

BỘ Y TẾ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: /QĐ-BYT Hà Nội, ngày tháng năm 2026

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ban hành tài liệu chuyên môn
“Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Hóa sinh - Tập 2”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 15/2023/QH15 ngày 09 tháng 01 năm 2023;

Căn cứ Nghị định số 42/2025/NĐ-CP ngày 27 tháng 02 năm 2025 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh;

Căn cứ Quyết định số 620/QĐ-BYT ngày 14 tháng 3 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu hướng dẫn quy trình chuyên môn kỹ thuật về Hóa sinh;

Căn cứ Biên bản họp ngày 07 tháng 8 năm 2025 của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu hướng dẫn quy trình chuyên môn kỹ thuật về Hóa sinh; Công văn số 7360/BM – QLCLKCB ngày 30 tháng 10 năm 2025 của Bệnh viện Bạch Mai về việc dự thảo quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Hóa sinh – Tập 2”, gồm 87 quy trình kỹ thuật (Tài liệu chuyên môn kèm theo).

Điều 2. Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Hóa sinh – Tập 2” được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày 01/7/2026.

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ; Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh; Cục trưởng, Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế; Giám đốc các bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương; Thủ trưởng Y tế các ngành và các cơ quan, đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng;
- BHXHVN - Bộ Tài chính;
- Cổng thông tin điện tử Bộ Y tế;
- Website Cục QLKCB;
- Lưu: VT, KCB.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**

Trần Văn Thuấn



HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT VỀ HÓA SINH - TẬP 2

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BYT ngày tháng năm 2026
của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

Hà Nội, 2026

Chỉ đạo biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Trần Văn Thuấn	Thứ trưởng Bộ Y tế
Chủ biên	
PGS. TS. Đào Xuân Cơ	Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai
TS. BS. Hà Anh Đức	Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
Tham gia biên soạn, thẩm định	
PGS.TS.BS. Phạm Thiện Ngọc	Nguyên Trưởng khoa Hóa sinh BV Bạch Mai, Phó Chủ tịch Hội Hóa sinh Y học Việt Nam, Tổng Thư ký Hội Hóa sinh Y học Việt Nam
TS.BS. Vương Ánh Dương	Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
TS.BS. Dương Huy Lương	Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
TS.BS. Đào Huyền Quyên	Phó viện trưởng Viện Xét nghiệm Y học, Trưởng khoa Hóa sinh, Bệnh viện Bạch Mai
PGS.TS.BS. Nguyễn Tuấn Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai
TS. Nguyễn Văn Chi	Phó Cục trưởng, Cục Bà mẹ và Trẻ em
TS. Lê Thị Hương Lan	Phó Giám đốc phụ trách khối cận lâm sàng, Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên
TS. Tôn Thất Ngọc	Trưởng khoa Hoá sinh, Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế
TS.BS. Trần Thành Vinh	Trưởng khoa Sinh hóa, Bệnh viện Chợ Rẫy
TS. Quách Xuân Hình	PT. Chủ nhiệm khoa Sinh Hóa, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
PGS.TS.BS. Nguyễn Thị Băng Sương	Trưởng khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y – Dược thành phố Hồ Chí Minh
PGS.TS. Phạm Văn Trân	Trưởng khoa Hóa sinh, Bệnh viện Quân y 103
BSCCKII. Phạm Thị Thanh Thủy	Trưởng khoa Hoá sinh, Bệnh viện Phụ sản Trung ương
TS.BS. Đỗ Thị Mai Dung	Phó trưởng khoa Sinh hóa – Huyết học, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức
TS.BS. Điều Thị Thuý Chuyên	Trưởng khoa Sinh hóa – Miễn dịch, Bệnh viện K
PGS.TS.BS. Nguyễn Quang Tùng	Phó Viện trưởng, Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương

PGS.TS. Nguyễn Gia Bình	Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Time City
TS. Trịnh Thị Quế	Giám đốc Trung tâm xét nghiệm MEDLATEC Việt Nam
ThS.BS. Lương Quỳnh Hoa	Trưởng khoa Hoá sinh, Bệnh viện Nội tiết Trung ương
ThS. Nguyễn Anh Dũng	Trưởng khoa Hóa sinh, Bệnh viện Đa khoa Trung ương Quảng Nam
ThS.BS. Trương Lê Vân Ngọc	Trưởng phòng Nghiệp vụ, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
TS.BS. Trần Ngọc Nghị	Trưởng phòng Phục hồi chức năng và Giám định, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
TS.BS. Trần Thị Chi Mai	Trưởng khoa Hoá sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương
TS.BS. Trần Thị Thu Trang	Phó trưởng khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nhi Trung ương
ThS.BS. Nguyễn Kiều Hoa	Phó trưởng khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
CKI.KTY. Trần Thị Bích Hạnh	Kỹ thuật viên trưởng Khoa Hóa sinh, Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
ThS.BSCKII. Ưông Thị Thu Hương	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.BS. Nguyễn Hoài Nam	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.BS. Trần Văn Chức	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
BS. Vũ Thị Thu Trang	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
BS. Hoàng Minh Tuấn	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.KS. Nguyễn Thị Mỹ Thủy	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.KTY. Đỗ Thị Vân Anh	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.KTY. Nguyễn Tuấn Nghĩa	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai

ThS.KTY. Phùng Thị Thu Phương	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.KTY. Nguyễn Thúy Nga	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.KTY. Nguyễn Thị Duyên	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.KTY. Nguyễn Đức Hiền	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
CN.KTY. Đoàn Thị Nguyệt	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.BSCKII. Nguyễn Thị Mai Phương	Khoa Hóa sinh, Viện Xét nghiệm Y học, Bệnh viện Bạch Mai
ThS.BS. Đào Nguyên Minh	Trưởng phòng Quản lý chất lượng và Chuyển giao kỹ thuật, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh – Thư ký
ThS.BS. Lê Sinh Quân	Phòng Quản lý chất lượng và Chuyển giao kỹ thuật, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh – Thư ký

LỜI NÓI ĐẦU

Bộ Y tế đã xây dựng và ban hành Tài liệu “Hướng dẫn Quy trình chuyên môn kỹ thuật về Hóa sinh – Tập 2”. Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật này là căn cứ để cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh, nhân viên y tế triển khai áp dụng và thực hiện kỹ thuật khám, chữa bệnh.

Trong những năm gần đây, khoa học kỹ thuật trên thế giới và năng lực người thực hiện kỹ thuật đã phát triển và nâng cao; nhằm cập nhật, bổ sung những tiến bộ mới và tiếp tục chuẩn hóa quy trình thực hiện kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh, Bộ Y tế đã giao Bệnh viện Bạch Mai làm đầu mối phối hợp cùng các bệnh viện xây dựng, cập nhật Hướng dẫn Quy trình chuyên môn kỹ thuật Hóa sinh, các bệnh viện được giao nhiệm vụ đã huy động và phân công các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa... biên soạn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật; tổ chức họp hội đồng khoa học trong bệnh viện để nghiệm thu; biên tập, hoàn thiện theo ý kiến của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu do Bộ Y tế thành lập và chịu trách nhiệm về chuyên môn kỹ thuật quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật đều được các thành viên biên soạn rà soát với hướng dẫn hiện hành, tham khảo các tài liệu trong nước, nước ngoài để cập nhật phù hợp với thực tế hiện nay.

Bộ Y tế đã thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các chuyên gia về huyết học trong cả nước. Các thành viên Hội đồng đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật.

Để hoàn thành Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn Quy trình chuyên môn kỹ thuật về Hóa sinh – Tập 2”, Cục Quản lý Khám chữa bệnh - Bộ Y tế trân trọng cảm ơn sự đóng góp công sức, trí tuệ, kinh nghiệm của các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa, chuyên ngành hàng đầu trong lĩnh vực Hóa sinh đã tham gia với vai trò là thành viên Ban biên soạn, thành viên Hội đồng góp ý và nghiệm thu Tài liệu chuyên môn.

Trong quá trình biên soạn, biên tập, in ấn tài liệu, mặc dù Ban Biên soạn đã hết sức cố gắng nhưng khó tránh khỏi hoàn toàn những thiếu sót, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến từ quý độc giả đồng nghiệp để Tài liệu chuyên môn ngày một hoàn thiện hơn. Mọi ý kiến góp ý xin gửi về Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế, 138A, Giảng Võ, Hà Nội.

Trân trọng cảm ơn!

GS. TS. Trần Văn Thuấn
THỦ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH

1. Nguyên tắc xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

- a) Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chương, chuyên ngành bảo đảm đầy đủ các nội dung cơ bản về chỉ định, chống chỉ định, thận trọng, chuẩn bị đến các bước thực hiện kỹ thuật theo trình tự thực hiện từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật;
- b) Thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế... (danh mục và số lượng) được quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật căn cứ trên yêu cầu chuyên môn, tính phổ biến, thường quy thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Trong thực tế triển khai, thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế... (danh mục và số lượng) có thể thay đổi dựa trên cá thể người bệnh, tình trạng bệnh, diễn biến lâm sàng... và điều kiện thực tế hạ tầng, thiết bị, nhân lực của mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- c) Ngoài địa điểm thực hiện kỹ thuật như phòng phẫu thuật (phòng mổ), phòng thực hiện kỹ thuật (phòng thủ thuật), phòng bệnh... được quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, kỹ thuật có thể được thực hiện ở các địa điểm khác theo nguyên tắc:
 - Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng bệnh thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng thực hiện kỹ thuật, phòng phẫu thuật;
 - Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng thực hiện kỹ thuật thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng phẫu thuật;
 - Các kỹ thuật chỉ được phép thực hiện tại các địa điểm khác trong trường hợp cấp cứu theo quy định pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

2. Nguyên tắc áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

- a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được phép áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành và phải có văn bản do người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phê duyệt việc triển khai áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành.
- b) Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì tuân thủ theo nguyên tắc xây dựng. Căn cứ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật tương ứng do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành, Thủ trưởng cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ đạo xây dựng, ban hành, triển khai, áp dụng phù hợp với đơn vị và hoàn toàn trách nhiệm về việc xây dựng, ban hành, triển khai và áp dụng.
- c) Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng cho các kỹ thuật quy định tại Phụ lục số 02 Thông tư số 23/2024/TT-

BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh.

- d) Người thực hiện các kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh là người hành nghề có phạm vi hành nghề phù hợp với kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh, theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh, không bị giới hạn bởi các chức danh nghề nghiệp được liệt kê trong từng quy trình kỹ thuật.
- đ) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ được thực hiện kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh sau khi được cấp có thẩm quyền phê duyệt, cho phép và sử dụng thuốc, thiết bị y tế được cấp phép theo quy định hiện hành.
- e) Trong quá trình triển khai áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, nếu có các bất cập hoặc nhu cầu cần sửa đổi, bổ sung, cập nhật..., các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chủ động cập nhật và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, đồng thời báo cáo, đề xuất Bộ Y tế (Cục Quản lý Khám, chữa bệnh) để xem xét ban hành áp dụng trong cả nước.

PHỤ LỤC DANH MỤC KỸ THUẬT

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 3)
1	9	Bilirubin trực tiếp: mmol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh đo quang)
2	16	Điểm GALAD: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên các chỉ số giới, tuổi, AFP-L3, AFP và PIVKA-II)
3	18	Thymidin kinase: U/L: huyết thanh/ huyết tương: Đo hoạt độ (hóa sinh đo hoạt độ phóng xạ)
4	19	Everolimus: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
5	33	Androstenedione: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
6	77	Acetaminophen: μ mol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
7	79	Renin hoạt hóa (active renin): mIU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
8	80	Acid amin: μ mol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh sắc ký)
9	82	Chì (Pb): μ mol/L: máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)
10	85	Chì (Pb): μ mol/L: nước tiểu: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)
11	115	AFP (alpha-fetoprotein): μ g/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
12	120	Phencyclidine: nmol/L: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)
13	121	Chymotrypsin: μ g/mL: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
14	124	Lipoprotein (a): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
15	133	Fructose: μ mol/lần xuất tinh: tinh dịch: Định lượng (hóa sinh đo quang)
16	153	1,5-AG (1,5-anhydroglucitol): μ mol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)
17	158	Osteocalcin: μ g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
18	167	Cortisol: nmol/L: nước bọt: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 3)
19	168	C1-esterase inhibitor: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
20	169	Ecstasy: µg/L: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)
21	171	MPA (mycophenolic acid): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
22	172	NK cell activity (hoạt tính tế bào NK): ng/L: máu toàn phần: Đo hoạt tính (hóa sinh miễn dịch)
23	173	Normetanephrine: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
24	174	Quinidine: µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
25	175	Selen (Se): µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)
26	177	L-FABP (liver fatty acid-binding protein): µg/L: nước tiểu: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
27	179	Pancreatic elastase: µg/mL: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
28	180	IFAb (anti-intrinsic factor antibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)
29	181	Anti-GAD65 (anti-glutamic acid decarboxylase 65 antibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
30	182	GADA (glutamic acid decarboxylase autoantibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
31	183	IA2A (islet antigen 2 autoantibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
32	185	Calprotectin: µg/g: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
33	186	Immunoglobuline G subclass IgG1/ IgG2/ IgG3/ IgG4: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
34	187	LBP (lipopolysaccharide-binding protein): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
35	190	IL-2R (interleukin-2 receptor): ng/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
36	193	RBP (retinol-binding protein): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
37	194	AFP-L3: %: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 3)
38	204	SAA (serum amyloid A): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
39	212	Hemopexin: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
40	213	Acylcarnitin: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô: Định lượng (sắc ký khối phổ)
41	214	Acid amin và acylcarnitin: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô: Định lượng (sắc ký khối phổ)
42	215	Sàng lọc 4 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào: $\mu\text{mol/L/giờ}$: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)
43	216	Sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào: $\mu\text{mol/L/giờ}$: máu thấm khô: Đo hoạt độ (đo khối phổ)
44	217	HVA (homovanillic acid): $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)
45	218	Steroid: $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)
46	220	BTP (beta-trace protein): mg/L: huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
47	221	IgG kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
48	222	IgG lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
49	223	IgA kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
50	224	IgA lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
51	225	IgM kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
52	226	IgM lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
53	234	Lithium: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (điện cực chọn lọc)
54	235	FFA (acid béo tự do): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)
55	238	Lactat (acid lactic): mmol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh đo quang)
56	261	Alpha-2-macroglobulin: mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
57	265	Lipase: U/L: dịch sinh học: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)
58	268	DPD (deoxypyridinoline): $\mu\text{g/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
59	269	CDT (carbohydrate-deficient transferrin): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 3)
60	270	Pyruvat (acid pyruvic): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)
61	273	Nicotine: nmol/L: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)
62	276	Methadone: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (sắc ký khối phổ)
63	280	LDL-C (low density lipoprotein - cholesterol): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên cholesterol toàn phần, triglycerid và HDL-C huyết thanh hoặc huyết tương)
64	286	β -hCG (beta-human chorionic gonadotropin): IU/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
65	291	Lactat (acid lactic): mmol/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh đo quang)
66	305	VMA (vanillylmandelic acid): $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)
67	306	Acid hữu cơ: mmol/mol creatinin: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)
68	315	HCG (human chorionic gonadotropin): nước tiểu: Định tính (miễn dịch sắc ký)
69	321	Methadone: nước tiểu: Định tính (miễn dịch sắc ký)
70	339	Angiotensin II: pmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
71	340	Lamotrigine: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
72	341	Levetiracetam: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
73	342	Oxcarbazepine: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
74	343	Topiramate: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
75	344	Infliximab: mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
76	348	Biotinidase: nmol/phút/dL: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)
77	349	GALT (galactose-1-phosphat uridyltransferase): U/gHb: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 3)
78	351	IRT (immunoreactive trypsin): $\mu\text{g/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
79	352	Phenylalanin: $\mu\text{mol/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
80	353	Leucin: $\mu\text{mol/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
81	354	TREC (T cell receptor excision circles): copies/ μL : máu thấm khô: Định lượng (PCR và TR-FRET)
82	355	Vitamin B12 hoạt hóa (holotranscobalamin): pmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
83	369	Bicarbonat: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)
84	370	Ecstasy: $\mu\text{g/L}$: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)
85	371	KL-6 (Krebs von den Lungen-6): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)
86	372	Lithium: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)
87	373	Non-HDL-C (non - high density lipoprotein - cholesterol): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên cholesterol toàn phần và HDL-C huyết thanh hoặc huyết tương)

