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 20 mg/dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

3. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật

- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

4. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ
KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 4 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất	2			

5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử	2			
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 40 μ l huyết thanh vào ống thử	2			
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.				
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút	2			
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ CK = 6232 x Δ A /phút	2			
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng			/38			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ
KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ CK-MB TRONG HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK-MB (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 4 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất	2			
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử	2			

6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 50µl huyết thanh vào ống thử	2			
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.				
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút	2			
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ CK - MB = 3500 x ΔA /phút	2			
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng			/38			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

5. Các phụ lục kèm theo

5.1. Quy trình kỹ thuật

**QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK TRONG HUYẾT
THANH**

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 4 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất

5	Hút thuốc thử làm việc	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử
6	Hút huyết thanh	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 40 μ l huyết thanh vào ống thử
7	Lắc đều các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
8	Ủ ống thử	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C trong thời gian 03 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	Để tính mật quang trung bình	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút
10	Tính toán kết quả	Để có được giá trị của hoạt độ emzym CK (U/L).	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ CK = 6232 x Δ A /phút
11	Nhận định kết quả	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau - Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế và cộng đồng	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK-MB TRONG HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
-----	--------------------	---------	---------------------

1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK-MB (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 4 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
5	Hút thuốc thử làm việc	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử

6	Hút huyết thanh	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 50 μ l huyết thanh vào ống thử
7	Lắc đều các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
8	Ủ ống thử	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C trong thời gian 03 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	Để tính mật quang trung bình	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút
10	Tính toán kết quả	Để có được giá trị của hoạt độ emzym CK – MB (U/L).	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ CK - MB = 3500 x ΔA /phút
11	Nhận định kết quả	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau - Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế và cộng đồng	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

5.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK TRONG HUYẾT THANH

			ĐÁNH GIÁ
--	--	--	-----------------

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử CK (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật		
5	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
6	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 4 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử		
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 40 μ l huyết thanh vào ống thử		
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		

8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.		
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút		
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ CK = 6232 x Δ A /phút		
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM CK - MB TRONG HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử		

	<p>động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử CK - MB (R1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 4 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử		
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 50 μ l huyết thanh vào ống thử		
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.		
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	<p>- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm</p> <p>- Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút</p>		
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ CK - MB = 3500 x Δ A /phút		

11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

5.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu đạt	Kết quả thực hiện	Xác nhận của người đánh giá
1	Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật	2		
2	Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV	1		
3	Số lần tự làm	1		

BÀI 11. KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM AST, ALT TRONG HUYẾT THANH

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp đo hoạt độ enzym AST, ALT trong huyết thanh

* Kỹ năng

- Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật

- Nhận định và phân tích được kết quả của xét nghiệm đo hoạt độ enzym AST, ALT trong huyết thanh

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

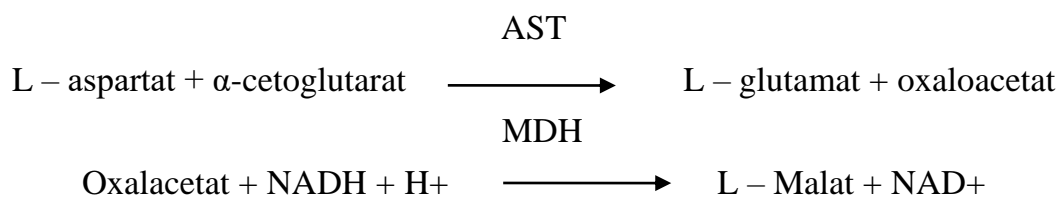
- Thận trọng, tỉ mỉ, tự chịu trách nhiệm với kết quả công việc của cá nhân và của nhóm.

- Thể hiện sự cẩn thận, chính xác khi thực hiện kỹ thuật

NỘI DUNG

1. Đo hoạt độ enzym AST huyết thanh

1.1. Nguyên tắc



Hoạt độ enzym AST tỷ lệ thuận với độ giảm độ hấp thụ quang của NADH ở bước sóng 340 nm.

1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

Ống nghiệm nhỏ

Pipet chia độ, pipet tự động

Cuvet

Máy quang phổ

1.2.2. Hoá chất

R1: tris – puffer (pH 7,8) 80 mmol/l

L – aspartat 240 mmol/l

(MDH malatdehydrogenase) \geq 1200 U/l

R2: α -cetoglutarat 15 mmol/l

NADH 0,18 mmol/l

Pha thuốc thử theo tỷ lệ: trộn R1 + R2 = 5+1

Thuốc thử bền vững trong 1 tháng ở 2-8 độ C và bền vững trong 1 tuần ở 18-25 độ C

Chất liệu: huyết thanh hoặc huyết tương được chống đông bằng EDTA hoặc heparin.

1.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử AST (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (2R1:1R2)
5	Hút 1000µl thuốc thử làm việc
7	Hút 100µl huyết thanh
6	Lắc đều các ống nghiệm
8	Ủ ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 01 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang
10	Tính toán kết quả
11	Nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

1.4. Các bước cần lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

- Khi thấy kết quả AST bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đo cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

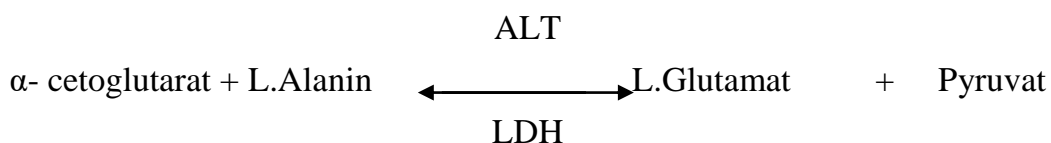
- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu máu bị vỡ hồng cầu
 + Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ ST là: cetaminophen, allopurinol, một số loại kháng sinh, acid ascorbic, chlpropamid, cholestyramin, cholinergic, clofibrat, codein, statin, hydralazin, isoniazid, meperidin, methyl dopa, morphin, thuốc ngừa thai uống, phenothiazin, procainamid, pyridoxin, salicylat, sulfonamid, verapamil, vitamin A.

+ Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ ST là; metronidazol, trifluoperazin.

2. Đo hoạt độ enzym ALT huyết thanh

2.1. Nguyên tắc



Phản ứng làm giảm nồng độ của NADH để tạo thành NAD⁺, nên có thể đo hoạt độ của ALT bằng độ giảm hấp thụ quang của NADH ở bước sóng 340nm theo thời gian

2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

Ống nghiệm nhỏ
 Pipet chia độ, pipet tự động
 Cuvet
 Máy quang phổ

2.2.2. Hoá chất

- Thuốc thử: sử dụng kit pha sẵn

Lọ 1: Đệm và cơ chất 30lọ x 3mL

Lọ 1a: Enzym/Coenzym/ α -cetoglutarat: 30 viên

Pha thuốc thử làm việc R1: Hoà tan 1 viên thuốc thử lấy từ lọ 1a vào dung dịch chứa trong lọ 1 rồi đặt vào nhiệt độ thí nghiệm. Thuốc thử ổn định trong 3 ngày ở nhiệt độ 2^oC -8^oC, 10h ở nhiệt độ 15^oC - 25^oC

- Bệnh phẩm: huyết thanh, huyết tương chống đông bằng heparin.

2.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.

	+ Thuốc thử: Thuốc thử ALT (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (2R1:1R2)
5	Hút 1000µl thuốc thử làm việc
6	Hút 100µl huyết thanh
7	Lắc đều các ống nghiệm
8	Ủ ống thử ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang
10	Tính toán kết quả
11	Nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

2.4. Các bước cần lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.

3. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật
- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

4. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM AST HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.				

	1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử AST (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	+ Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 2 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất	2			
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000µl thuốc thử làm việc vào ống thử	2			
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 100µl huyết thanh vào ống thử	2			
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.				
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm	2			

		- Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút				
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ AST = 2000 x ΔA /phút	2			
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng						/38

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM ALT HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng,				

		móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	<p>Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm</p> <p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử ALT (R1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>- Dụng cụ, máy móc</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.</p> <p>+ Đánh dấu ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 2 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử	2			
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 100 μ l huyết thanh vào ống thử	2			
7	Lắc đều ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất	2			

8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.				
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút	2			
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ ALT = 2200 x ΔA /phút	2			
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng			/38			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

5. Các phụ lục kèm theo

5.1. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM AST TRONG HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
-----	--------------------	---------	---------------------

1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử AST (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc (2R1:1R2)	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 2 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
5	Hút 1000 μ l thuốc thử làm việc	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử

7	Hút 100µl huyết thanh	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 100µl huyết thanh vào ống thử
6	Lắc đều các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
8	Ủ ống thử ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	Để tính mật quang trung bình	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút
10	Tính toán kết quả	Để có được giá trị của hoạt độ enzym AST (U/L).	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ AST = 2000 x ΔA /phút
11	Nhận định kết quả	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau - Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế và cộng đồng	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM ALT HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)

2	<p>Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm</p> <p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử ALT (R1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	Thuận tiện cho quá trình thao tác	<p>- Dụng cụ, máy móc</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.</p> <p>+ Đánh dấu ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc (2R1:1R2)	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 2 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
5	Hút 1000 μ l thuốc thử làm việc	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử
6	Hút 100 μ l huyết thanh	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Hút đúng, đủ 100 μ l huyết thanh vào ống thử
7	Lắc đều các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với huyết thanh	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất

8	Ủ ống thử ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 01 phút.
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	Để tính mật quang trung bình	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút
10	Tính toán kết quả	Để có được giá trị của hoạt độ emzym ALT (U/L).	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ ALT = 2200 x ΔA /phút
11	Nhận định kết quả	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau - Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế và cộng đồng	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

5.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM AST TRONG HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ		

	<p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử AST (R1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>+ Dụng cụ đảm bảo sạch, không nút vỡ.</p> <p>+ Đánh dấu ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 2 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử		
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 100 μ l huyết thanh vào ống thử		
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 01 phút.		
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	<p>- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm</p> <p>- Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút</p>		

10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ AST = $2000 \times \Delta A / \text{phút}$		
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ENZYM ALT HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử ALT (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng		

		- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 2 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ 1000 μ l thuốc thử làm việc vào ống thử		
6	Hút huyết thanh	Hút đúng, đủ 100 μ l huyết thanh vào ống thử		
7	Lắc đều các ống nghiệm	Lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
8	Ủ ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 01 phút.		
9	Đo mẫu trên máy BTS 350 và đọc độ hấp thụ quang	- Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 340nm - Đọc chính xác độ hấp thụ quang tại các thời điểm 1, 2, 3 phút		
10	Tính toán kết quả	Kết quả được tính toán chính xác: Hoạt độ ALT = 2200 x Δ A /phút		
11	Nhận định kết quả	Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		

13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		
----	-------------	-----------------------------------	--	--

5.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu đạt	Kết quả thực hiện	Xác nhận của người đánh giá
1	Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật	2		
2	Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV	1		
3	Số lần tự làm	1		

BÀI 12. KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN, BILIRUBIN TRỰC TIẾP HUYẾT THANH

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc định lượng bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp huyết thanh

* Kỹ năng

- Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật
- Nhận định và phân tích được kết quả của xét nghiệm định lượng bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp huyết thanh

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm
- Thể hiện sự cẩn thận, chính xác khi thực hiện kỹ thuật

NỘI DUNG

1. Định lượng bilirubin toàn phần huyết thanh

1.1. Nguyên tắc

Bilirubin là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin. Xét nghiệm bilirubin thường được chỉ định trong bệnh về gan, máu, tắc mật, vàng da...