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
1,5-AG	1,5-anhydroglucitol	1,5-anhydroglucitol
ABG	Acid- β -glucocerebrosidase	Acid- β -glucocerebrosidase
ADP	adenosine diphosphate	adenosin diphosphat
AFP	alpha-fetoprotein	alpha-fetoprotein
AFP-L	Alpha-fetoprotein Lens culinaris agglutinin 3	Alpha-fetoprotein Lens culinaris agglutinin 3
Anti-GAD65	anti-glutamic acid decarboxylase 65 antibodies	kháng thể kháng GAD-65
ASM	acid-sphingomyelinase	acid-sphingomyelinase
ATP	adenosine triphosphate	adenosin triphosphat
β -hCG	beta-human chorionic gonadotropin	tiểu đơn vị beta của hormon hướng sinh dục rau thai người
BTP	beta-trace protein	beta-trace protein
CDT	carbohydrate-deficient transferrin	transferrin thiếu hụt carbohydrat
DPD	deoxypyridinoline	deoxypyridinoline
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym
FFA	free fatty acid	acid béo tự do
G6P	glucose-6-phosphate	glucose-6-phosphat
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase	glucose-6-phosphat dehydrogenase
GAA	acid- α -glucosidase	acid- α -glucosidase
GADA	glutamic acid decarboxylase autoantibodies	tự kháng thể kháng glutamic acid decarboxylase
GALC	β -galactocerebrosidase	β -galactocerebrosidase

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
GALT	galactose-1-phosphat uridyltransferase	galactose-1-phosphat uridyltransferase
GC	gas chromatography	sắc ký khí
GLA	α -galactosidase A	α -galactosidase A
HCG	human chorionic gonadotropin	hormon hướng sinh dục rau thai người
HEIA	homogeneous enzymatic immunoassay	xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất
HIS	hospital information system	hệ thống thông tin bệnh viện
HRP	horseradish peroxidase	peroxidase cá ngựa
HVA	homovanillic acid	acid homovanillic
IA2A	islet antigen 2 autoantibodies	tự kháng thể kháng IA2
IDUA	α -L-iduronidase	α -L-iduronidase
IFAb	anti-intrinsic factor antibodies	kháng thể kháng yếu tố nội dạ dày
IL-2R	interleukin-2 receptor	interleukin-2 receptor
IRT	immunoreactive trypsin	immunoreactive trypsin
KL-6	Krebs von den Lungen-6	Krebs von den Lungen-6
LBP	lipopolysaccharide-binding protein	lipopolysaccharide-binding protein
LDL-C	low density lipoprotein - cholesterol	cholesterol gắn lipoprotein tỷ trọng thấp
L-FABP	liver fatty acid-binding protein	liver fatty acid-binding protein
LIS	laboratory information system	hệ thống thông tin phòng xét nghiệm
MPA	mycophenolic acid	acid mycophenolic
MS	mass spectrometry	đo phổ khối
NAD	nicotinamide adenine dinucleotide	nicotinamid adenin dinucleotid
NADH	reduced form of NAD	dạng khử của NAD

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
NADP	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	nicotinamid adenin dinucleotid phosphat
NADPH	reduced form of NADP	dạng khử của NADP
NK cell	natural killer cell	tế bào diệt tự nhiên
PCP	phencyclidine	phencyclidine
Pb	Lead	chì
RBP	retinol-binding protein	protein gắn retinol
SAA	serum amyloid A	serum amyloid A
Se	selenium	selen
TMB	tetramethylbenzidine	tetramethylbenzidine
TREC	T cell receptor excision circles	T cell receptor excision circles
UV	ultraviolet	bước sóng ánh sáng vùng tử ngoại
VMA	vanillylmandelic acid	acid vanillylmandelic

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU	7
NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH.....	8
PHỤ LỤC DANH MỤC KỸ THUẬT	10
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	15
1. Bilirubin trực tiếp: mmol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh đo quang)	22
2. Điểm GALAD: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên các chỉ số giới, tuổi, AFP-L3, AFP và PIVKA-II).....	29
3. Thymidin kinase: U/L: huyết thanh/ huyết tương: Đo hoạt độ (hóa sinh đo hoạt độ phóng xạ)	36
4. Everolimus: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	43
5. Androstenedione: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	50
6. Acetaminophen: μ mol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	57
7. Renin hoạt hóa (active renin): mIU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	64
8. Acid amin: μ mol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh sắc ký).....	71
9. Chì (Pb): μ mol/L: máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử).....	78
10. Chì (Pb): μ mol/L: nước tiểu: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử).....	84
11. AFP (alpha-fetoprotein): μ g/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	91
12. Phencyclidine: nmol/L: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)	98
13. Chymotrypsin: μ g/mL: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	105
14. Lipoprotein (a): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	111
15. Fructose: μ mol/lần xuất tinh: tinh dịch: Định lượng (hóa sinh đo quang).....	118
16. 1,5-AG (1,5-anhydroglucitol): μ mol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)	125
17. Osteocalcin: μ g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	131
18. Cortisol: nmol/L: nước bọt: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	138
19. C1-esterase inhibitor: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	144
20. Ecstasy: μ g/L: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ).....	150
21. MPA (mycophenolic acid): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch) ...	157
22. NK cell activity (hoạt tính tế bào NK): ng/L: máu toàn phần: Đo hoạt tính (hóa sinh miễn dịch)..	164
23. Normetanephrine: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	171

24. Quinidine: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	177
25. Selen (Se): $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)	184
26. L-FABP (liver fatty acid-binding protein): $\mu\text{g/L}$: nước tiểu: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	191
27. Pancreatic elastase: $\mu\text{g/mL}$: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	198
28. IFAb (anti-intrinsic factor antibodies): kU/L : huyết thanh/ huyết tương: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)	205
29. Anti-GAD65 (anti-glutamic acid decarboxylase 65 antibodies): kU/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	212
30. GADA (glutamic acid decarboxylase autoantibodies): kU/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	219
31. IA2A (islet antigen 2 autoantibodies): kU/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	226
32. Calprotectin: $\mu\text{g/g}$: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	233
33. Immunoglobuline G subclass IgG1/ IgG2/ IgG3/ IgG4: g/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	240
34. LBP (lipopolysaccharide-binding protein): mg/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	247
35. IL-2R (interleukin-2 receptor): ng/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	254
36. RBP (retinol-binding protein): mg/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	261
37. AFP-L3: %: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	268
38. SAA (serum amyloid A): mg/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	275
39. Hemopexin: g/L : huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	282
40. Acylcarnitin: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô: Định lượng (sắc ký khối phổ) ...	289
41. Acid amin và acylcarnitin: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô: Định lượng (sắc ký khối phổ).....	297
42. Sàng lọc 4 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào: $\mu\text{mol/L/giờ}$: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)	307
43. Sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào: $\mu\text{mol/L/giờ}$: máu thấm khô: Đo hoạt độ (đo khối phổ)	315
44. HVA (homovanillic acid): $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)	323
45. Steroid: $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)	330
46. BTP (beta-trace protein): mg/L : huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	337
47. IgG kappa: g/L : huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	344

48. IgG lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	351
49. IgA kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	358
50. IgA lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	365
51. IgM kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	372
52. IgM lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	379
53. Lithium: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (điện cực chọn lọc).....	385
54. FFA (acid béo tự do): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)	392
55. Lactat (acid lactic): mmol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh đo quang).....	399
56. Alpha-2-macroglobulin: mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	405
57. Lipase: U/L: dịch sinh học: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)	412
58. DPD (deoxypyridinoline): µg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	419
59. CDT (carbohydrate-deficient transferrin): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	426
60. Pyruvat (acid pyruvic): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)	433
61. Nicotine: nmol/L: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)	440
62. Methadone: µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (sắc ký khối phổ).....	447
63. LDL-C (low density lipoprotein - cholesterol): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên cholesterol toàn phần, triglycerid và HDL-C huyết thanh hoặc huyết tương).....	454
64. β-hCG (beta-human chorionic gonadotropin): IU/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	461
65. Lactat (acid lactic): mmol/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh đo quang)	468
66. VMA (vanillylmandelic acid): µmol/L: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ).....	474
67. Acid hữu cơ: mmol/mol creatinin: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)	480
68. HCG (human chorionic gonadotropin): nước tiểu: Định tính (miễn dịch sắc ký).....	486
69. Methadone: nước tiểu: Định tính (miễn dịch sắc ký)	493
70. Angiotensin II: pmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	500
71. Lamotrigine: µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	507
72. Levetiracetam: µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	514
73. Oxcarbazepine: µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch).....	521
74. Topiramate: µmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	528
75. Infliximab: mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	535
76. Biotinidase: nmol/phút/dL: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)	542

77. GALT (galactose-1-phosphat uridylyltransferase): U/g Hb: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)	549
78. IRT (immunoreactive trypsin): $\mu\text{g/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	556
79. Phenylalanin: $\mu\text{mol/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	563
80. Leucin: $\mu\text{mol/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	570
81. TREC (T cell receptor excision circles): copies/ μL : máu thấm khô: Định lượng (PCR và TR-FRET)	577
82. Vitamin B12 hoạt hóa (holotranscobalamin): pmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	584
83. Bicarbonat: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)	591
84. Ecstasy: $\mu\text{g/L}$: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)	598
85. KL-6 (Krebs von den Lungen-6): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)	605
86. Lithium: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)	612
87. Non-HDL-C (non - high density lipoprotein - cholesterol): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên cholesterol toàn phần và HDL-C huyết thanh hoặc huyết tương)	619

Bilirubin trực tiếp: mmol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ bilirubin trực tiếp (bilirubin liên hợp) trong dịch sinh học của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ bilirubin trực tiếp trong dịch theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ theo phương pháp so màu như sau:

Bilirubin trực tiếp tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu đo ở bước sóng thích hợp của phức hợp azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ bilirubin trực tiếp có trong mẫu thử.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;

- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm bilirubin trực tiếp;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy dịch theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L hoặc $\mu\text{mol/L}$ hoặc mg/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ bilirubin trực tiếp của dịch có thể được sử dụng trong nhiều trường hợp, ví dụ được so sánh với nồng độ bilirubin trực tiếp của máu để phân biệt với rò dịch mật.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid, đỏ do tan máu, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Điểm GALAD: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên các chỉ số giới, tuổi, AFP-L3, AFP và PIVKA-II)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tính điểm GALAD trong ung thư biểu mô tế bào gan.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

GALAD là một thuật toán dựa trên các chỉ số giới (gender), tuổi (age), kết quả xét nghiệm alpha-fetoprotein L3 (AFP-L3), alpha-fetoprotein (AFP) và des-gamma-carboxyprothrombin (DCP) hay còn gọi là PIVKA-II (protein induced by vitamin K absence or antagonist-II) trong huyết thanh/ huyết tương người. Nồng độ AFP-L3, AFP và PIVKA-II trong huyết thanh/ huyết tương có thể được xác định theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;

- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng AFP, AFP-L3, PIVKA II;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính dưới 01 giờ tính từ thời điểm có đầy đủ các thông số để tính toán.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Thuật toán GALAD được tính theo công thức sau:

$$Z = -10,08 + 0,09 \times \text{Tuổi} + 1,67 \times \text{Giới} + 2,34 \times \log_{10}(\text{AFP}) + 0,04 \times \text{AFP-L3} + 1,33 \times \log_{10}(\text{PIVKA-II})$$

Quy ước về giới : nam = 1, nữ = 0

Đơn vị của AFP : ng/mL

Đơn vị của PIVKA-II : ng/mL

Đơn vị của AFP-L3 : % so với AFP

Chỉ số dự đoán ung thư biểu mô tế bào gan = $\exp(Z) / (1 + \exp(Z))$

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên giá trị cut-off, độ nhạy, độ đặc hiệu, diện tích dưới đường cong ROC (receiver operating characteristic), ... theo công bố của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả điểm GALAD dựa vào giá trị cut-off, độ nhạy, độ đặc hiệu, diện tích dưới đường cong ROC, ...

4.2.5. Biện luận kết quả

GALAD cho thấy hiệu quả phát hiện ung thư biểu mô tế bào gan cao hơn so với kết hợp ba dấu ấn thông thường.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Thymidin kinase: U/L: huyết thanh/ huyết tương: Đo hoạt độ (hóa sinh đo hoạt độ phóng xạ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt độ thymidin kinase trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo hoạt độ thymidin kinase theo nguyên lý hóa sinh đo hoạt độ phóng xạ. Ví dụ xét nghiệm enzym phóng xạ (radioenzymatic assay: REA) như sau:

Xét nghiệm dựa trên sự phosphoryl hóa của 5-[¹²⁵I]-deoxyuridin (chất đánh dấu ¹²⁵I) xúc tác bởi thymidin kinase có trong mẫu. 5-[¹²⁵I]-deoxyuridin được chuyển thành 5-iododeoxyuridin monophosphat (¹²⁵Id-UMP). Sau đó ¹²⁵Id-UMP được tách khỏi hỗn hợp phản ứng bằng cách hấp phụ trên bề mặt của nhựa trao đổi ion. Chất hấp phụ được rửa để loại bỏ 5-[¹²⁵I]-deoxyuridin. Hoạt độ phóng xạ được xác định bằng máy đo bức xạ tia gamma. Hoạt độ enzym thymidin kinase tỷ lệ với hoạt độ phóng xạ và được nội suy từ đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 µL, 200 µL, 10 µL, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ thuốc thử xét nghiệm đo hoạt độ thymidin kinase;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: máy trộn vortex, thiết bị ổn nhiệt (thermostat), thiết bị khuấy từ, máy đo bức xạ tia gamma, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ xét nghiệm;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;

- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 06 đến 24 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn bức xạ;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Việc hòa loãng (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, hoặc nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...) theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả theo đơn vị U/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong bệnh lý khối u, đặc biệt là các bệnh máu ác tính như u lympho không hodgkin và bệnh bạch cầu mạn, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Everolimus: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ everolimus trong máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương người. Định lượng nồng độ thuốc trong máu là cần thiết để đạt hiệu quả điều trị tối ưu và giảm thiểu độc tính của thuốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ everolimus trong máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, miễn dịch điện hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch “sandwich” sử dụng công nghệ điện hóa phát quang như sau:

Everolimus có trong mẫu đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng everolimus, tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu “sandwich” được bắt giữ trên bề mặt điện cực. Một trong hai kháng thể đơn dòng kháng everolimus có gắn chất đánh dấu phát quang, được kích thích tạo ra ánh sáng khi điện cực được cấp một điện áp. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ everolimus có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...)

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: điện cực, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng everolimus;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương hoặc dung dịch thu được sau tiền xử lý.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.

- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị nmol/L hoặc ng/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ everolimus trong máu ở bệnh nhân ghép tạng đặc biệt có mối liên quan với hiệu quả điều trị và tần số của tác dụng phụ. Do khoảng trị liệu của thuốc hẹp, tương tác dược động học của thuốc đáng kể và sự khác nhau nhiều giữa từng bệnh nhân, nên việc theo dõi nồng độ trong trị liệu của everolimus trong máu toàn phần được khuyến cáo ở tất cả các bệnh nhân ghép tạng, giúp cải thiện hiệu quả điều trị của thuốc.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Androstenedione: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ của androstenedione trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Androstenedione là tiền chất của testosterone và estrone, được tạo ra ở tuyến sinh dục và tuyến thượng thận. Định lượng nồng độ của androstenedione trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, miễn dịch điện hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch “sandwich” sử dụng công nghệ điện hóa phát quang như sau:

Androstenedione có trong mẫu đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng androstenedione, tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu “sandwich” được bắt giữ trên bề mặt điện cực. Một trong hai kháng thể đơn dòng kháng androstenedione có gắn chất đánh dấu phát quang, được kích thích tạo ra ánh sáng khi điện cực được cấp một điện áp. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ androstenedione có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: điện cực, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng androstenedione;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị nmol/L hoặc ng/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Androstenedione thường tăng trong chứng rậm lông và nam hoá. Không giống như androgen dehydroepiandrosterone vô thượng thận và dẫn xuất sulfat hoá của nó, androstenedione trong máu có nguồn gốc từ cả tuyến vô thượng thận và buồng trứng. Nồng độ androstenedione máu tăng hằng định từ khi 7 tuổi và giảm dần sau khi 30 tuổi. Androstenedione có sự biến thiên trong ngày và theo chu kỳ kinh nguyệt, cao nhất vào buổi sáng và giữa kỳ kinh. Khi mang thai, nồng độ androstenedione máu tăng.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Acetaminophen: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ acetaminophen trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ acetaminophen trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất (homogeneous enzymatic immunoassay: HEIA), miễn dịch phân cực huỳnh quang, ... Ví dụ HEIA như sau:

Acetaminophen trong mẫu cạnh tranh với acetaminophen gắn enzym glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) trong thuốc thử để kết hợp với kháng thể, do đó nồng độ thuốc có thể được xác định thông qua hoạt độ của enzym G6PD. Enzym này xúc tác chuyển nicotinamid adenin dinucleotid dạng oxy hóa (NAD^+) thành NADH, làm thay đổi độ hấp thụ quang của dung dịch phản ứng ở bước sóng nhất định. G6PD nội sinh của mẫu không gây ảnh hưởng do coenzym NAD^+ chỉ hoạt động với enzym của vi khuẩn *Leuconostoc mesenteroides* có trong thuốc thử.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng acetaminophen;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{g/mL}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Acetaminophen là thuốc giảm đau và hạ sốt được sử dụng rộng rãi. Khi sử dụng lượng quá liều, acetaminophen có thể gây hại nghiêm trọng cho gan và thận, hoặc tử vong. Bệnh nhân có thể có ít hoặc không có triệu chứng sớm sau khi dùng quá liều cấp tính acetaminophen. Chẩn đoán sớm đáng tin cậy nhất hiện nay là định lượng nồng độ acetaminophen trong huyết thanh. Biểu hiện lâm sàng về tổn thương gan và thận thường xuất hiện muộn trong 24 giờ hoặc nhiều hơn sau khi uống. Hỗ trợ sớm thời điểm dùng thuốc giải độc dự phòng acetylcystein đạt hiệu quả tốt.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Renin hoạt hóa (active renin): mIU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ renin hoạt hóa (active renin) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Renin là một enzym xúc tác chuyển angiotensinogen thành angiotensin I. Renin có tiền chất ở dạng bất hoạt gọi là prorenin, chứa một đoạn hơn 40 acid amin ở đầu tận N bao phủ trung tâm hoạt động của renin. Khi có giảm huyết áp, giảm tái hấp thu natri, hạ kali máu, hoặc kích thích của hệ thần kinh giao cảm, renin hoạt hóa được giải phóng từ thận, hoặc được tạo thành từ prorenin bằng cách phân cắt đoạn acid amin ở đầu tận N của prorenin. Prorenin được bài tiết liên tục vào máu, trong khi đó giải phóng renin được kiểm soát chặt chẽ. Nồng độ prorenin trong máu cao hơn gấp khoảng từ 10 đến hàng trăm lần so với renin hoạt hóa.

Định lượng nồng độ renin hoạt hóa trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) như sau:

Trong khay vi giếng được phủ sẵn một lượng kháng thể đơn dòng nhằm gắn với vị trí kháng nguyên đặc hiệu trên phân tử renin hoạt hóa của người. Trong lần ủ đầu tiên cùng với dung dịch đệm, renin hoạt hóa trong mẫu gắn với kháng thể cố định trong giếng. Sau khi ủ, các thành phần không gắn sẽ bị rửa bỏ. Tiếp đó, chất liên hợp enzym, chứa kháng thể đơn dòng anti-renin liên hợp với horseradish peroxidase, sẽ được thêm vào và gắn với renin tạo phức hợp “sandwich”. Sau khi rửa loại bỏ các thành phần không gắn, pha rắn được ủ với dung dịch cơ chất và xảy ra phản ứng đo màu. Làm ngừng phản ứng bằng dung dịch dừng phản ứng, đo độ hấp thụ quang của sản phẩm tạo thành ở bước sóng thích hợp. Nồng độ renin hoạt hóa trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đã xây dựng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
 - 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.
- Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giếng phản ứng, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng renin hoạt hóa;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mIU/L hoặc μ IU/mL hoặc ng/L hoặc pg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong bệnh Addison, suy tuyến thượng thận, bệnh thận, tắc nghẽn động mạch đến thận, xơ gan, suy tim, mất nước/ mất máu (gây hạ huyết áp), tăng huyết áp nguyên phát, ...

Giảm trong tăng huyết áp, hội chứng Conn (cường aldosterone nguyên phát), hội chứng Liddle (giả cường aldosterone), ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Acid amin: $\mu\text{mol/L}$: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh sắc ký)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ các acid amin trong dịch sinh học của người (huyết thanh, huyết tương, nước tiểu, dịch não tủy, ...).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ các acid amin trong dịch sinh học của người theo nguyên lý hóa sinh sắc ký. Ví dụ phương pháp sắc ký lỏng siêu hiệu năng (ultra-performance liquid chromatography: UPLC) như sau:

Mẫu được khử protein bằng dung dịch acid sulfosalicylic (SSA) chứa nội chuẩn norvaline. Phân tích acid amin gồm các giai đoạn:

- Kiểm hoá mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu trắng đã được khử tạp bởi SSA bằng dung dịch NaOH/ borat.
- Dẫn xuất hoá các acid amin trong mẫu bằng 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamat (AQC) để chuyển các acid amin bậc một và bậc hai thành các chất có thể phát hiện được bằng đầu dò cực tím (UV).
- Phân tách các dẫn xuất AQC của acid amin bằng phương pháp UPLC, định lượng bằng đầu dò UV.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng acid amin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch sinh học của người (máu toàn phần/ nước tiểu/ dịch não tủy ...).
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông/ ống đựng nước tiểu/ ống đựng dịch theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch ...
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Tiền xử lý mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử.
- Đưa mẫu đã tiền xử lý vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

Acid amin niệu có thể sử dụng đơn vị $\mu\text{mol/mmol creatinin}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong rối loạn chuyển hóa acid amin do thiếu hụt các enzym ảnh hưởng đến quá trình dị hoá acid amin, làm tăng nhiều acid amin huyết tương dẫn đến tăng acid amin niệu (aminoaciduria). Ví dụ trong bệnh nước tiểu mùi si-rô cây phong, thiếu các enzym chuyển hoá dẫn tới tăng quá mức 3 acid amin cần thiết: leucine, isoleucine và valine.

Giảm trong chế độ ăn giảm acid amin, suy dinh dưỡng, rối loạn chuyển hóa acid amin, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Chì (Pb): $\mu\text{mol/L}$: máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ chì (Pb) trong máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ chì trong máu toàn phần/ huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (atomic absorption spectrometry: AAS), phân tích phổ để định lượng nguyên tố hóa học dưới dạng nguyên tử tự do ở thể khí. Ví dụ như sau:

Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphite. Các nguyên tử chì tự do sinh ra trong ống graphite hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn cathode rỗng (hollow cathode lamp: HCL) tạo ra phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: ống graphite, đèn deuterium (D2), cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Đèn cathode rỗng đơn nguyên tố (single-element HCL) hoặc đa nguyên tố (multi-element HCL) bao gồm nguyên tố chì;
- Khí trơ có độ tinh khiết cao: ví dụ khí argon;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống và nước rửa: acid citric, Triton X-100, chất chống bọt, nước khử ion, ...

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu theo nguyên lý AAS;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;

- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh/ huyết tương/ máu toàn phần.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu đối với xét nghiệm huyết thanh/ huyết tương, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{g/L}$ hoặc $\mu\text{g/dL}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Chì gây rối loạn hệ thần kinh trung ương, giết chết các tế bào thần kinh, gây thiếu máu do ức chế sự tổng hợp hồng cầu, làm cho hồng cầu dễ vỡ. Chì làm giảm thải trừ acid uric qua nước tiểu, gây bệnh Gout và tổn thương tế bào thận, tăng co bóp thành mạch máu gây tăng huyết áp.

Ngộ độc chì còn làm giảm chức năng sinh sản của nam và nữ, giảm sản xuất các hormon quan trọng. Trẻ sơ sinh nếu bị nhiễm độc chì vô cùng nguy hiểm, để lại nhiều hậu quả nặng nề: suy giảm nhận thức vĩnh viễn, rối loạn hành vi cơ bản, tổn thương các tế bào xương và làm giảm chiều cao trầm trọng.

Đối với phụ nữ mang thai, nồng độ chì trong máu mẹ sẽ khiến cho thai nhi bị ngộ độc chì, gây đẻ non, sảy thai, trẻ sinh ra bị chậm phát triển, tăng nguy cơ dị tật, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Chì (Pb): $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ chì (Pb) trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ chì niệu theo nguyên lý đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (atomic absorption spectrometry: AAS), phân tích phổ để định lượng nguyên tố hóa học dưới dạng nguyên tử tự do ở thể khí. Ví dụ:

Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphite. Các nguyên tử chì tự do sinh ra trong ống graphite hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn cathode rỗng (hollow cathode lamp: HCL) tạo ra phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: ống graphite, đèn deuterium (D2), cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Đèn cathode rỗng đơn nguyên tố (single-element HCL) hoặc đa nguyên tố (multi-element HCL) bao gồm nguyên tố chì;
- Khí trơ có độ tinh khiết cao: ví dụ khí argon;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống và nước rửa: acid citric, Triton X-100, chất chống bọt, nước khử ion, ...

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu theo nguyên lý AAS;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu bất kỳ hoặc nước tiểu 24 giờ (24h).
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).

- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{g/L}$ hoặc $\mu\text{g/dL}$ hoặc $\mu\text{mol/24h}$ hoặc $\mu\text{g/24h}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Xét nghiệm chì niệu giúp đánh giá mức độ thâm nhiễm chì.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

AFP (alpha-fetoprotein): $\mu\text{g/L}$: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ AFP (alpha-fetoproteine) trong dịch não tủy người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ AFP trong dịch não tủy theo nguyên lý hoá sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, miễn dịch điện hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang như sau:

AFP trong mẫu gắn với kháng thể kháng AFP để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được xác định nhờ chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ với nồng độ AFP có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy mẫu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: điện cực, cồng phản ứng, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng AFP;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch não tủy.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống nghiệm trắng không chống đông hoặc ống thủy tinh sạch có nắp.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch não tủy.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL .

4.2.5. Biện luận kết quả

AFP dịch não tủy tăng trong một số bệnh như ung thư tế bào mầm, germinoma thần kinh trung ương nguyên phát, các khối u tuyến tụy, tuyến yên, vùng dưới đồi, ung thư tinh hoàn di căn não, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm tán huyết: hemoglobin ảnh hưởng kết quả xét nghiệm. Đề phòng bằng cách lấy bệnh phẩm đúng quy trình kỹ thuật. Nếu có sai sót, có thể phải hủy mẫu và lấy lại mẫu để giảm mức độ ảnh hưởng của yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù...: tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Phạm Thiện Ngọc (2017). Các chỉ điểm ung thư và ứng dụng trong lâm sàng. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- Kretschmar C., Kleinberg L., Greenberg M., et al. (2007). Chemotherapy Followed by Response-based Radiotherapy for Newly Diagnosed Primary CNS Germinoma. *Pediatr Blood Cancer* 48(3): 285–291.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Phencyclidine: nmol/L: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ phencyclidine [1-(1-phenylcyclohexyl) piperidine, PCP] trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ phencyclidine trong nước tiểu theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất (homogeneous enzymatic immunoassay: HEIA), miễn dịch phân cực huỳnh quang, ... Ví dụ HEIA như sau:

Xét nghiệm miễn dịch enzym dựa trên phản ứng cạnh tranh vị trí gắn kháng thể giữa phencyclidine có trong mẫu và phencyclidine gắn glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) có trong thuốc thử. Hoạt tính enzym giảm khi liên kết với kháng thể, do đó nồng độ phencyclidine trong mẫu có thể được xác định bằng đo hoạt độ enzym. Enzym chuyển nicotinamid adenin dinucleotid dạng oxy hóa (NAD^+) thành NAD dạng khử (NADH), dẫn đến sự thay đổi độ hấp thụ được đo bằng máy đo quang phổ. G6PD nội sinh không gây ảnh hưởng vì coenzym NAD^+ chỉ hoạt động với enzym của vi khuẩn *Leuconostoc mesenteroides* có trong thuốc thử.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm phencyclidine;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Kết quả cao hơn ngưỡng cut-off được coi là Dương tính.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả bán định lượng theo đơn vị nmol/L hoặc ng/mL, hoặc báo cáo kết quả Âm tính hoặc Dương tính.

4.2.5. Biện luận kết quả

Phencyclidine, còn được gọi là PCP hoặc “angel dust”, là một loại thuốc tổng hợp, ban đầu được sử dụng trong gây mê, nhưng hiện bị lạm dụng vì tác dụng gây ảo giác. Phencyclidine được hấp thu tập trung ở não và các mô mỡ. Phencyclidine được chuyển hóa bởi enzyme cytochrom P450 và được bài tiết qua nước tiểu.

Kết quả xét nghiệm Dương tính chỉ ra sự có mặt của thuốc trong nước tiểu. Kết quả Dương tính với xét nghiệm này nên được khẳng định bằng một phương pháp khẳng định, ví dụ như sắc ký khí – khối phổ (gas chromatography – mass spectrometry: GC-MS).

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Chymotrypsin: $\mu\text{g/mL}$: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ chymotrypsin trong phân người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ chymotrypsin trong phân người theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Lọ đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy mẫu bệnh phẩm phân;
- Cân;
- Bộ dụng cụ tách chiết phân;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;

- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng chymotrypsin trong phân;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: máy lắc ủ, máy rửa, máy đo quang, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm;
- Máy lắc trộn;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: phân.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: lọ đựng phân, dung dịch pha loãng, bộ dụng cụ đặc biệt để đồng bộ mẫu.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: phân/ mẫu phân tách chiết.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: dụng cụ đựng mẫu phân tách chiết.
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 05 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;

- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm kết nối với máy phân tích.