BIL.T trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu, theo phản ứng:

Acid 88 Bilirubin + diazonium ion => azobilirubin

Trong môi trường acid Bilirubin tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp zobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ BIL.T có trong mẫu thử được đo ở bước sóng 546 nm.

1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

- Cuvet
- Ống nghiệm nhỏ
- Pipet bán tự động
- Đầu cân

1.2.2. Hoá chất

- + Caffein 50g
- + Natri benzoate 75g
- + Natri acetate 125g
- + Nước cất vừa đủ 1000mL

- Thuốc thử diazo: Gồm dung dịch acid sulfanilic và natrinitrit

- + Dung dịch acid sulfanilic
 - Acid sulfanilic 1g
 - Acid clohydric đậm đặc 15mL
 - Nước cất vừa đủ 1000mL
- Lắc cho tan hết, rồi lọc lấy dịch trong
- + Dung dịch natrinitrit 0,5% trong nước. Pha khi dùng.
- Thuốc thử Tatrát

1.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin total (RT1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (5RT1:1R2)
5	Hút 1000 μ l thuốc thử làm việc đã pha vào ống chuẩn và ống thử
6	Hút 75 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 75 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử
9	Ủ ống chuẩn và ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350
11	Đọc, nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

1.4. Các bước lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả.
- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 70 mg/dL hay 1197 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

2. Định lượng bilirubin trực tiếp huyết thanh

2.1. Nguyên tắc

BIL.D trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu. Bilirubin + diazonium ion => Azobilirubin

Trong môi trường nước, Bilirubin trực tiếp tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ Bilirubin trực tiếp có trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 546 nm.

2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

- Cuvet
- Ống nghiệm nhỏ
- Pipet bán tự động
- Đầu côn

2.2.2. Hóa chất

- Thuốc thử bilirubin trực tiếp (RD1, R2)
- Mẫu bệnh phẩm: huyết thanh/ huyết tương chống đông bằng heparin

2.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin trực tiếp (RD1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (5RD1:1R2)
5	Hút 1000µl thuốc thử vào các ống nghiệm
6	Hút 75 µl dung dịch chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 75µl huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử
9	Ủ ống chuẩn và ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350

11	Đọc, nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

2.4. Các bước lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả
- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm cần điều chỉnh $\pm 10\%$ khi huyết thanh vàng. Huyết thanh đục do tăng lipid máu hay tán huyết đều ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm.

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

3. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật
- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

4. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				

2	<p>Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm</p> <p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin total (RT1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>- Dụng cụ, máy móc</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.</p> <p>+ Đánh dấu ống chuẩn, ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 5 thể tích thuốc thử RT1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất	2			
5	Hút thuốc thử làm việc đã pha vào ống chuẩn và ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử làm việc đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử	2			

6	Hút dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 µl dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	2			
7	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75µl huyết thanh vào ống thử	2			
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất				
9	Ủ ống chuẩn và ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.				
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	- Chọn chính xác kênh đo bilirubin toàn phần - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 546nm	2			
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng				/38		

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ
KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TRỰC TIẾP HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin trực tiếp (RD1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 5 thể tích thuốc thử	2			

		RD1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất				
5	Hút thuốc thử vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000µl thuốc thử đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử	2			
6	Hút dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 µl dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	2			
7	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75µl huyết thanh vào ống thử	2			
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất				
9	Ủ ống chuẩn và ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 03 phút.				
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	- Chọn chính xác kênh đo bilirubin trực tiếp - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 546nm	2			
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				

Tổng	/38
-------------	------------

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

5. Các phụ lục kèm theo

5.1. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá đỡ pipet bán tự động, giá đỡ ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin total (RT1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật

3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc (5RT1:1R2)	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 5 thể tích thuốc thử RT1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
5	Hút 1000 μ l thuốc thử làm việc đã pha vào ống chuẩn và ống thử	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử làm việc đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử
6	Hút 75 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 75 μ l huyết thanh vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Để trộn đều dung dịch	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất
9	Ủ ống chuẩn và ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	Đo mật độ quang của ống chuẩn và ống thử	- Chọn chính xác kênh đo bilirubin toàn phần - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 546nm
11	Đọc, nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường

12	<ul style="list-style-type: none"> - Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh 	Đảm bảo an toàn sinh học	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TRỰC TIẾP TRONG HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	<p>Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc</p> <p>Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	<p>Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm</p> <p>+ Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin trực tiếp (RD1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	Thuận tiện cho quá trình thao tác	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được

			sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc (5RD1:1R2)	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 5 thể tích thuốc thử RD1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
5	Hút 1000 μ l thuốc thử vào các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử
6	Hút 75 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 75 μ l huyết thanh vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 μ l huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Để trộn đều dung dịch	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất
9	Ủ ống chuẩn và ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	Đo mật độ quang của ống chuẩn và ống thử	- Chọn chính xác kênh đo bilirubin trực tiếp - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 546nm
11	Đọc, nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Đọc chính xác kết quả

			- Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

5.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin total (RT1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng		

		- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 5 thể tích thuốc thử RT1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử làm việc đã pha vào ống chuẩn và ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000µl thuốc thử thuốc thử làm việc đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử		
6	Hút dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 µl dung dịch chuẩn vào ống chuẩn		
7	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75µl huyết thanh vào ống thử		
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất		
9	Ủ ống chuẩn và ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.		
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	- Chọn chính xác kênh đo bilirubin toàn phần - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 546nm		
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí		

	- Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TRỰC TIẾP TRONG HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử bilirubin trực tiếp (RD1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		

4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 5 thể tích thuốc thử RD1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử		
6	Hút dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn		
7	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 75 μ l huyết thanh vào ống thử		
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất		
9	Ủ ống chuẩn và ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 03 phút.		
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	- Chọn chính xác kênh đo bilirubin trực tiếp - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 546nm		
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

5.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu đạt	Kết quả thực hiện	Xác nhận của người đánh giá
1	Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật	2		
2	Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV	1		
3	Số lần tự làm	1		

BÀI 13. KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATININ, URE HUYẾT THANH

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc kỹ thuật định lượng creatinin, ure huyết thanh

* Kỹ năng

- Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật

Nhận định và phân tích được kết quả của xét nghiệm creatinin, ure huyết thanh

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thể hiện sự cẩn thận, chính xác và trung thực khi thực hiện kỹ thuật

- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm

NỘI DUNG

1. Định lượng creatinin huyết thanh

1.1. Nguyên tắc

Creatinin trong dung dịch picrat kiềm tạo phức hợp màu đỏ da cam. Mật độ quang tỷ lệ thuận với nồng độ creatinin



1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

- Cuvet
- Ống nghiệm nhỏ
- Pipet bán tự động
- Đầu côn

1.2.2. Hóa chất

- Thuốc thử R1: dung dịch NaOH 0,16 mol/L
- Thuốc thử R2: dung dịch acid picric 4 mmol/L
- Dung dịch chuẩn 2mg/dL (177 μmol/L)
- Bệnh phẩm
- + Huyết thanh hoặc huyết tương

1.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.

	+ Thuốc thử: Thuốc thử creatinin (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Pha thuốc thử làm việc (1R1:1R2)
5	Hút 1000µl thuốc thử vào các ống nghiệm
6	Hút 100 µl dung dịch chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 100µl huyết thanh vào ống thử
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử
9	Ủ ống chuẩn và ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 30 giây.
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350
11	Đọc, nhận định kết quả
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
13	Lưu kết quả

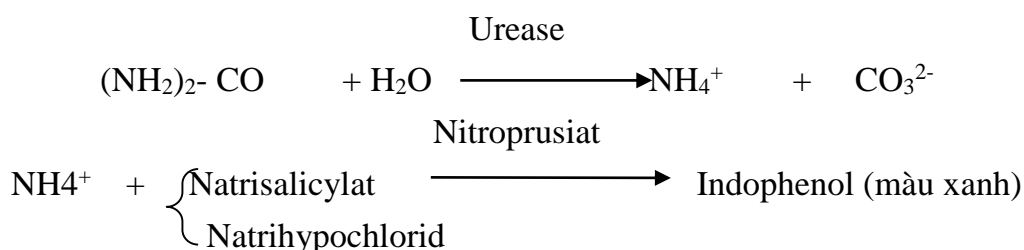
1.4. Các bước lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả

2. Định lượng ure huyết thanh

2.1. Nguyên tắc

Ure dưới tác dụng của enzyme urease phân huỷ thành amoni và CO₂. Amoni mới sinh sẽ tác dụng với natri salicylat và natrihypochlorid với sự có mặt của nitroprusiat sẽ tạo phức hợp màu xanh (Indophenol)



Đậm độ màu tỷ lệ thuận với lượng ure, phức hợp màu có phổ hấp thụ cực đại ở bước sóng 580nm

2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

- Cuvet
- Ống nghiệm nhỏ
- Pipet bán tự động
- Đầu côn

2.2.2. Hóa chất

Lọ 1

- Đệm phosphate 120mmol/L
- Na-salicylat 60mmol/L
- Na- nitroprusiat 5mmol/L
- EDTA 1mmol/L

Lọ 2

- Đệm phosphat 120mmol/L
- NaOH 60mmol/L
- Na-hypochlorid 10mmol/L

Lọ 3

Enzym urease $\geq 500\text{U/L}$ + lọ chuẩn nồng độ ure 13,3 mmol/L

- Pha lọ 1 và 2 bằng nước cất, pha lọ thuốc thử 1 với lọ 3 được lọ 1a.

2.3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μl ; 100-1000 μl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử ure (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin
3	Kiểm tra đôi chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm
4	Hút 1500 μl thuốc thử R1 vào ống thử
5	Hút 20 μl huyết thanh vào ống thử
6	Lắc và ủ lần 1 thời gian 1 phút
7	Hút 500 μl thuốc thử R2 vào ống nghiệm.
8	Lắc và ủ lần 2 thời gian 30 giây
9	Đo mẫu trên máy BTS350
10	Đọc, nhận định kết quả
11	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh
12	Lưu kết quả

2.4. Các bước lưu ý

- Trong quy trình kỹ thuật cần lưu ý hút đúng số thể tích quy định, ủ đúng thời gian tránh nhầm lẫn làm ảnh hưởng đến kết quả

3. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật

- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

4. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATININ HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử creatinin (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				

4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 1 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất	2			
5	Hút thuốc thử vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000µl thuốc thử đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử	2			
6	Hút dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 100 µl dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	2			
7	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 100µl huyết thanh vào ống thử	2			
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất				
9	Ủ ống chuẩn và ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 30 giây.				
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	- Chọn chính xác kênh đo creatinin - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350 ở bước sóng 346nm	2			
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				

13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng			/38			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 38

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG URE HUYẾT THANH

TT	Các bước tiến hành	Tiêu chuẩn	Hệ số	Thang điểm		
				0	1	2
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)				
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử ure (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và				

		thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật				
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm				
4	Hút thuốc thử R1 vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1500 µl thuốc thử R1 vào ống thử	2			
5	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 20 µl dung dịch huyết thanh vào ống thử	2			
6	Lắc và ủ lần 1	- Lắc đến khi dung dịch đồng nhất - Ủ mẫu đảm bảo thời gian 1 phút				
7	Hút thuốc thử R2 vào ống nghiệm.	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 500 µl thuốc thử R2 vào ống thử	2			
8	Lắc và ủ lần 2	- Lắc đến khi dung dịch đồng nhất - Ủ mẫu thử đảm bảo thời gian 30 giây				
9	Đo mẫu trên máy BTS350	- Chọn chính xác kênh đo ure - Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS 350 ở bước sóng 346nm	2			

10	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường	2			
11	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định				
12	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm				
Tổng			/34			

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 34

Quy định:

Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

5. Các phụ lục kèm theo

5.1. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATININ HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100µl; 100-1000µl); giá	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ.