- Tiền xử lý mẫu.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/mL}$ hoặc $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Chymotrypsin là serin protease do tụy sản xuất, bài tiết vào trong ruột sau khi thức ăn tới ruột. Một lượng nhỏ chymotrypsin hoạt tính bài tiết trong phân. Trong suy tụy do viêm tụy mạn, bài tiết enzym giảm đáng kể, có thể đo sự giảm lượng chymotrypsin trong phân. Chỉ định của chymotrypsin trong phân thường dùng trong viêm tụy mạn, suy tụy ngoại tiết, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lipoprotein (a): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ lipoprotein (a), viết tắt là Lp(a), trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ Lp(a) trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như miễn dịch đo độ đục, miễn dịch hấp phụ gắn enzym, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Các hạt latex phủ kháng thể kháng Lp(a) người khi được trộn với mẫu chứa Lp(a) sẽ tạo ra các ngưng kết. Nồng độ Lp(a) của mẫu tỷ lệ với sự thay đổi độ hấp thụ quang do ngưng kết, và được xác định được trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng $L_p(a)$;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả theo đơn vị nmol/L hoặc mg/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Lp(a) là một lipoprotein tỷ trọng thấp (low density lipoprotein: LDL), chứa apolipoprotein B-100 liên kết disulphide với apolipoprotein(a). Nồng độ Lp(a) cao là một chỉ điểm của nguy cơ bệnh tim mạch, đặc biệt khi nồng độ LDL-cholesterol hoặc Apo B huyết thanh tăng. Định lượng Lp(a) huyết thanh/ huyết tương có vai trò quan trọng trong xác định nguy cơ phát triển xơ vữa động mạch.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Fructose: $\mu\text{mol/lần xuất tinh}$: tinh dịch: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ fructose trong tinh dịch của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ fructose trong tinh dịch theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp động học enzym như sau:

Fructose trong tinh dịch bị phosphoryl hóa bởi ATP dưới tác dụng của enzym hexokinase tạo thành fructose-6-phosphat. Fructose-6-phosphat được đồng phân hóa nhờ enzym phosphoglucose isomerase tạo thành glucose-6-phosphat. Tiếp đó glucose-6-phosphat bị oxy hóa bởi nicotinamid adenin dinucleotid phosphat (NADP^+) dưới xúc tác của glucose-6-phosphat dehydrogenase để tạo ra NADPH (dạng khử của NADP^+). NADPH được tạo ra trong quá trình phản ứng tỷ lệ với nồng độ fructose và được đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 340 nm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy tinh dịch;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng fructose;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: tinh dịch.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng tinh dịch theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: tinh dịch.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 1,5 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Làm lỏng mẫu tinh dịch tươi bằng cách ủ ở 37°C trong vòng 30 phút.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thử cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/lần xuất tinh}$, $\mu\text{mol/L}$, mg/lần xuất tinh , hoặc mg/dL ...

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ fructose trong tinh dịch giảm gấp trong không có ống dẫn tinh bẩm sinh, tắc nghẽn ống xuất tinh, xuất tinh ngược một phần, thiếu hụt androgen, ăn vào không đủ, giảm hấp thu, tăng mất hoặc tăng nhu cầu fructose của cơ thể, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị lẫn máu hoặc một số yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.

- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- WHO (2010). Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th Edition.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

1,5-AG (1,5-anhydroglucitol): $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ 1,5-anhydroglucitol (1,5-AG) trong huyết thanh/ huyết tương người. 1,5-AG là một monosaccharid có cấu trúc tương tự glucose. Định lượng nồng độ 1,5-AG (xét nghiệm Glycomark) có giá trị chẩn đoán và theo dõi điều trị đái tháo đường.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ 1,5-AG huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp enzym so màu như sau:

Sử dụng enzym pyranose oxidase (PROD) để oxy hóa gốc hydroxyl OH^- ở vị trí thứ 2 của phân tử 1,5-AG. Sản phẩm H_2O_2 tạo ra được phát hiện bởi phương pháp enzym so màu sử dụng enzym peroxidase. Vì enzym PROD phản ứng với glucose nên mẫu huyết thanh sẽ được xử lý trước bởi phản ứng sử dụng enzym glucokinase. Glucose được chuyển hóa thành glucose-6-phosphat (G6P), một chất không phản ứng với enzym PROD. Để phản ứng xảy ra hoàn toàn, một phức hợp hồi phục phân tử adenosin triphosphat (ATP) bao gồm hai enzym pyruvat kinase (PK) và phosphoenol pyruvate (PEP) được sử dụng. Vì ATP được chuyển hóa thành adenosin diphosphat (ADP), PK cùng với sự có mặt của PEP sẽ xúc tác phản ứng phosphoryl hóa ADP thành ATP. Kết quả của việc chuyển glucose thành G6P, phương pháp định lượng đặc hiệu cho phân tử 1,5-AG.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng 1,5-AG;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{g/mL}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Glycomark máu giảm có ý nghĩa:

- Phản ánh tình trạng đường máu cao và biến động đường máu trong gần thời điểm xét nghiệm (1 – 2 tuần).
- Thể hiện những biến động đường huyết sau ăn.
- 1,5-AG giảm liên quan đến sự gia tăng về bệnh lý mạch máu nhỏ.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Osteocalcin: $\mu\text{g/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ osteocalcin (bao gồm osteocalcin chứa các acid amin 1-49 và mảnh osteocalcin chứa các acid amin 1-43) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ osteocalcin trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm

miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ ELISA như sau:

Mẫu được cho vào giếng phủ streptavidin. Tiếp đó thêm vào giếng hỗn hợp hai kháng thể, gồm kháng thể đa dòng, đặc hiệu vùng đầu tận N của osteocalcin người, gắn biotin, và kháng thể đơn dòng, đặc hiệu vùng chứa các acid amin 20-43 của osteocalcin người, gắn peroxidase. Kháng nguyên trong mẫu kết hợp với hai kháng thể đặc hiệu này tạo phức hợp miễn dịch kiểu “sandwich”, được gắn trên bề mặt giếng thông qua liên kết streptavidin-biotin. Sau khi các thành phần không gắn được rửa khỏi giếng, cơ chất tạo màu được thêm vào, và dưới xúc tác của peroxidase, được chuyển thành sản phẩm màu. Hoạt tính enzym của phức hợp miễn dịch, được xác định bằng phương pháp đo quang, tỷ lệ với lượng osteocalcin có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giếng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;

- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng osteocalcin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.

- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;

- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL .

4.2.5. Biện luận kết quả

Osteocalcin được sản xuất bởi nguyên bào xương, là một dấu ấn sinh học của chu chuyển xương. Tăng osteocalcin có tương quan với tăng tỷ trọng khoáng xương (bone mineral density) trong điều trị thuốc chống hủy xương ở bệnh nhân loãng xương, bệnh Paget, hoặc các rối loạn khác có tăng nồng độ osteocalcin, ...

Osteocalcin được sử dụng để hỗ trợ trong chẩn đoán các tình trạng bệnh lý như loãng xương, bệnh Paget, ung thư di căn xương, cường cận giáp nguyên phát, cường giáp, loạn dưỡng xương do thận, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ...: tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Cortisol: nmol/L: nước bọt: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ cortisol trong mẫu nước bọt người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ cortisol trong nước bọt theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, miễn dịch điện hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang như sau:

Cortisol trong mẫu gắn với kháng thể kháng cortisol để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được xác định nhờ chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ với nồng độ cortisol có trong mẫu và có kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước bọt;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng cortisol;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước bọt.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy nước bọt theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm (ví dụ ống Salivette).
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước bọt.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị nmol/L hoặc ng/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ cortisol nước bọt vào buổi tối muộn tăng lên trong hội chứng Cushing, ...; nồng độ vào buổi sáng giảm trong suy vỏ thượng thận, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

C1-esterase inhibitor: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ C1-esterase inhibitor trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

C1-esterase inhibitor là một α_2 -globulin có vai trò kiểm soát giai đoạn đầu của hoạt hóa bổ thể theo con đường cổ điển, và ức chế plasmin, thrombin và kallikrein.

Định lượng nồng độ C1-esterase inhibitor trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch đo độ đục, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

C1-esterase inhibitor có trong mẫu hình thành phức hợp miễn dịch với kháng thể đặc hiệu phủ trên bề mặt các vi hạt, làm dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ C1-esterase inhibitor có trong mẫu tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên – kháng thể tạo ra, và được xác định dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
 - 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.
- Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu cùn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng C1-esterase inhibitor;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông hoặc không có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết tương hoặc huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L hoặc mg/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Giảm trong phù mạch di truyền hoặc phù mạch mắc phải do mắc các bệnh khác như ung thư, bệnh tự miễn, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có

thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Ecstasy: $\mu\text{g/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Ecstasy là một nhóm các hợp chất đồng đẳng của amphetamine có vòng thơm được thay thế bởi methylenedioxy, bao gồm 3,4-methylenedioxy amphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxy methamphetamine (MDMA), và 3,4-methylenedioxy ethylamphetamine (MDEA). Mục đích của kỹ thuật là nhằm định lượng nồng độ ecstasy trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ ecstasy niệu theo nguyên lý sắc ký khối phổ, ví dụ sắc ký khí – khối phổ (GC-MS) hoặc sắc ký lỏng – khối phổ (LC-MS). Ví dụ theo nguyên lý sắc ký khí – khối phổ như sau:

Chuẩn bị mẫu: Pha dãy dung dịch chuẩn ecstasy ở các nồng độ thích hợp và dung dịch chuẩn nội. Các mẫu chuẩn ở các nồng độ đã pha, và mẫu cần phân tích, đều được thêm cùng một lượng chuẩn nội. Các mẫu được điều chỉnh pH phù hợp với từng phương pháp tách chiết, sau đó được chiết xuất bằng phương pháp chiết lỏng – lỏng hoặc chiết pha rắn. Cặn chiết được tạo dẫn xuất với dung môi phù hợp.

Tiến hành sắc ký: Mẫu được bơm vào và theo dòng khí mang đưa đến cột sắc ký (pha tĩnh). Mẫu khi qua cột này sẽ được hấp phụ lên trên pha tĩnh đó. Sau đó, các chất lần lượt tách khỏi cột theo dòng khí ra ngoài được ghi nhận bởi đầu dò. Từ các tín hiệu nhận được máy tính sẽ xử lý và biểu hiện kết quả bằng sắc ký đồ. Các chất được xác định nhờ giá trị thời gian lưu trên sắc ký đồ. Nồng độ ecstasy được tính theo phương pháp đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;

- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng ecstasy niệu;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu chuẩn;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: hệ thống GC-MS hoặc LC-MS, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng bệnh phẩm nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;

- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.

- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL .

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong sử dụng thuốc/ sản phẩm có chứa ecstasy, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị lấy sai quy cách, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm lấy không đạt yêu cầu về số lượng và chất lượng.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

MPA (mycophenolic acid): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ của mycophenolic acid (MPA) trong huyết thanh/ huyết tương người. Định lượng nồng độ thuốc trong huyết thanh/ huyết tương là cần thiết để đạt hiệu quả điều trị tối ưu và giảm thiểu độc tính của thuốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ của MPA trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch enzym như sau:

Dựa trên enzym β -galactosidase đã được biến đổi gen thành hai đoạn không hoạt động gọi là ED (Enzyme Donor) và EA (Enzyme Acceptor). Các đoạn này liên kết lại một cách tự nhiên để tạo thành các enzym hoạt động, xúc tác phản ứng tạo ra sự thay đổi màu sắc có thể được đo bằng quang phổ.

Trong xét nghiệm, MPA trong mẫu cạnh tranh với liên hợp MPA-ED cho số lượng giới hạn các vị trí liên kết kháng thể. Nếu MPA có trong mẫu, nó liên kết với kháng thể, liên hợp MPA-ED tự do kết hợp với EA để tạo thành enzym hoạt động. Nếu MPA không có trong mẫu, kháng thể liên kết với liên hợp MPA-ED, ức chế sự kết hợp của ED với EA, không tạo thành enzym hoạt động. Enzym hoạt động được hình thành sẽ xúc tác phản ứng, gây ra sự thay đổi độ hấp thụ quang tỷ lệ với lượng MPA có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu cùn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng MPA;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;

- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện

và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Có thể tham khảo: khoảng điều trị được chấp nhận chung cho MPA là 1,0–3,5 mg/L. Tuy nhiên, phạm vi này có thể thay đổi tùy thuộc vào từng bệnh nhân, loại ghép tạng, và các loại thuốc khác đang sử dụng.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Người bệnh dùng các thuốc có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm như thuốc làm tăng nồng độ MPA (aceclofenac, acemetacin, acetaminophen, amphetamine, acid acetylsalicylic, acyclovir, adefovir dipivoxil ...), thuốc làm giảm nồng độ MPA (acetazolamid, amoxicillin, ampicillin ...). Có thể cho người bệnh tạm dừng dùng thuốc nếu cần thiết.

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ... Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có

thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

NK cell activity (hoạt tính tế bào NK): ng/L: máu toàn phần: Đo hoạt tính (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt tính tế bào diệt tự nhiên (Natural Killer cell activity) trong máu ngoại vi người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo hoạt tính tế bào NK trong máu ngoại vi theo nguyên lý hoá sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (ELISA) theo kiểu sandwich như sau:

Kích hoạt tế bào NK bằng chất kích thích miễn dịch. Sau đó tế bào NK trong mẫu phản ứng với kháng thể đơn dòng (có sự tham gia của enzym), tạo thành phức hợp màu. Độ hấp thụ quang của hợp chất màu ở bước sóng thích hợp tỷ lệ với hoạt tính tế bào NK trong mẫu. Nồng độ interferon-gamma (INF- γ) do tế bào NK tiết ra được tính toán dựa trên nồng độ INF- γ chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Dầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm đo hoạt tính tế bào NK;
- Dung dịch pha loãng mẫu, pha loãng kháng thể, cơ chất phản ứng, dung dịch dừng phản ứng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (chứng âm, chứng dương);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: máy đo mật độ quang, máy rửa, máy lắc chuyên dụng, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm lạnh để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;

- Thiết bị vortex;
- Tủ ấm 37°C;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết tương. Đặt ống mẫu vào tủ ấm 37°C theo chiều thẳng đứng ngay sau khi thu thập, thời gian để tủ ấm 24 giờ. Ly tâm ống mẫu tách huyết tương, lưu trữ ở -20°C cho tới khi thực hiện xét nghiệm.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 36 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị ng/L hoặc pg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Ứng dụng trong theo dõi khả năng phục hồi hệ miễn dịch tự nhiên của bệnh nhân trong và sau quá trình điều trị ung thư hoặc những người có nguy cơ cao mắc bệnh ung thư. Kết quả xét nghiệm hoạt tính NK thấp cho biết hệ miễn dịch tự nhiên chống ung thư của người được xét nghiệm yếu và cần phải tìm nguyên nhân hoặc phương pháp cải thiện sức khỏe để cơ thể có được sự bảo vệ của hệ miễn dịch ở trạng thái tốt nhất.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- Saet-byul Lee, Junhoe Cha, Im-kyung Kim, et al. (2014). A high-throughput assay of NK cell activity in whole blood and its clinical application. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 445(3): 584–590.
- Line Nederby, Anders Jakobsen, Marianne Hokland, et al (2018). Quantification of NK cell activity using whole blood: Methodological aspects of a new test. *J Immunol Methods* 458: 21–25.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Normetanephrine: nmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ normetanephrine trong huyết thanh/ huyết tương người, hỗ trợ chẩn đoán khối u ở tuyến thượng thận, u nguyên bào thần kinh, tăng huyết áp, ...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Normetanephrine là một chất trung gian của quá trình chuyển hóa norepinephrine dưới xúc tác của enzym catechol-O-methyltransferase, xảy ra chủ yếu ở gan và bài tiết qua thận. Norepinephrine cùng epinephrine và dopamine là các thành phần của normetanephrine, được sản xuất chủ yếu bởi các tế bào ưa chrom của tủy thượng thận và các sợi hậu hạch của hệ thần kinh giao cảm.

Định lượng nồng độ normetanephrine trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (ELISA) như sau:

Normetanephrine trong mẫu gắn với kháng thể kháng normetanephrine để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Các phức hợp kháng nguyên – kháng thể được phát hiện bởi tetramethylbenzidine và đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 450 nm. Nồng độ normetanephrine trong mẫu được tính bằng cách so sánh độ hấp thụ quang với đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu;

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng normetanephrine;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;

- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 02 đến 08 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị nmol/L hoặc pmol/L hoặc pg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ normetanephrine tăng cao gặp trong u tủy thượng thận, ung thư tuyến thượng thận, u tế bào cận hạch của hệ giao cảm, tổn thương hệ thần kinh trung ương do tổn thương các nhân trong thân não, do thiếu hụt monoamine oxidase A (MAO-A) trong hội chứng Brunner. Một số yếu tố khác như stress, hoạt động thể chất và chế độ ăn uống cũng có thể làm tăng nồng độ normetanephrine. Giảm nồng độ normetanephrine gặp trong trường hợp sử dụng thuốc chống loạn nhịp như β -blocker, thuốc điều trị tăng huyết áp như α -blocker, thuốc ức chế thụ thể β -adrenergic.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Một số loại thuốc ức chế tái hấp thu norepinephrine như chống trầm cảm ba vòng, serotonin – norepinephrine reuptake inhibitors (SNRI), selective norepinephrine reuptake inhibitors (NRI); thuốc ức chế enzym chuyển hóa catecholamine như monoamin oxidase inhibitors (MAOIs), catechol-O-methyltransferase inhibitors (COMT inhibitors) có thể ảnh hưởng đến nồng độ normetanephrine, người bệnh cần ngừng thuốc trước khi thực hiện xét nghiệm.

Các chất kích thích thần kinh giao cảm, thể thao và thuốc lá cũng có thể ảnh hưởng lượng metanephrine và normetanephrine. Rượu và đồ uống caffein cần được tránh trước ngày lấy mẫu và vào ngày lấy mẫu.

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định ... Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thời gian ủ làm ảnh hưởng đến các kết quả đo nên tất cả các giếng cần được xử lý theo cùng thứ tự và các khoảng thời gian giống nhau.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Quinidine: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ quinidine trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ quinidine trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như miễn dịch

đo độ đục, miễn dịch enzym đồng nhất, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Các vi hạt được phủ quinidine nhanh chóng ngưng kết trong dung dịch có chứa kháng thể kháng quinidine. Khi mẫu chứa quinidine, kháng thể gắn với thuốc có trong mẫu, không còn khả năng thúc đẩy hình thành ngưng kết của các vi hạt. Từ đó, một đường cong ức chế điển hình tương ứng với nồng độ quinidine sẽ được ghi nhận, với tốc độ ngưng kết tối đa ứng với nồng độ quinidine thấp nhất. Bằng cách theo dõi sự thay đổi ánh sáng tán xạ hay hấp thụ sẽ ghi được một đường cong phụ thuộc nồng độ (đường chuẩn).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;

- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng quinidine;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.

- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;

- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.

- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{g/mL}$ hoặc mg/L .

4.2.5. Biện luận kết quả

Có thể tham khảo: hiệu quả làm giảm các cơn co thắt tâm thất sớm với nồng độ $< 3,1 \mu\text{mol/L}$, ngưỡng độc tính ở nồng độ $18,5 \mu\text{mol/L}$.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Selen (Se): $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (đo quang phổ hấp thụ nguyên tử)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ selen (Se) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng selen trong huyết thanh/ huyết tương bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử: Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử selen tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn cathode rỗng tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: ống graphite, nắp than chì, giá đỡ than chì, đèn D2, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động/ bán tự động;
- Đầu côn chống dính chuyên sử dụng cho máy định lượng kim loại;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;

- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng hóa chất, bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Đèn cathode rỗng đơn nguyên tố (single-element HCL) hoặc đa nguyên tố (multi-element HCL) bao gồm nguyên tố selen;
- Khí trơ có độ tinh khiết cao: ví dụ khí argon;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống và nước rửa: Triton X-100, antifoam B, acid nitric đặc 69%, dung dịch palladium 0,1%, nước khử ion, ...

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: máy quang phổ hấp thụ nguyên tử;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Tủ hấp tiệt trùng;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc mg/dL .

4.2.5. Biện luận kết quả

Thiếu selen liên quan đến bệnh cơ tim, yếu cơ vân, viêm xương khớp, ... Có mối liên quan nghịch giữa Se hấp thu và một số loại ung thư.

Ngộ độc selen trong trường hợp cấp tính gây các triệu chứng nôn, buồn nôn, tiêu chảy, mạch nhanh, ... ; trong ngộ độc mạn, gây rụng tóc, mất móng, tổn thương da, răng, bất thường hệ thần kinh, ...

Selen sulfid có thể gây ung thư.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- F Čuparigova, T Stafilov (2011). Determination of Selenium in Human Blood Serum by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. Chemical Sciences Journal CSJ-46: 1-8.
- Myriam El Ati-Hellal, Fayçal Hellal, Abderrazek Hedhili (2014). Application of Plackett–Burman and Doehlert designs for optimization of selenium analysis in plasma with electrothermal atomic absorption spectrometry. Clinical Biochemistry 47(15): 95–100.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

L-FABP (liver fatty acid-binding protein): $\mu\text{g/L}$: nước tiểu: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ L-FABP (liver fatty acid-binding protein, protein gắn acid béo typ gan) trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ L-FABP niệu theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như miễn dịch đo độ đục, miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

L-FABP trong mẫu kết hợp với kháng thể kháng L-FABP hấp thụ trên các hạt latex có trong thuốc thử, hình thành ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết này gây ra thay đổi độ hấp thụ ở bước sóng nhất định, tỷ lệ với lượng L-FABP trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng L-FABP;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL hoặc $\mu\text{g/g}$ creatinin.

4.2.5. Biện luận kết quả

L-FABP niệu được bài tiết từ ống lượn gần do quá trình stress oxy hóa hoặc thiếu máu thận. L-FABP tăng trong tổn thương và rối loạn chức năng ống thận, gặp

trong suy tim cấp, hội chứng mạch vành cấp, nhiễm khuẩn huyết, ... Đây là một dấu ấn sinh học giúp chẩn đoán sớm bệnh thận mạn có kèm theo rối loạn chức năng ống thận, phản ánh tiến trình bệnh và hiệu quả điều trị bệnh thận do đái tháo đường, dự đoán rối loạn vi tuần hoàn (thiếu máu cục bộ) ở thận, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Pancreatic elastase: $\mu\text{g/mL}$: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ pancreatic elastase trong phân người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ pancreatic elastase trong phân người theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Lọ đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy mẫu bệnh phẩm phân;
- Cân;
- Bộ dụng cụ tách chiết phân;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;

- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng pancreatic elastase trong phân;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: máy lắc ủ, máy rửa, máy đo quang, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm;
- Máy lắc trộn;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: phân.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: lọ đựng phân, dung dịch pha loãng, bộ dụng cụ đặc biệt để đồng bộ mẫu.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: phân/ mẫu phân tách chiết.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: dụng cụ đựng mẫu phân tách chiết.
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 05 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;

- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/mL}$ hoặc $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Pancreatic elastase trong phân tăng phản ánh khả năng bài tiết của tụy. Pancreatic elastase được sử dụng trong:

- Chẩn đoán/ loại trừ suy tụy ngoại tiết trong trường hợp tiêu chảy không rõ nguyên nhân, táo bón, tiêu chảy phân mỡ, chướng bụng, giảm cân, đau bụng trên, không dung nạp thức ăn, ...
- Theo dõi chức năng tụy ngoại tiết trong bệnh xơ hóa nang, đái tháo đường, viêm tụy mạn, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

**IFAb (anti-intrinsic factor antibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương:
Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)**

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ IFAb (anti-intrinsic factor antibodies, kháng thể kháng yếu tố nội dạ dày) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ IFAb huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang như sau:

Mẫu được cho vào phản ứng cùng thuốc thử. Phức hợp IF-ALP trong thuốc thử sẽ gắn với IFAb trong mẫu và kháng thể đơn dòng trên các hạt thuận từ. Sau khi ủ, các thành phần gắn trên hạt thuận từ được giữ trong từ trường, trong khi đó các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, cơ chất hóa phát quang được thêm vào và ánh sáng phát ra trong phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang. Cường độ ánh sáng tỷ lệ với nồng độ IFAb trong mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: điện cực, cốc phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm IFAb;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Kết quả cao hơn ngưỡng cut-off được coi là Dương tính.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả bán định lượng theo đơn vị kU/L hoặc AU/mL, hoặc báo cáo kết quả Âm tính hoặc Dương tính.

4.2.5. Biện luận kết quả

IF (intrinsic factor, yếu tố nội dạ dày) là một loại protein do các tế bào trong dạ dày tiết ra, giúp vitamin B12 được hấp thụ vào máu. Trong khi đó, IFAb ngăn chặn vitamin B12 được hấp thụ, dẫn đến thiếu hụt vitamin B12. IFAb chủ yếu được sử dụng để chẩn đoán thiếu máu ác tính, giúp xác định nguyên nhân thiếu hụt vitamin B12, theo dõi tình trạng bệnh, điều trị và phát hiện các rối loạn tự miễn có liên quan.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ... Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

Kết quả xét nghiệm bị ảnh hưởng trong trường hợp người bệnh mới tiêm vitamin B12 trong vòng 1 tuần.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Anti-GAD65 (anti-glutamic acid decarboxylase 65 antibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ kháng thể kháng glutamic acid decarboxylase 65 (anti-GAD65) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ anti-GAD65 trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang, ...

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giềng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;

- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng anti-GAD65;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 05 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị kU/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Anti-GAD65 thường tăng trong các bệnh đái tháo đường, có giá trị tiên đoán cho các thành viên trong gia đình bị đái tháo đường type 1.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

**GADA (glutamic acid decarboxylase autoantibodies): kU/L: huyết thanh/
huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)**

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ GADA (glutamic acid decarboxylase autoantibodies, tự kháng thể kháng glutamic acid decarboxylase, chủ yếu là GAD65 autoantibodies) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ GADA trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ ELISA như sau:

GADA trong mẫu tạo phức hợp “sandwich” với GAD65 phủ trên khay vi giếng và GAD65-biotin. Xác định phức hợp này bằng cách thêm streptavidin peroxidase gắn đặc hiệu với biotin, và sử dụng cơ chất 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine để tạo phức hợp màu xanh. Thêm dung dịch dừng phản ứng, màu hỗn hợp trong giếng chuyển sang vàng. Nồng độ GADA trong mẫu tỷ lệ với độ hấp thụ quang của sản phẩm tạo thành, được đo ở bước sóng thích hợp.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;

- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng GADA;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;

- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị kU/L hoặc U/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

GADA là một tự kháng thể chống lại các tế bào beta của tiểu đảo tụy, gặp ở một tỷ lệ lớn bệnh nhân đái tháo đường typ 1. Kết hợp xét nghiệm các tự kháng thể kháng GAD65 và IA2 giúp đánh giá nguy cơ đái tháo đường typ 1 ở trẻ em và thanh thiếu niên.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IA2A (islet antigen 2 autoantibodies): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ IA2A (islet antigen 2 autoantibodies), còn gọi là tự kháng thể kháng IA2 hoặc ICA512 (islet cell antigen 512) hoặc PTPRN (protein-tyrosine phosphatase, receptor-type, N) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IA2A trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) như sau:

IA2A trong mẫu tạo phức hợp “sandwich” với IA2 phủ trên khay vi giếng và IA2–biotin. Xác định phức hợp này bằng cách thêm streptavidin peroxidase gắn đặc hiệu với biotin, và sử dụng cơ chất 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine để tạo phức hợp màu xanh. Thêm dung dịch dừng phản ứng, màu hỗn hợp trong giếng chuyển sang vàng. Nồng độ IA2A trong mẫu tỷ lệ với độ hấp thụ quang của sản phẩm tạo thành, được đo ở bước sóng thích hợp.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;

- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IA2A;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;

- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị kU/L hoặc U/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

IA2A là một tự kháng thể chống lại kháng nguyên tế bào tiêu đảo tụy, xuất hiện trong các trường hợp đái tháo đường typ 1 mới khởi phát hoặc tiền đái tháo đường. Kết hợp xét nghiệm các tự kháng thể kháng GAD65 và IA2 giúp đánh giá nguy cơ đái tháo đường typ 1 ở trẻ em và thanh thiếu niên.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Calprotectin: $\mu\text{g/g}$: phân: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ calprotectin trong phân người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ calprotectin trong phân người theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang dạng “sandwich” như sau:

Đầu tiên, calprotectin được tách chiết từ hỗn hợp của mẫu phân với đệm tách chiết. Mẫu đã tách chiết/ chất hiệu chuẩn/ chất kiểm chứng được ủ với đệm xét nghiệm và hạt từ phủ kháng thể đơn dòng nhận diện đặc hiệu phức hợp calprotectin. Sau khi ủ, tất cả những vật liệu không tham gia liên kết sẽ được loại bỏ bằng chu trình rửa. Tiếp đó, chất cộng hợp (kháng thể đơn dòng nhận diện calprotectin gắn với một dẫn xuất isoluminol) được thêm vào phản ứng và ủ. Các thành phần không tham gia liên kết sẽ được loại bỏ bằng chu trình rửa thứ hai. Sau đó, cơ chất được thêm vào và phản ứng hóa phát quang bắt đầu. Tín hiệu ánh sáng được đo bởi bộ phận nhân quang dưới dạng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU) và tỷ lệ thuận với nồng độ calprotectin có trong chất hiệu chuẩn/ chất kiểm chứng/ mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Lọ đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy mẫu bệnh phẩm phân;
- Cân;

- Bộ dụng cụ tách chiết phân;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng calprotectin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm;
- Máy lắc trộn;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: phân.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: lọ đựng phân, dung dịch pha loãng, bộ dụng cụ đặc biệt để đồng bộ mẫu.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: phân/ mẫu phân tách chiết.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: dụng cụ đựng mẫu phân tách chiết.
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tách chiết phân.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/g}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Calprotectin là một phức hợp protein có khả năng kìm chế sự phát triển của vi khuẩn, chiếm hơn 60% tổng số protein trong bào tương của bạch cầu trung tính, xâm nhập vào niêm mạc ruột như một phần của đáp ứng viêm. Do đó, các bệnh đường tiêu hóa thường gây tăng calprotectin trong phân. Nồng độ calprotectin trong phân phản ánh số lượng bạch cầu xuất hiện và cung cấp thông tin giá trị cho tình trạng viêm đường tiêu hóa.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Immunoglobuline G subclass IgG1/ IgG2/ IgG3/ IgG4: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ immunoglobuline G subclass IgG1/IgG2/IgG3/IgG4 (các dưới lớp của globulin miễn dịch G) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng IgG subclass (IgG1/IgG2/IgG3/IgG4) theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

IgG subclass trong mẫu kết hợp với kháng thể đặc hiệu phủ trên bề mặt vi hạt trong thuốc thử, tạo các ngưng kết làm dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgG subclass có trong mẫu tỷ lệ thuận với độ đục được tạo ra.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;

- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgG subclass;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông/không chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L hoặc mg/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Ở người lớn bình thường, IgG chiếm khoảng 75% tổng immunoglobulin trong huyết thanh. Trong các phân nhóm IgG, thứ tự bình thường của nồng độ 4 phân nhóm là $IgG1 > IgG2 > IgG3 > IgG4$, nhưng nồng độ thực sự của mỗi IgG subclass có thể khác nhau đáng kể giữa các cá nhân.

Mức bất thường của một hoặc nhiều phân nhóm có thể liên quan với những tình trạng bệnh lý nhất định, bao gồm quá mẫn, tự miễn và bệnh gout cũng như thiếu hoặc cường gammaglobulin máu. Giảm nồng độ IgG2 ở trẻ em liên quan với nhiễm khuẩn tái diễn, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

**LBP (lipopolysaccharide-binding protein): mg/L: huyết thanh/ huyết tương:
Định lượng (hóa sinh miễn dịch)**

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ LBP (lipopolysaccharide-binding protein) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ LBP trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang như sau:

LBP trong mẫu gắn với kháng thể kháng LBP để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được xác định nhờ chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ với nồng độ LBP có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng LBP;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông/không chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L hoặc µg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong nhiễm khuẩn huyết, nhiễm trùng dạ dày, màng não cầu huyết, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IL-2R (interleukin-2 receptor): ng/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ IL2-R (interleukin 2 receptor) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IL2-R trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ ELISA như sau:

Trong khay vi giếng được phủ sẵn một lượng IL2-R, IL2-R trong mẫu sẽ cạnh tranh với IL2-R gắn trên pha rắn để liên kết với kháng thể đặc hiệu gắn biotin. Sau đó, các chất không gắn với pha rắn được loại bỏ bằng phương pháp rửa. Sau khi ủ phức hợp kháng nguyên-kháng thể với chất liên hợp avidin-horseradish peroxidase, cơ chất được thêm vào và phức hợp liên kết với pha rắn được phát hiện nhờ phản ứng enzym tạo màu. Phản ứng được theo dõi độ hấp thụ quang ở bước sóng thích hợp. Nồng độ IL2-R trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đã xây dựng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giếng phản ứng, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IL2-R;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông/không chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị ng/L hoặc pg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong ung thư, bệnh tự miễn, ghép nội tạng và nhiễm trùng khác, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

RBP (retinol-binding protein): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ RBP (retinol-binding protein, protein gắn retinol) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ RBP trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

RBP trong mẫu kết hợp với kháng thể đặc hiệu trong thuốc thử, tạo thành phức hợp miễn dịch. Những phức hợp này làm phân tán một chùm ánh sáng truyền qua mẫu. Cường độ ánh sáng tán xạ tỷ lệ thuận với nồng độ RBP trong mẫu. Kết quả được xác định dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng RBP;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L hoặc mg/dL hoặc µg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Do thời gian bán hủy ngắn (khoảng 12 giờ), RBP có thể phù hợp để theo dõi tình trạng dinh dưỡng và hiệu quả của dinh dưỡng qua đường tĩnh mạch. Ngoài ra

mức nồng độ thấp của RBP huyết thanh/ huyết tương có thể gặp trong thiếu vitamin A, xơ gan, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.

- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

AFP-L3: %: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

AFP-L3 (Alpha-fetoprotein Lens culinaris agglutinin 3) là một đồng đẳng của AFP, được sản xuất bởi các tế bào gan ác tính, gắn vào lectin Lens Culinaris Agglutinin (LCA) với ái lực cao và là dạng chủ yếu được thấy ở các người bệnh bị ung thư biểu mô tế bào gan.

Kỹ thuật nhằm mục đích định lượng phần trăm AFP-L3 trong tổng lượng AFP trong huyết thanh/ huyết tương người, giúp đánh giá sớm nguy cơ phát triển ung thư biểu mô tế bào gan, đặc biệt ở những bệnh nhân bị bệnh gan mạn, đánh giá đáp ứng đối với điều trị hoặc để theo dõi tái phát ung thư biểu mô tế bào gan.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng phần trăm AFP-L3 trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang kết hợp điện di miễn dịch trên vi chip. Các phản ứng kháng nguyên – kháng thể diễn ra trong pha lỏng, hỗn hợp sau đó được phân tách, điện di và đo cường độ huỳnh quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm AFP-L3;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị % (so với tổng lượng AFP).

4.2.5. Biện luận kết quả

AFP-L3 có thể được dùng để phân biệt sự gia tăng AFP trong các trường hợp ung thư biểu mô tế bào gan với các trường hợp u lành tính ở gan.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

SAA (serum amyloid A): mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ SAA (serum amyloid A) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ SAA trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như miễn dịch đo độ đục, miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang như sau:

SAA trong mẫu gắn với kháng thể kháng SAA để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được xác định nhờ chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ với nồng độ SAA có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng SAA;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông/không chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L hoặc µg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Có thể tham khảo: với nhóm người có protein phản ứng C (C-reactive protein: CRP) huyết thanh ở mức bình thường (5,0 mg/L), giá trị tham chiếu của SAA là 6,4 mg/L. SAA giúp đánh giá và theo dõi quá trình viêm. SAA cho nhiều kết luận hơn so với CRP ở những bệnh nhân nhiễm virus, phản ứng thải ghép thận (đặc biệt đối với bệnh nhân suy giảm miễn dịch), bệnh xơ nang điều trị với corticoid. Trong trường hợp viêm khớp, SAA có mối tương quan mật thiết với hoạt động của bệnh. Xác định đồng thời hai chỉ số CRP và SAA có thể làm tăng độ nhạy cho chẩn đoán. Đối với bệnh amyloidosis, tình trạng bệnh có thể được cải thiện bởi liệu pháp giúp đưa mức SAA trở về giá trị bình thường.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Hemopexin: g/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ hemopexin trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ hemopexin trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ ELISA như sau:

Mẫu được cho vào giếng đã phủ sẵn kháng thể đặc hiệu với hemopexin. Sau khi ủ và rửa bỏ các chất không gắn với pha rắn, hemopexin gắn biotin được thêm vào sẽ cạnh tranh với hemopexin của mẫu để kết hợp với kháng thể kháng hemopexin và chất liên hợp streptavidin-peroxidase. Sau khi rửa bỏ các thành phần không kết hợp, cơ chất của phản ứng xúc tác bởi peroxidase được thêm vào, tạo ra màu của dung dịch phản ứng. Sau khi cho dung dịch ngừng phản ứng, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 450 nm, từ đó xác định được nồng độ hemopexin trong mẫu dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;

- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng hemopexin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đọc ELISA, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;

- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu có chất chống đông/không chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L hoặc mg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Hemopexin là glycoprotein gắn hem, tạo hàng rào bảo vệ chống lại tổn thương oxy hóa qua trung gian hemoglobin khi có tan máu nội mạch. Hemopexin phản ánh lượng hem trong máu. Nồng độ thấp chỉ ra có sự thoái hóa đáng kể các hợp chất chứa nhân hem ví dụ như các trường hợp tán huyết, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Acylcarnitin: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ acylcarnitin trong huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ acylcarnitin trong huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô theo nguyên lý sắc ký khối phổ. Ví dụ phương pháp sắc ký lỏng – khối phổ đôi (liquid chromatography – tandem mass spectrometry: LC-MS/MS) như sau:

Sắc ký lỏng giúp phân tách các thành phần của hỗn hợp, sau đó nhận danh và định lượng các thành phần này bằng đầu dò khối phổ. MSMS tạo ra các phân tử tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phân tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh, có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng acylcarnitin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: hệ thống LC-MS/MS, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;

- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần/ máu thấm khô.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông, hoặc giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh/ huyết tương/ dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Các bệnh lý gây bất thường nồng độ carnitin/ acylcarnitin:

Carnitin/ acylcarnitin	Bệnh
Carnitin (total)	Khiếm khuyết vận chuyển carnitin
Acetyl (C2)	Thiếu hụt hoặc giảm carnitin
Propionyl (C3)	Propionic acidemia; Methylmalonic acidemia Thiếu hụt Holocarboxylase Thiếu hụt Biotinidase
Butyryl/Isobutyryl (C4)	Thiếu hụt SCAD Thiếu hụt SCAD (thể nhẹ) Thiếu hụt Isobutyryl-CoA dehydrogenase; Thiếu hụt multiple acyl-CoA dehydrogenase (MAD)
Tiglyl/3-Methylcrotonyl (C5:1)	Thiếu hụt 3-Oxothiolase; 3-MCC
Isovaleryl/2-Methylbutyryl (C5)	Isovaleric acidemia Thiếu hụt 2-Methylbutyryl-CoA dehydrogenase Thiếu hụt MAD
3-Hydroxyisovaleryl (C5-OH)	Thiếu hụt 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase (3-MCC) Thiếu hụt 3-OH-3-methylglutaryl-CoA (HMGCoA) lyase Thiếu hụt Holocarboxylase Thiếu hụt Biotinidase
3-Hydroxy-2-Methylbutyryl (C5-OH)	Thiếu hụt 3-Oxothiolase
Methylmalonyl (C4-DC)	MMA
Glutaryl (C5-DC)	Glutaric acidemia, type I (GA-I)
Hexanoyl (C6)	Thiếu hụt MCAD; Thiếu hụt MAD
Octanoyl (C8)	Thiếu hụt MCAD; Thiếu hụt MAD
Decenoyl (C10:1)	Thiếu hụt MCAD
Methylglutaryl (C6-DC)	Thiếu hụt HMG-CoA lyase
Decanoyl (C10)	Thiếu hụt MAD
Dodecanoyl (C12)	Thiếu hụt MAD
Tetradecenoyl (C14:2)	Thiếu hụt VLCAD
Tetradecenoyl (C14:1)	Thiếu hụt VLCAD
Tetradecanoyl (C14)	Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt MAD

Carnitin/ acylcarnitin	Bệnh
Palmitoyl (C16)	Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt CPT-II; Thiếu hụt CAT; Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt MAD; Thiếu hụt CPT-I
Linoleoyl (C18:1)	Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt CPT-II; Thiếu hụt CAT; Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt CPT-I
3-Hydroxypalmitoyl (C16-OH)	Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt TFP
3-Hydroxylinoleoyl (C18:1-OH)	Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt TFP

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Acid amin và acylcarnitin: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ acid amin và acylcarnitin trong huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô của người để sàng lọc các bệnh rối loạn chuyển hóa (RLCH) bẩm sinh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ acid amin và acylcarnitin trong huyết thanh/ huyết tương/ máu thấm khô theo nguyên lý sắc ký khối phổ. Ví dụ phương pháp sắc ký lỏng – khối phổ đôi (liquid chromatography – tandem mass spectrometry: LC-MS/MS) như sau:

Sắc ký lỏng giúp phân tách các thành phần của hỗn hợp, sau đó nhận danh và định lượng các thành phần này bằng đầu dò khối phổ. MSMS tạo ra các phân tử tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phân tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh, có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;

- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng acid amin và acylcarnitin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: hệ thống LC-MS/MS, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;

- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần/ máu thấm khô.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông, hoặc giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh/ huyết tương/ dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

TT	Bệnh RLCH	Chỉ điểm 1	Chỉ điểm 2	Tỷ lệ	Bệnh có cùng chỉ điểm
1	Argininosuccinic acidemia	Asa↑	Cit ↑		CIT typ I, typ II
2	Citrullinemia type I	Cit↑		Cit/Arg	ASA
3	Homocystine niệu (thiếu CBS)	Met↑		Met/Phe	—
4	Bệnh siro niệu	Val ↑, Leu↑		Val/Phe, (Ile+Leu)/Phe, (Ile+Leu)/Ala	—
5	Phenylketon niệu kính điển	Phe↑	Tyr ↓/ bt	Phe/Tyr	—
6	Tyrosinemia type I	Succinyl acetone ↑	Tyr bt/ ↑	Tyr/Cit	—
7	Argininemia	Arg↑		—	—
8	Tăng phenylalanine máu lành tính	Phe↑		Phe/Tyr	PKU
9	Citrullinemia type II	Cit↑		Cit/Arg	ASA, CIT typ I
10	Giảm sinh tổng hợp cofactor biopterin	Phe↑		Phe/Tyr	PKU
11	Rối loạn tái sinh cofactor biopterin	Phe↑		Phe/Tyr	PKU
12	Tăng methionine máu	Met↑		Met/Phe	HCY
13	Tyrosinemia type II	Tyr↑		Tyr/Cit	TYR I, III
14	Tyrosinemia type III	Tyr↑		Tyr/Cit	TYR I, II
15	Tăng glycine máu không nhiễm ceton	Gly↑		Gly/Ala	—

16	Thiếu hụt Pyruvate carboxylase	Cit↑		Cit/Arg	ASA
17	Khiếm khuyết hấp thu carnitine	C0↓, C16- C18↓		(C0+C2+C3+C 16+C18:1/CIT	GA I, 3MCC(mat)
18	Thiếu enzym Long-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase	C16:1- OH, C16-OH, C18:1- OH, C18-OH		C16-OH/C16	TFP
19	Thiếu enzyme Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase	C6, C8, C10:1, C10		C8/C2, C8/C10	GA2, MCKAT
20	Thiếu Trifunctional protein	C16:1- OH, C16-OH, C18:1- OH, C18-OH,		C16-OH/C16	LCHAD
21	Thiếu enzyme Very long-chain acyl-CoA dehydrogenase.	C14:2, C14:1, C14		C14:1/C16	
22	Thiếu Dienoyl reductase	C10:2		C10:2/C10	
23	Thiếu Carnitine palmitoyl- transferase Ia (L)	C0 (cao), C16 (thấp), C18 (thấp)		C0/(C16+C18)	–
24	Thiếu Carnitine palmitoyl- transferase II	C16, C18:2, C18:1, C18		C0/(C16+C18)	CAC
25	Glutaric acidemia type II	C4–C18 bão hòa			SCAD, IBG, EE

		và không bão hòa			
26	Thiếu enzyme Medium/short- chain 3-OH acyl- CoA dehydrogenase	C4OH		—	—
27	Thiếu enzyme Medium-chain ketoacyl-CoA dehydrogenase	C8		C8/C2, C8/C10	—
28	Thiếu enzyme Short-chain acyl- CoA dehydrogenase	C4		C4/C2, C4/C3, C4/C8	GA II, IBG, EE
29	Thiếu Acyl- carnitine translocase	C16, C18:2, C18:1, C18		C0/(C16+C18)	CPT II
30	Thiếu 3-Methyl crotonyl-CoA carboxylase	C5OH		C5OH/C8, C5OH/C0	MCD, HMG, BKT, 2M3HBA, 3MGA
31	Chứng 3-Hydroxy 3-methyl Glutaric niệu	C5OH, C6DC		C5OH/C8	MCD, MCD, BKT, 2M3HBA, 3MGA
32	Thiếu Beta- ketothiolase	C5:1, C5OH		C5OH/C8	3MCC, MCD, HMG, 2M3HBA, 3MGA
33	Glutaric acidemia type I	C5DC		C5DC/C5OH, C5DC/C8, C5DC/C16	GA 2
34	Isovaleric acidemia	C5		C5/C0, C5/C2, C5/C3	2MBG, GA2, EE
35	Methylmalonic acidemia (A,B)	C3		C3/C2, C3/C16	MUT PA, Cbl C,D

36	Methylmalonic acidemia (Mut)	C3		C3/C2, C3/C16	Cbl A,B PA
37	Thiếu Multiple carboxylase	C5OH		C5OH/C8	3MCC
38	Propionic acidemia	C3		C3/C2, C3/C16	MUT
39	Chứng 2-Methyl 3 hydroxy butyric niệu	C5OH		C5OH/C8	3MCC
40	Thiếu 2-Methylbutyryl CoA dehydrogenase	C5		C5/C0, C5/C2, C5/C3	IVA
41	Chứng 3-Methyl glutaconic niệu	C5OH		C5OH/C8	3MCC
42	Thiếu Isobutyryl-CoA dehydrogenase	C4		C4/C2, C4/C3, C4/C8	—
43	Chứng Malonic niệu	C3DC		C3DC/C10	—
44	Methylmalonic acidemia (C,D)	C3		C3/C2, C3/C16, C3/Met	MUT
45	Bệnh não do Ethylmalonic	C4, C5			IVA

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Sàng lọc 4 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào: $\mu\text{mol/L/giờ}$: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt độ enzym α -L-iduronidase, α -D-glucosidase, β -glucocerebrosidase và α -D-galactosidase A từ mẫu máu thấm khô của trẻ sơ sinh giúp sàng lọc phát hiện các bệnh rối loạn dự trữ lysosome (lysosomal storage disorders, LSD) tương ứng: Mucopolysaccharidosis type I, Pompe, Gaucher và Fabry.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo hoạt độ các enzym trong máu thấm khô theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang như sau:

Các mẫu máu sau khi được đục lỗ sẽ được chiết tách bằng dung dịch chiết tách trong các đĩa 96 giếng. Các mẫu máu sau khi được chiết tách sẽ được chuyển sang khay mẫu lưu kỹ thuật số; tại đây, mẫu máu chiết tách được trộn với thuốc thử đặc hiệu với enzym và ủ. Cơ chất huỳnh quang sử dụng 4-methylumbelliferone (4-MU). Các chất nền bị thủy phân bởi enzym tương ứng ở điều kiện pH có tính acid nhằm giải phóng 4-MU tự do. Tất cả các phản ứng enzym được thực hiện ở 37°C. Sau thời gian ủ, 4-MU tự do sẽ được đo bằng máy đo huỳnh quang trên thiết bị sau khi dừng phản ứng bằng dung dịch dừng phản ứng có pH cao. Giá trị huỳnh quang của sản phẩm 4-MU được chuyển đổi thành đường cong hiệu chuẩn. Lượng 4-MU được tạo ra sau khi hiệu chỉnh nền cơ chất và thủy phân không enzym sẽ tỷ lệ thuận với hoạt độ enzym. Hoạt độ enzym được báo cáo bằng số micromol 4-MU sinh ra trên một lít máu trong mỗi giờ ủ.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ thuốc thử sàng lọc 4 bệnh LSD trong mẫu máu thấm khô;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đo huỳnh quang, ...;

- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 04 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử.
- Đưa mẫu đã qua tiền xử lý vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Giá trị huỳnh quang được chuyển thành hoạt độ enzym (số μmol cơ chất bị thủy phân trên một lít máu trong một giờ ủ) bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả đo hoạt độ theo đơn vị $\mu\text{mol/L/giờ}$.