	<p>đề pipet bán tự động, giá đề ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử creatinin (R1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>		<p>+ Đánh dấu ống chuẩn, ống thử</p> <p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Pha thuốc thử làm việc (1R1:1R2)	Chuẩn bị thuốc thử	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 1 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất
5	Hút 1000 μ l thuốc thử vào các ống nghiệm	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử
6	Hút 100 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 100 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn
7	Hút 100 μ l huyết thanh vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 100 μ l huyết thanh vào ống thử

8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Đề trộn đều dung dịch	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất
9	Ủ ống chuẩn và ống thử ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 30 giây.	Tạo điều kiện để phản ứng xảy ra	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 30 giây.
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	Đo mật độ quang của ống chuẩn và ống thử	- Chọn chính xác kênh đo creatinin - Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS350 ở bước sóng 346nm
11	Đọc, nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG URE TRONG HUYẾT THANH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100μl; 100-1000μl);	Thuận tiện cho quá trình thao tác	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử

	<p>giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.</p> <p>+ Thuốc thử: Thuốc thử ure (R1, R2)</p> <p>+ Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>		<p>+ Máy móc đảm bảo hoạt động tốt</p> <p>- Thuốc thử:</p> <p>+ Chuẩn bị đúng, đầy đủ</p> <p>+ Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất</p> <p>- Mẫu bệnh phẩm:</p> <p>+ Đúng theo chỉ định xét nghiệm</p> <p>+ Đảm bảo chất lượng</p> <p>- Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>
3	Kiểm tra đôi chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Để tiến hành thí nghiệm thuận lợi, đạt kết quả. Tránh nhầm lẫn	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
4	Hút 1500 µl thuốc thử R1 vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1500 µl thuốc thử R1 vào ống thử
5	Hút 20 µl huyết thanh vào ống thử	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 20 µl dung dịch huyết thanh vào ống thử
6	Lắc và ủ lần 1 thời gian 1 phút	Tạo điều kiện thuốc thử phản ứng với cơ chất	- Lắc đến khi dung dịch đồng nhất - Ủ mẫu đảm bảo thời gian 1 phút
7	Hút 500 µl thuốc thử R2 vào ống nghiệm.	Để thuốc thử phản ứng với cơ chất	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 500 µl thuốc thử R2 vào ống thử
8	Lắc và ủ lần 2 thời gian 30 giây	Tạo điều kiện thuốc thử phản ứng với cơ chất	- Lắc đến khi dung dịch đồng nhất - Ủ mẫu thử đảm bảo thời gian 30 giây

9	Đo mẫu trên máy BTS350	Đo giá trị mật độ quang của mẫu thử	- Chọn chính xác kênh đo ure - Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS 350 ở bước sóng 346nm
10	Đọc, nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường
11	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định
12	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm

5.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATININ TRONG HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống chuẩn, ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt		

	<p>nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ. + Thuốc thử: Thuốc thử creatinin (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin</p>	<p>- Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất - Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật</p>		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
4	Pha thuốc thử làm việc	Hút đúng, đủ thể tích thuốc thử: Trộn 1 thể tích thuốc thử R1 với 1 thể tích thuốc thử R2 và lắc đều đến khi dung dịch có màu đồng nhất		
5	Hút thuốc thử vào các ống nghiệm	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1000 μ l thuốc thử đã pha lần lượt vào ống chuẩn và ống thử		
6	Hút dung dịch chuẩn vào ống chuẩn	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 100 μ l dung dịch chuẩn vào ống chuẩn		
7	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 100 μ l huyết thanh vào ống thử		
8	Lắc đều ống chuẩn và ống thử	Lắc đều đến khi dung dịch đồng nhất		
9	Ủ ống chuẩn và ống thử	Đảm bảo các ống nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37 ⁰ C trong thời gian 30 giây.		
10	Đo lần lượt ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350	- Chọn chính xác kênh đo creatinin		

		- Đo độ hấp thụ quang của ống chuẩn và ống thử trên máy BTS 350 ở bước sóng 346nm		
11	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
12	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định - Rửa tay đúng quy định		
13	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG URE HUYẾT THANH

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ và thuốc thử, bệnh phẩm + Dụng cụ, máy móc: Pipet bán tự động (10-100 μ l; 100-1000 μ l); giá để pipet bán tự động, giá để ống nghiệm, ống nghiệm, đầu côn (xanh, vàng), găng tay y tế, máy ly tâm, máy hóa sinh bán tự động BTS350, máy ủ.	- Dụng cụ, máy móc + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Dụng cụ đảm bảo sạch, không nứt vỡ. + Đánh dấu ống thử + Máy móc đảm bảo hoạt động tốt - Thuốc thử: + Chuẩn bị đúng, đầy đủ + Kiểm tra hạn sử dụng, chất lượng của hóa chất		