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

- Các mẫu có kết quả xét nghiệm ban đầu nằm trên điểm giới hạn đối với tất cả 4 enzym được coi là nguy cơ thấp và trả kết quả là bình thường. Có thể trả kết quả cho bệnh nhân.
- Các mẫu có ít nhất một enzym nằm dưới điểm giới hạn cần được chạy lặp lại 2 lần. Ba kết quả thu được sẽ được đánh giá tìm điểm ngoại lai, nếu có xur xuất hiện giá trị ngoại lai sẽ được chạy thêm xét nghiệm bổ sung. Nếu trung bình của tất cả các lần chạy (đã loại bỏ giá trị ngoại lai) cao hơn điểm cắt nguy cơ cao thì mẫu được trả kết quả là bình thường.
- Nếu giá trị trung bình của tất cả các xét nghiệm thấp hơn điểm cắt nguy cơ cao thì sẽ tiến hành đánh giá nguy cơ bằng cách đánh giá tình trạng sức khỏe của trẻ sơ sinh, kết quả xét nghiệm lại từ các mẫu bổ sung. Chi tiết đánh giá nguy cơ như sau:
 - + Tình trạng sức khỏe của trẻ sơ sinh: tất cả các mẫu máu thấm khô thu thập từ trẻ sinh non, trẻ bị bệnh/ phải truyền máu hoặc trẻ mới sinh < 24 giờ buộc phải lấy lại mẫu, vì những trường hợp này sẽ làm cho kết quả sàng lọc sơ sinh không đáng tin cậy.
 - + Các mẫu bổ sung: trẻ sơ sinh được phân loại nguy cơ thấp nếu các mẫu bổ sung cho kết quả xét nghiệm bình thường.
 - + Mẫu chất lượng kém (nhiều kết quả enzym thấp): khi các mẫu có nhiều kết quả dưới điểm cắt nguy cơ cao và ít nhất một enzym khác nằm dưới điểm cắt giới hạn thì có thể do chất lượng mẫu kém và cần lấy lại mẫu.

4.2.5. Biện luận kết quả

Các bệnh rối loạn dự trữ lysosome (LSD) là một nhóm khoảng 50 bệnh rối loạn chuyển hóa hiếm gặp do suy giảm hoặc thiếu chức năng enzym. Nhiều bệnh trong số này có biểu hiện lâm sàng tương tự nhau khiến việc chẩn đoán gặp khó khăn.

Alpha-L-Iduronidase tham gia vào quá trình giáng hóa của heparan và dermatan sulfate, hai glycosaminoglycan có trong hầu hết tất cả các mô cơ thể. Do đó, sự thiếu hụt α -L-iduronidase sẽ gây ra bệnh Mucopolysaccharidosis type I có liên quan đến nhiều hệ cơ quan do sự tích tụ của thành phần glycosaminoglycan không thể giáng hóa trên toàn cơ thể.

Acid alpha-glucosidase (còn được gọi là acid maltase) là một loại enzym được tạo bởi gen GAA hoạt động trong lysosome. Enzym này phân giải glycogen thành glucose, nguồn năng lượng chính cho hầu hết các tế bào. Các đột biến trong gen GAA sẽ cản trở acid alpha-glucosidase phân giải glycogen một cách hiệu quả, làm cho glycogen tích tụ trong lysosome đến mức độ gây hại. Sự tích tụ này sẽ phá hủy các cơ quan và mô trên khắp cơ thể, đặc biệt là các cơ, dẫn đến các dấu hiệu và triệu chứng của bệnh Pompe.

Beta-glucocerebrosidase (còn gọi là acid β -glucosidase) là một enzym có hoạt độ glucosylceramidase cần thiết để phá vỡ liên kết beta-glucosid của glucocerebrosid, một chất trung gian trong quá trình chuyển hóa glycolipid. Các đột biến trong gen GBA gây nên thiếu hụt enzym này có liên quan đến bệnh Gaucher.

Alpha-galactosidase là một enzym glycosid hydrolase giúp thủy phân các gốc alpha-galactosyl cuối cùng từ các glycolipid và glycoprotein. Enzym này được mã hóa bởi gen GLA. Sự thiếu hụt enzym này có liên quan đến bệnh Fabry, một bệnh hiếm gặp gây rối loạn dự trữ lysosome di truyền liên kết nhiễm sắc thể X.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

Heparin có thể ảnh hưởng đến hoạt độ của enzym. Xử trí: tuân thủ quy trình lấy mẫu, không được lấy máu từ các ống nghiệm chuyển sang giấy thấm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- CLSI (2013). Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard – Sixth Edition; CLSI Document NBS01-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI (2010). Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry; Approved Guideline; CLSI Document NBS04-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Sàng lọc 6 bệnh rối loạn dự trữ thể tiêu bào: $\mu\text{mol/L/giờ}$: máu thấm khô: Đo hoạt độ (đo khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt độ enzym acid- β -glucocerebrosidase (ABG), acid-sphingomyelinase (ASM), acid- α -glucosidase (GAA), β -galactocerebrosidase (GALC), α -galactosidase A (GLA) và α -L-iduronidase (IDUA) từ mẫu máu thấm khô của trẻ sơ sinh giúp sàng lọc phát hiện các bệnh rối loạn dự trữ lysosome (lysosomal storage disorders, LSD) tương ứng: Gaucher, Niemann-Pick A/B, Pompe, Krabbe, Fabry và Mucopolysaccharidosis type I.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hoạt độ enzym được đánh giá bằng cách đo sản phẩm tạo ra khi enzym phản ứng với cơ chất để tạo ra sản phẩm đặc hiệu. Đo lượng sản phẩm tạo thành theo nguyên lý đo khối phổ, từ đó xác định được hoạt độ enzym. Ví dụ như sau:

Mẫu máu thấm khô sau khi đục lỗ sẽ được ủ với hỗn hợp thuốc thử gồm:

- Sáu cơ chất, mỗi cơ chất tương ứng với mỗi enzym cần đo hoạt độ;
- Sáu chất nội chuẩn được đánh dấu bằng đồng vị ổn định, mỗi chất nội chuẩn được sản xuất giống với từng sản phẩm được tạo ra về mặt hóa học;
- Dung dịch đệm để duy trì pH phản ứng, dung dịch đệm này chứa chất ức chế để hạn chế hoạt độ từ các enzym cạnh tranh (nếu có) và các chất phụ gia để tăng cường các phản ứng enzym cần đo.

Số lượng sản phẩm được tạo ra tỷ lệ thuận với hoạt độ của enzym tương ứng, được đo bằng phương pháp đo khối phổ đôi (MS/MS).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ thuốc thử sàng lọc 6 bệnh LSD trong mẫu máu thấm khô;
- Dung dịch hoà loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu;

- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 20-24 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm (trong đó thời gian ủ là 16-20 giờ).

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử.
- Đưa mẫu đã qua tiền xử lý vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được chuyển thành hoạt độ enzym (số μmol cơ chất bị thủy phân trên một lít máu trong một giờ ủ) bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả đo hoạt độ theo đơn vị $\mu\text{mol/L/giờ}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Alpha-L-iduronidase tham gia vào quá trình giáng hóa của heparan và dermatan sulfat, hai glycosaminoglycan có trong hầu hết tất cả các mô cơ thể. Do đó, sự thiếu hụt α -L-iduronidase sẽ gây ra bệnh Mucopolysaccharidosis type I có liên quan đến nhiều hệ cơ quan do sự tích tụ của thành phần glycosaminoglycan không thể giáng hóa trên toàn cơ thể.

Acid alpha-glucosidase (còn được gọi là acid maltase) là một loại enzym được tạo bởi gen GAA hoạt động trong lysosome. Enzym này phân giải glycogen thành glucose, nguồn năng lượng chính cho hầu hết các tế bào. Các đột biến trong gen GAA sẽ cản trở acid alpha-glucosidase phân giải glycogen một cách hiệu quả, làm cho glycogen tích tụ trong lysosome đến mức độ gây hại. Sự tích tụ này sẽ phá hủy các cơ quan và mô trên khắp cơ thể, đặc biệt là các cơ, dẫn đến các dấu hiệu và triệu chứng của bệnh Pompe.

Beta-glucocerebrosidase (còn gọi là acid β -glucosidase) là một enzym có hoạt độ glucosylceramidase cần thiết để phá vỡ liên kết beta-glucosid của glucocerebrosid, một chất trung gian trong quá trình chuyển hóa glycolipid. Các đột biến trong gen GBA gây nên thiếu hụt enzym này có liên quan đến bệnh Gaucher.

Alpha-galactosidase là một enzym glycosid hydrolase giúp thủy phân các gốc alpha-galactosyl cuối cùng từ các glycolipid và glycoprotein. Enzym này được mã hóa bởi gen GLA. Sự thiếu hụt enzym này có liên quan đến bệnh Fabry, một bệnh hiếm gặp gây rối loạn dự trữ lysosome di truyền liên kết nhiễm sắc thể X.

Enzym sphingomyelinase acid (ASM) giúp chuyển hóa chất béo sphingomyelin được tìm thấy trong mọi tế bào của cơ thể. Sự thiếu hụt enzym này có liên quan đến bệnh Niemann-Pick A/B, khi enzym sphingomyelinase bị thiếu

hạt, sphingomyelin sẽ tích tụ trong các tế bào gây chết tế bào và cản trở hoạt động của các cơ quan.

Enzym galactosylceramidase (GALC) cần thiết để tạo ra lớp bao myelin bao quanh các sợi thần kinh. Rối loạn di truyền không sản xuất được enzym galactosylceramidase gây nên bệnh Krabbe, các tế bào não không được bảo vệ sẽ chết cùng với các dây thần kinh trong não, các bộ phận khác của cơ thể không thể hoạt động bình thường.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian, nhiệt độ và chất bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

Các chất chống đông như EDTA, citrat có thể ảnh hưởng đến hoạt độ của enzym. Xử trí: tuân thủ quy trình lấy mẫu, không được lấy máu từ các ống nghiệm chuyển sang giấy thấm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- CLSI (2013). Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs; Approved Standard – Sixth Edition; CLSI Document NBS01-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI (2010). Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry; Approved Guideline; CLSI Document NBS04-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

HVA (homovanillic acid): $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ HVA (homovanillic acid) trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ HVA niệu theo nguyên lý sắc ký khối phổ.

Ví dụ phương pháp sắc ký khí – khối phổ (gas chromatography – mass spectrometry: GC-MS) như sau:

Mẫu sau khi tiền xử lý sẽ được đưa vào máy phân tích. HVA được phân tách bởi quá trình sắc ký khí sẽ được chuyển sang bộ phận đo khối phổ. HVA ở dạng khí sẽ được ion hoá chuyển vào vùng điện từ trường để xác định tỷ lệ khối lượng trên điện tích của ion.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cột, bình khí, lọ thủy tinh có nắp xoáy, ống đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng HVA;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu ngẫu nhiên hoặc nước tiểu 24 giờ (24h).
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng bệnh phẩm nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{mol/24h}$ hoặc mg/L hoặc mg/24h .

4.2.5. Biện luận kết quả

Acid homovanillic (HVA) và các chất chuyển hóa catecholamine khác (acid vanillylmandelic [VMA] và dopamine) thường tăng ở những bệnh nhân có khối u tiết catecholamine (ví dụ, u nguyên bào thần kinh, u tế bào ưa crôm và các khối u mào thần kinh khác). Mức HVA và VMA cũng có thể hữu ích trong việc theo dõi những bệnh nhân đã được điều trị do các khối u trên. Xét nghiệm hữu ích để chẩn đoán trẻ em bị rối loạn chuyển hóa catecholamine, chẳng hạn như thiếu hụt monoamine oxidase-A và thiếu hụt dopamine beta-hydroxylase, dẫn đến giá trị HVA trong nước tiểu bất thường ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ...: tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Steroid: $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ steroid trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ steroid niệu theo nguyên lý sắc ký khối phổ. Ví dụ phương pháp sắc ký khí – khối phổ (gas chromatography – mass spectrometry: GC-MS) như sau:

Thủy phân steroid niệu liên hợp bằng enzym glucuronidase và arylsulphatase. Tách chiết steroid tự do bằng cột Bond Elut C18. Làm khô hoàn toàn dung dịch sau tách chiết bằng khí nitơ. Tạo dẫn xuất oxim bằng methoxyamine trong pyridine. Tạo dẫn xuất trimethylsilyl bằng trimethylsilyl imidazol (TMSI). Tách chiết mẫu steroid bằng iso-octan, mẫu được phân tích trên máy GC-MS.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cột Bond Elut C18, septum, liner, cột HP, syring, O-ring, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;

- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm steroid;
- Dung dịch hoà loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí ni-tơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng bệnh phẩm nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu nước tiểu sau tiền xử lý (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 27 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử.
- Đưa mẫu đã qua tiền xử lý vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/mL}$ hoặc $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Định lượng steroid niệu là công cụ hữu ích trong chẩn đoán các rối loạn sinh tổng hợp steroid.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian, nhiệt độ và chất bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- J. W. Honour (2001). Urinary steroid profile analysis. Clin Chim Acta 313(1-2): 45-50.
- Ronda F. Greaves, Ganesh Jevalikar, Jacqueline K. Hewitt, et al (2014). A guide to understanding the steroid pathway: new insights and diagnostic implications. Clin Biochem 47(15): 5-15.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

BTP (beta-trace protein): mg/L: huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ BTP (beta-trace protein, β -trace protein, còn gọi là lipocalin prostaglandin D2 synthase: L-PGDS) trong huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch sinh học) ở người. BTP được tổng hợp chủ yếu ở hệ thần kinh trung ương bởi các tế bào thần kinh đệm và đám rối màng mạch, tạo thành một trong những thành phần thiết yếu của dịch não tủy, do đó là chất chỉ điểm lý tưởng để phát hiện rò rỉ dịch não tủy. Ở bệnh nhân chạy thận nhân tạo, BTP là một chất chỉ điểm cho chức năng thận còn lại, tiên lượng cần phải điều trị thay thế thận.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ BTP trong huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch sinh học theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

BTP trong mẫu phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng BTP phủ trên bề mặt các vi hạt có trong thuốc thử, tạo các ngưng kết gây tán xạ ánh sáng. Cường độ ánh sáng tán xạ tỷ lệ thuận với nồng độ BTP trong mẫu. Kết quả phân tích được xác định dựa trên đường chuẩn đã thiết lập.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng BTP;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu/ nước tiểu/ dịch sinh học.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh/ huyết tương/ nước tiểu/ dịch.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ BTP tăng trong dịch tiết, hoặc tỷ lệ BTP dịch tiết/ BTP huyết thanh ≥ 2 : có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết (ví dụ của tai, mũi, ...).

Nồng độ BTP trong huyết thanh/ huyết tương tăng trong trường hợp chức năng thận còn lại giảm, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IgG kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ globulin miễn dịch IgG có chuỗi nhẹ kappa (IgG kappa) trong huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IgG kappa trong huyết thanh theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Thuốc thử được thêm vào mẫu huyết thanh sẽ gắn đặc hiệu với IgG kappa có trong mẫu, tạo thành phức hợp phản ứng miễn dịch gây ra độ đục.