	+ Thuốc thử: Thuốc thử ure (R1, R2) + Mẫu bệnh phẩm: Máu được chống đông bằng heparin	- Mẫu bệnh phẩm: + Đúng theo chỉ định xét nghiệm + Đảm bảo chất lượng - Dụng cụ, máy móc, thuốc thử, mẫu bệnh phẩm được sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp và thuận tiện cho quá trình thực hiện kỹ thuật		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm	Kiểm tra đầy đủ, chính xác thông tin trên phiếu xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm		
4	Hút thuốc thử R1 vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 1500 µl thuốc thử R1 vào ống thử		
5	Hút huyết thanh vào ống thử	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 20 µl dung dịch huyết thanh vào ống thử		
6	Lắc và ủ lần 1	- Lắc đến khi dung dịch đồng nhất - Ủ mẫu đảm bảo thời gian 1 phút		
7	Hút thuốc thử R2 vào ống nghiệm.	Dùng pipet bán tự động hút chính xác 500 µl thuốc thử R2 vào ống thử		
8	Lắc và ủ lần 2	- Lắc đến khi dung dịch đồng nhất - Ủ mẫu thử đảm bảo thời gian 30 giây		
9	Đo mẫu trên máy BTS350	- Chọn chính xác kênh đo ure - Đo độ hấp thụ quang của ống thử trên máy BTS 350 ở bước sóng 346nm		
10	Đọc, nhận định kết quả	- Đọc chính xác kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường		
11	- Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định		

		- Rửa tay đúng quy định		
12	Lưu kết quả	Kết quả được lưu vào sổ, phần mềm		

5.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu đạt	Kết quả thực hiện	Xác nhận của người đánh giá
1	Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật	2		
2	Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV	1		
3	Số lần tự làm	1		

BÀI 14. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TỔNG PHÂN TÍCH NƯỚC TIỂU

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc chung của máy phân tích nước tiểu tự động
- Trình bày được nguyên tắc phản ứng của từng xét nghiệm riêng biệt trên que thử

* Kỹ năng

- Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật
- Nhận định và phân tích được kết quả xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thận trọng, tỉ mỉ, tự chịu trách nhiệm với kết quả công việc của cá nhân và của nhóm
- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc chung của máy phân tích nước tiểu tự động

Máy phân tích nước tiểu tự động là một máy quang kế khúc xạ được sử dụng để phân tích bán định lượng 10 thông số nước tiểu bằng cách sử dụng thanh nhúng nước tiểu. Các bóng đèn 2 cực (diod) phát ra ánh sáng sử dụng như nguồn sáng và thời gian đo được tối ưu hóa để phản ứng hoá học và sự tạo màu xảy ra trong các vùng phản ứng của thuốc thử.

Đầu đo trong máy chứa 3 bóng đèn có các bước sóng khác nhau. Que thử được đặt ở một vị trí cố định và đầu đo di chuyển trên mỗi miếng đệm thuốc thử, bắt đầu từ vị trí nơi hệ thống quang học bắt đầu hoạt động.

Trong quá trình đo, máy kiểm tra vị trí của thanh thử dưới đầu đo bằng cách thực hiện sự kiểm tra một cách chính xác dòng ánh sáng khúc xạ được đo. Nếu que nhúng được đặt thiếu chính xác dưới đầu đo, máy sẽ thông báo một tín hiệu “lỗi”.

2. Nguyên tắc phản ứng của từng xét nghiệm riêng biệt trên que thử.

2.1. Bạch cầu (*leukocytes*)

Xét nghiệm này để phát hiện sự có mặt của các enzym esterase của các bạch cầu có hạt (granulocyte). Các enzym esterase có tác dụng thuỷ phân ests của indoxyl, sản phẩm sẽ phản ứng với muối diazonium để cho một phức hợp màu tím.

Phản ứng này không bị ảnh hưởng bởi sự có mặt của vi khuẩn, trichomonat, hồng cầu trong nước tiểu

Các chất gây dương tính giả: Formaldehyd, các thuốc có imipenem, meropenem, acid clavulanic

Cường độ màu tăng lên khi bản thân nước tiểu có màu (có mặt bilirubin, nitrofuratoin)

Cường độ màu của phản ứng giảm khi sự bài tiết protein vượt quá 500mg/L, glucose vượt quá 2g/dL, khi sử dụng cephalixin hay gentamycin với các liều hàng ngày cao.

2.2. Bilirubin

Nguyên tắc dựa trên sự kết hợp của bilirubin với muối diazonium sẽ cho màu đỏ.

Dương tính khi que thử lên màu hồng nhạt - đỏ. Các thành phần khác của nước tiểu cho màu vàng khi kết hợp.

2.3. Glucose

Nguyên tắc: Dựa trên phản ứng đặc hiệu của glucoseoxidase/ peroxidase
Xét nghiệm này không bị ảnh hưởng của: tỷ trọng nước tiểu, pH, thể ceton
ảnh hưởng của acid ascorbic đã được loại trừ một cách hiệu quả để nồng độ glucose 100mg/dL hoặc cao hơn cũng không bị kết quả âm tính giả ngay cả khi nồng độ acid ascorbic cao hơn.

2.4. Hồng cầu

Nguyên tắc: Hemoglobin và myoglobin xúc tác cho sự oxy hoá chất chỉ thị là hydroperoxid hữu cơ chứa trong que thử.

Các giá trị được in ra thể hiện số hồng cầu nguyên vẹn. Các giá trị trong khoảng 5-10 hồng cầu/ μL cũng được áp dụng cho số lượng hemoglobin được giải phóng từ 5-10 hồng cầu/ μL . ở các nồng độ 5-10 hồng cầu/ μL và cao hơn, sự tan huyết nhiều có thể dẫn đến các giá trị cao hơn các nồng độ tương ứng của số lượng các hồng cầu nguyên vẹn. Acid ascorbic hầu như không ảnh hưởng đến xét nghiệm này.

2.5. pH nước tiểu

pH nước tiểu làm đổi màu các chất chỉ thị có trên que thử: đỏ methyl, phenolphthalein, xanh bromthylmol

Giá trị pH bình thường ở những người khoẻ mạnh trong khoảng 5-6

2.6. Protein

Nguyên tắc sự thay đổi nồng độ protein phụ thuộc vào một chất chỉ thị về pH
Các chất chỉ thị này nhạy với albumin, quinin, quinidin, chloroquin, tolbutamid và sự tăng pH (đến 9) không ảnh hưởng đến xét nghiệm này

Dương tính giả có thể gặp sau khi tiêm truyền polyvinylpyrrolidon (chất thay thế máu) hoặc khi lọ đựng nước tiểu có chứa chlorhexidin hoặc chứa các vết của các chất tẩy có các nhóm amoni bậc 4.

2.7. Thể ceton

Dựa trên nguyên tắc của phản ứng Legal và có độ nhạy với acetoacetic hơn là acetone. Các chất phenylceton và phtalein tạo nên màu đỏ trên que thử, khác so với màu tím tạo nên bởi thể ceton, điều này có thể dẫn đến kết quả dương tính giả.

Các chất captopril, mesna (muối natri của acid 2-mercaptoethanesulphonic) và các chất chứa các nhóm sulfhydryl có thể gây nên dương tính giả.

2.8. Nitrit

Dựa trên nguyên tắc của xét nghiệm của Griess đặc hiệu với nitrit. Phản ứng đặc hiệu với nitrit, vì vậy có thể phát hiện gián tiếp các vi khuẩn tạo nên nitrit có trong nước tiểu bằng sự đổi màu từ hồng nhạt đến đỏ của que thử.

2.9 Tỷ trọng nước tiểu

Phản ánh nồng độ ion trong nước tiểu và tương quan chặt chẽ với phương pháp đo khúc xạ.

Với sự có mặt của cation, các proton sẽ được giải phóng bởi một thuốc thử hỗn hợp, tạo nên sự thay đổi màu của chất chỉ thị bromthymol có màu xanh da trời sang màu xanh lá rồi sang vàng.

Sự có mặt của protein nồng độ 100-500mg/dL hoặc các cetoacid, tỷ trọng nước tiểu có xu hướng tăng. Sự tăng tỷ trọng do nồng độ glucose > 1000mg/dL (>56mmol/l) không được thể hiện ở xét nghiệm này.

2. 10. Urobilinogen

Dựa trên nguyên tắc muối diazonium phản ứng tức thì với urobilinogen tạo nên chất màu azo màu đỏ.

Xét nghiệm này đặc hiệu với urobilinogen, không bị ảnh hưởng bởi những yếu tố nhiễu. Sẽ không có màu hay màu nhạt hơn màu của nồng độ uobilinogen là 1mg/Dl (17 μ mol/L) thấy trong những mẫu bình thường.

3. Sơ đồ khối của máy phân tích nước tiểu tự động

Máy phân tích nước tiểu tự động





4. Cách sử dụng máy

Chuẩn máy

Bật công tắc, màn hình hiện chữ “ready< start>“, đèn báo hiệu màu đỏ, ấn phím “calibrate“

Màn hình hiện chữ“ insert cal strip“, đèn báo hiệu màu xanh lá, đưa thanh chuẩn vào

Khi màn hình hiện chữ “ press<calibr>“, đèn báo hiệu màu xanh lá, lại ấn phím “calibrate“

Khi màn hình hiện chữ “ calibrating“, đèn báo hiệu màu đỏ, chờ 1 phút, máy sẽ in kết quả chuẩn máy. Nếu quá trình chuẩn máy tốt, các giá trị của độ phản quang sẽ thể hiện bằng giá trị %. Nếu quá trình chuẩn máy sai, màn hình sẽ hiện chữ “ Cal.Err.*“, phải thực hiện lại quá trình chuẩn máy bằng thanh chuẩn mới.

Đo mẫu nước tiểu

Mẫu bệnh phẩm tươi, không ly tâm. Trộn kỹ mẫu nước tiểu, không để mẫu đứng yên quá 2h trước khi đo.

❖ Cách đo bình thường (normal mode): cách này đo mỗi mẫu hết 36s

1. Màn hình hiện chữ “ ready<start>“ thể hiện máy đang ở chế độ bình thường, đèn báo hiệu màu đỏ, ấn nút “ Start“, một tiếng “ Bíp“ rồi màn hình hiện chữ “ Prepare strip“, lấy một que thử ra khỏi hộp.

2. Sau khoảng 4s, một tiếng“ bíp“ thứ 2 xuất hiện, màn hình hiện chữ “ dip strip 1“, đèn báo hiệu màu xanh lá nhấp nháy, nhúng sâu que thử vào mẫu nước tiểu 1 (tối đa 1s). Khi rút ra chú ý gạt nước tiểu thừa bên mép que thử.

3. Khi màn hình hiện chữ “insert strip 1“, đèn báo hiệu xanh, đặt que thử vào máy.

4. Sau khoảng 20s, que thử được máy chuyển vào vị trí đo, màn hình hiện chữ “ please wait“, đèn báo hiệu màu đỏ, đầu đo di chuyển qua và kiểm tra que thử nếu que thử nằm

đúng vị trí đo. Sau đó màn hình hiện chữ “ dip strip 2“, tiếp tục lặp lại quá trình này để đo các mẫu nước tiểu khác.

5. Que thử thứ nhất được đo trong khoảng 60s sau khi được nhúng vào nước tiểu. Khi việc đo mỗi que thử được hoàn thành, các kết quả sẽ được tự động in ra. Máy sẽ tự động kiểm tra sự có mặt của thanh thử ở vị trí đo, nếu không có thanh thử, máy sẽ tự động trở lại vị trí ban đầu với chữ “ready< start>“.

❖ Cách đo nhanh: Máy ở cách đo thường khi chữ “ ready<start>“ xuất hiện, ấn phím “ set“ để đo nhanh, màn hình sẽ chuyển sang chữ “ fast mode <start>“. Sau đó tiến hành đo như sau:

1. ấn nút “ Start“, một tiếng “ bíp “ xuất hiện và màn hình hiện chữ “ Prepare strip“, lấy một thanh thử ra khỏi hộp.

2. Sau khoảng 4s một tiếng “ bíp “ xuất hiện và màn hình hiện chữ “dip strip 1“, đèn xanh lá nhấp nháy. Nhúng thanh thử 1 vào mẫu nước tiểu rồi rút nhanh ra, không để dính thừa nước tiểu.

3. Khi chữ “ insert strip 1“ xuất hiện, gài thanh thử vào vị trí chờ của máy, đèn xanh vẫn sáng.

4. Sau 12s, một tiếng “ bíp“ sẽ xuất hiện, màn hình hiện chữ “dip strip 2“, và đèn xanh nhấp nháy. Nhúng thanh thử thứ 2 vào mẫu nước tiểu tương ứng và quá trình được thực hiện như ở trên. Thanh thử 1 sau đó được máy chuyển từ vị trí chờ sang vị trí đo. Khi chữ “ insert strip 2“ xuất hiện, gài thanh thử số 2 đã nhúng nước tiểu vào khay bắt kỳ lúc nào khi đèn xanh đang sáng.

5. Màn hình hiện chữ “ please wait“ và đèn bật đỏ. Sau 12s, máy sẽ kêu “ bíp“ và chữ “dip distrip 3“ xuất hiện. Nhúng thanh thử số 3 vào nước tiểu rồi tiến hành như trên.

6. Sau khi đã nhúng thanh thử 6 vào nước vào nước tiểu vào nước tiểu và đặt vào vị trí chờ đo, thanh thử 2 sẽ chuyển từ vị trí chờ đo vào vị trí đo và được đo. Chữ “ dip distrip 7“ lại xuất hiện và đèn xanh lại nhấp nháy.

7. Sau khoảng 4s, chữ “insert strip 3“ xuất hiện, cài thanh thử thứ 3 vào khay của máy khi đèn xanh sáng.

8. Sau đó cứ theo các mệnh lệnh trên màn hình và tiếng “ bíp“ để nhúng một thanh thử mới và gài vào khay khi đèn xanh bật sáng.

9. Sau khi các mẫu nước tiểu được đo, các số liệu sẽ được tự động in ra. Việc in có thể được dừng lại bằng cách bấm vào nút < start > hoặc được tiếp tục bằng cách ấn vào nút < reprint/ send>, hoặc ấn nút < start > để ra khỏi chương trình in.

10. Khi không còn thanh thử nào được đo nữa, cách đo nhanh sẽ bị đứt quãng, với sự xuất hiện dòng chữ < empty waste tray>. Muốn đo nữa phải lặp lại quá trình như trên.

5. Đánh giá kết quả

Sau khi thanh thử được tiếp nhận bởi máy phân tích nước tiểu, nó sẽ được đọc bởi tia khúc xạ. Các kết quả sẽ được báo dưới dạng: “neg“ - âm tính, “pos“- dương tính hoặc giá trị nồng độ. Căn cứ vào các kết quả của thông số nước tiểu có thể biết được tình trạng bình thường hay bệnh lý của mẫu nước tiểu.

Chú ý:

- Trong trường hợp không có máy phân tích nước tiểu, cũng có thể xác định các kết quả trên thanh thử sau khi nhúng thanh thử vào nước tiểu cần phân tích bằng mắt thường. Tuy nhiên cũng có trường hợp giữa kết quả mắt thường và máy phân tích khác nhau.

- Do sự hiểu biết về ảnh hưởng của một số thuốc hoặc chất chuyển hoá của chúng trên các xét nghiệm còn chưa được sáng tỏ hoàn toàn, cho nên trong trường hợp nghi ngờ cần phải lặp lại các xét nghiệm sau khi ngừng sử dụng các thuốc đó một thời gian. Ví dụ một lượng lớn acid ascorbic được đào thải theo nước tiểu có thể sự giảm một cách giả tạo hay dẫn đến các kết quả âm tính giả đối với nitrit và bilirubin. Một số thuốc có thể biến thành màu đỏ trong môi trường acid (phenopyryridine) do vậy có thể dẫn đến kết quả dương tính giả hoặc làm biến đổi màu đỏ trên thanh thử đối với nitrit, protein, urobilinogen và bilirubin.

- Các lọ để đựng nước tiểu xét nghiệm phải sạch. Với dụng cụ đựng nước tiểu còn dính một phần chất tẩy rửa là nguyên nhân gây dương tính giả đối với xét nghiệm glucose.

- Không được thêm chất bảo quản vào nước tiểu.

- Không để các mẫu nước tiểu tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời sẽ oxy hoá bilirubin và urobilinogen.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Đình Hồ và Cộng sự (2003), Hóa sinh y học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
2. Nguyễn Nghiêm Luật và Cộng sự (2003), Thực tập hóa sinh, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
3. Nguyễn Nghiêm Luật và Cộng sự (2007), Hóa sinh, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
4. Tạ Thành Văn và CS (2013). Hóa sinh lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
5. Lê Đức Trình (2009), Ý nghĩa lâm sàng của các xét nghiệm Hóa sinh
6. Bộ Y tế (2015), quyết định số 5530/ QĐ-BYT ngày 25/12/2015 quy định về việc hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám chữa bệnh.