Khi ánh sáng truyền qua phức hợp phản ứng, một phần ánh sáng được truyền qua và hội tụ vào một photodiode bởi hệ thống thấu kính quang học. Lượng ánh sáng truyền qua gián tiếp tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên trong mẫu. Nồng độ này được tự động tính toán bằng tham chiếu lên đường cong chuẩn đã được lưu trữ trong thiết bị.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgG kappa;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

IgG kappa huyết thanh được sử dụng để theo dõi điều trị bệnh nhân đa u tủy xương IgG được chẩn đoán trước đó và được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IgG lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ globulin miễn dịch IgG có chuỗi nhẹ lambda (IgG lambda) trong huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IgG lambda trong huyết thanh theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Thuốc thử được thêm vào mẫu huyết thanh sẽ gắn đặc hiệu với IgG lambda có trong mẫu, tạo thành phức hợp phản ứng miễn dịch gây ra độ đục.

Khi ánh sáng truyền qua phức hợp phản ứng, một phần ánh sáng được truyền qua và hội tụ vào một photodiode bởi hệ thống thấu kính quang học. Lượng ánh sáng truyền qua gián tiếp tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên trong mẫu. Nồng độ này được tự động tính toán bằng tham chiếu lên đường cong chuẩn đã được lưu trữ trong thiết bị.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgG lambda;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

IgG lambda huyết thanh được sử dụng để theo dõi điều trị bệnh nhân đa u tủy xương IgG được chẩn đoán trước đó và được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IgA kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ globulin miễn dịch IgA có chuỗi nhẹ kappa (IgA kappa) trong huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IgA kappa trong huyết thanh theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Thuốc thử được thêm vào mẫu huyết thanh sẽ gắn đặc hiệu với IgA kappa có trong mẫu, tạo thành phức hợp phản ứng miễn dịch gây ra độ đục.

Khi ánh sáng truyền qua phức hợp phản ứng, một phần ánh sáng được truyền qua và hội tụ vào một photodiode bởi hệ thống thấu kính quang học. Lượng ánh sáng truyền qua gián tiếp tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên trong mẫu. Nồng độ này được tự động tính toán bằng tham chiếu lên đường cong chuẩn đã được lưu trữ trong thiết bị.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgA kappa;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

IgA kappa huyết thanh được sử dụng để theo dõi điều trị bệnh nhân đa u tủy xương IgA được chẩn đoán trước đó và được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IgA lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ globulin miễn dịch IgA có chuỗi nhẹ lambda (IgA lambda) trong huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IgA lambda trong huyết thanh theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Thuốc thử được thêm vào mẫu huyết thanh sẽ gắn đặc hiệu với IgA lambda có trong mẫu, tạo thành phức hợp phản ứng miễn dịch gây ra độ đục.

Khi ánh sáng truyền qua phức hợp phản ứng, một phần ánh sáng được truyền qua và hội tụ vào một photodiode bởi hệ thống thấu kính quang học. Lượng ánh sáng truyền qua gián tiếp tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên trong mẫu. Nồng độ này được tự động tính toán bằng tham chiếu lên đường cong chuẩn đã được lưu trữ trong thiết bị.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgA lambda;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

IgA lambda huyết thanh được sử dụng để theo dõi điều trị bệnh nhân đa u tủy xương IgA được chẩn đoán trước đó và được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IgM kappa: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ globulin miễn dịch IgM có chuỗi nhẹ kappa (IgM kappa) trong huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IgM kappa trong huyết thanh theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Thuốc thử được thêm vào mẫu huyết thanh sẽ gắn đặc hiệu với IgM kappa có trong mẫu, tạo thành phức hợp phản ứng miễn dịch gây ra độ đục.

Khi ánh sáng truyền qua phức hợp phản ứng, một phần ánh sáng được truyền qua và hội tụ vào một photodiode bởi hệ thống thấu kính quang học. Lượng ánh sáng truyền qua gián tiếp tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên trong mẫu. Nồng độ này được tự động tính toán bằng tham chiếu lên đường cong chuẩn đã được lưu trữ trong thiết bị.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgM kappa;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

IgM kappa huyết thanh được sử dụng để theo dõi điều trị bệnh nhân đa u tủy xương IgM được chẩn đoán trước đó và được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IgM lambda: g/L: huyết thanh: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ globulin miễn dịch IgM có chuỗi nhẹ lambda (IgM lambda) trong huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IgM lambda trong huyết thanh theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

Thuốc thử được thêm vào mẫu huyết thanh sẽ gắn đặc hiệu với IgM lambda có trong mẫu, tạo thành phức hợp phản ứng miễn dịch gây ra độ đục.

Khi ánh sáng truyền qua phức hợp phản ứng, một phần ánh sáng được truyền qua và hội tụ vào một photodiode bởi hệ thống thấu kính quang học. Lượng ánh sáng truyền qua gián tiếp tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên trong mẫu. Nồng độ này được tự động tính toán bằng tham chiếu lên đường cong chuẩn đã được lưu trữ trong thiết bị.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng IgM lambda;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị g/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

IgM lambda huyết thanh được sử dụng để theo dõi điều trị bệnh nhân đa u tủy xương IgM được chẩn đoán trước đó và được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lithium: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (điện cực chọn lọc)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ lithium (Li^+) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ lithium trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý điện cực chọn lọc.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: điện cực chọn lọc ion Li^+ , dây bơm, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;

- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng lithium;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm (không sử dụng chất chống đông Li-heparine).
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L hoặc mEq/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Lithium được sử dụng rộng rãi trong điều trị rối loạn tâm thần hưng trầm cảm. Lithium hoạt động bằng cách tăng cường sự hấp thu của chất dẫn truyền thần kinh, gây ra tác dụng an thần trên hệ thần kinh trung ương. Nồng độ lithium huyết thanh chủ yếu được đo để đảm bảo việc tuân thủ và để tránh ngộ độc.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm có tăng lipid máu nội sinh, tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.

- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

FFA (acid béo tự do): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

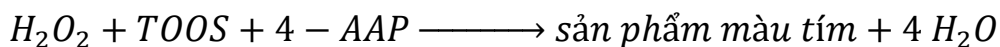
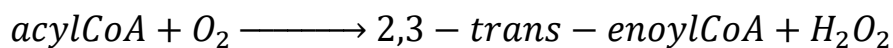
1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ FFA (free fatty acid, acid béo tự do) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ FFA trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp so màu như sau:

FFA có trong bệnh phẩm (dưới dạng acylCoA) phản ứng với hoá chất tạo thành sản phẩm màu. Độ đậm màu được đo ở bước sóng phù hợp, tỷ lệ với nồng độ FFA có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.



2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng FFA;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Giúp đánh giá tình trạng trao đổi chất của bệnh nhân bệnh lý nội tiết, theo dõi kiểm soát bệnh đái tháo đường, theo dõi tác động của việc thay đổi lối sống tập thể dục/ăn kiêng trị liệu, đánh giá rối loạn chuyển hoá thể ceton, rối loạn chuyển hoá lipid và một số rối loạn chuyển hoá khác, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lactat (acid lactic): mmol/L: dịch sinh học: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ lactat trong dịch sinh học ở người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ lactat trong dịch sinh học theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp enzym so màu như sau:

Enzym trong thuốc thử chuyển hóa lactat trong mẫu tạo thành chất màu. Nồng độ lactat trong mẫu tỷ lệ với độ hấp thụ quang của sản phẩm này đo ở bước sóng thích hợp, và được xác định dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: tuân theo quy trình lấy bệnh phẩm cụ thể;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;

- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng lactat;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch sinh học.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy dịch không chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong các trường hợp nhiễm trùng huyết, sốc, nhồi máu cơ tim, suy tim sung huyết nặng, suy thận, hoặc không kiểm soát được bệnh tiểu đường, bệnh viêm màng não, giảm oxy não, phù phổi, thiếu máu cục bộ, loạn dưỡng cơ, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị lẫn hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid, vàng sẫm do tăng bilirubin, đỏ do tan máu, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Alpha-2-macroglobulin: mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ alpha 2-macroglobulin (α 2-macroglobulin) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ α 2-macroglobulin trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

α 2-macroglobulin có trong mẫu phản ứng đặc hiệu với kháng huyết thanh kháng α 2-macroglobulin người có trong thuốc thử. Độ đục do sự hình thành phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể được đo ở bước sóng thích hợp và tỷ lệ thuận với nồng độ α 2-macroglobulin có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng $\alpha 2$ -macroglobulin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L hoặc g/L hoặc mg/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong hội chứng thận hư, xơ gan, bông nặng, đái tháo đường, ...

Giảm trong viêm tụy mạn tính, tiêu sợi huyết, sau đại phẫu, nhiễm trùng máu, suy gan nặng, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ...: tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lipase: U/L: dịch sinh học: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt độ lipase trong dịch sinh học ở người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo hoạt độ lipase trong dịch sinh học theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp enzym so màu động học như sau:

1,2-O-dilauryl-rac-glycerol-3-glutaric-acid-(6-methylresorufin) ester bị lipase có trong mẫu phân cắt thành 1,2-O-dilauryl-rac-glycerol và glutaric acid-(6-methylresorufin) ester, một chất không ổn định tự phân ly thành acid glutaric và methylresorufin (màu đỏ). Sử dụng thêm chất hoạt động bề mặt và colipase để tăng độ đặc hiệu của xét nghiệm với lipase tụy. Sự tăng độ hấp thụ quang của sản phẩm màu tạo thành tỷ lệ với hoạt độ lipase có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy dịch sinh học (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm đo hoạt độ lipase;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch sinh học.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: dịch sinh học theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả đo hoạt độ theo đơn vị U/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Lipase dịch sinh học tăng trong các trường hợp như viêm tụy cấp, viêm tụy mạn, nang giả tụy, viêm túi mật cấp, viêm đường mật, tắc ống tụy, tắc đường mật ngoài gan, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

DPD (deoxypyridinoline): $\mu\text{g/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ DPD (deoxypyridinoline, còn gọi là Pyrilinks-D) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ DPD trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ ELISA như sau:

DPD có trong mẫu và DPD gắn biotin có trong thuốc thử sẽ cạnh tranh để gắn với kháng thể phủ sẵn trên bề mặt giếng. Sau đó, các chất không gắn với pha rắn được loại bỏ bằng phương pháp rửa. Sau khi ủ phức hợp kháng nguyên – kháng thể với avidin-horseradish peroxidase, cơ chất 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine được thêm vào và phức hợp liên kết với pha rắn được phát hiện nhờ phản ứng enzym tạo màu. Phản ứng được theo dõi độ hấp thụ quang ở bước sóng thích hợp. Nồng độ DPD trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đã xây dựng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng DPD;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;

- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL .

4.2.5. Biện luận kết quả

Kết quả xét nghiệm phản ánh các thay đổi nồng độ DPD, ví dụ trong liệu pháp chống tiêu xương bằng amino-bisphosphonate (alendronate), ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

ảnh hưởng của các yếu tố này.

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

**CDT (carbohydrate-deficient transferrin): mg/L: huyết thanh/ huyết tương:
Định lượng (hóa sinh miễn dịch)**

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ CDT (carbohydrate-deficient transferrin, transferrin thiếu hụt carbohydrat) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng CDT huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch đo độ đục như sau:

CDT trong mẫu cạnh tranh với CDT phủ trên các hạt polystyren để liên kết với kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CDT người. Khi có CDT trong mẫu, không có/ hoặc có rất ít ngưng kết của các hạt polystyren. Khi không có CDT trong mẫu, các hạt polystyren ngưng kết, gây tán xạ ánh sáng. Lượng CDT trong mẫu càng cao, tín hiệu ánh sáng tán xạ càng thấp. Nồng độ CDT trong mẫu được xác định bằng cách so sánh kết quả đo tín hiệu ánh sáng với mẫu chuẩn đã biết nồng độ.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng CDT;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thử cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Có thể tính phần trăm CDT theo công thức:

$$\% \text{CDT} = [\text{CDT}] / [\text{transferrin}] \times 100$$

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L hoặc %.

4.2.5. Biện luận kết quả

CDT là dấu ấn đáng tin cậy để đánh giá tình trạng lạm dụng rượu mạn tính. Các bệnh không do rượu có thể làm tăng CDT bao gồm viêm gan mạn hoạt động, xơ gan mật nguyên phát, suy gan, rối loạn bẩm sinh của quá trình glycosyl hóa, còn được gọi là hội chứng CDG (carbohydrate-deficient glycoprotein), ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Pyruvat (acid pyruvic): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ pyruvat (acid pyruvic) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ pyruvat trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh đo quang.

Ví dụ phương pháp enzym đo UV (ultraviolet, bước sóng tử ngoại) động học như sau:

Dưới sự có mặt của enzym D-lactat dehydrogenase, acid pyruvic và dạng khử của nicotinamid adenin dinucleotid (NADH) được chuyển thành acid D-lactic và NAD^+ . Sự oxy hóa của NADH thành NAD^+ làm giảm mật độ quang học ở bước sóng 340 nm (ΔA), tỷ lệ với nồng độ pyruvat có trong mẫu.

Ví dụ phương pháp enzym so màu như sau:

Pyruvat oxidase xúc tác chuyển pyruvat có trong mẫu thành acetyl-phosphat, hydrogen peroxid và carbon dioxid. Sau đó peroxidase xúc tác phản ứng giữa hydrogen peroxid và cơ chất tạo màu để tạo sản phẩm có màu hồng. Độ hấp thụ quang đo ở 520 nm tỷ lệ với nồng độ pyruvat có trong mẫu.

Ví dụ phương pháp đo huỳnh quang như sau:

Pyruvat oxidase xúc tác chuyển pyruvat có trong mẫu thành acetyl-phosphat, hydrogen peroxid và carbon dioxid. Sau đó horseradish peroxidase xúc tác phản ứng giữa hydrogen peroxid và đầu dò huỳnh quang để tạo phân tử huỳnh quang resorufin. Tín hiệu huỳnh quang thu được tỷ lệ với nồng độ pyruvat có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cốc phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng pyruvat;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);

- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.

- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L hoặc mg/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Xét nghiệm pyruvat thường thực hiện kèm với xét nghiệm lactat máu.

Tỷ lệ lactat / pyruvat cao có thể gặp trong bệnh di truyền của chuỗi hô hấp tế bào, bệnh của chu trình acid tricarboxylic và thiếu hụt pyruvat carboxylase. Thiếu hụt của chuỗi hô hấp tế bào thường có tỷ lệ này tăng trên 20.

Tỷ lệ lactat / pyruvat thấp (tăng pyruvat không cân xứng) ở bệnh nhân bị rối loạn chuyển hóa pyruvat do di truyền. Bất thường của phức hợp pyruvat dehydrogenase dẫn đến tỷ lệ lactat / pyruvat dưới 10.

Tỷ lệ lactat / pyruvat bình thường ở những bệnh nhân khác, có thể cao giả tạo nếu bệnh nhân bị bệnh nặng.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Nicotine: nmol/L: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ nicotine trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ nicotine, chủ yếu là cotinine (chất chuyển hóa của nicotine), trong nước tiểu theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất như sau:

Xét nghiệm dựa trên phản ứng cạnh tranh vị trí gắn kháng thể giữa cotinine có trong mẫu và cotinine gắn glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) có trong thuốc thử. Hoạt tính enzym giảm khi liên kết với kháng thể, do đó nồng độ cotinine trong mẫu có thể được xác định bằng đo hoạt độ enzym. Enzym chuyển nicotinamid adenin dinucleotid (NAD) thành NAD dạng khử (NADH), dẫn đến sự thay đổi độ hấp thụ được đo ở bước sóng 340 nm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm nicotine;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Kết quả cao hơn ngưỡng cut-off được coi là Dương tính.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả bán định lượng theo đơn vị nmol/L hoặc ng/mL, hoặc báo cáo kết quả Âm tính hoặc Dương tính.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nicotine có thể được hấp thụ qua phổi và màng nhầy ở miệng khi hút thuốc lá hoặc hít phải khói thuốc (hút thuốc lá thụ động). Chất chuyển hóa chính của nicotine trong cơ thể là cotinine, có thể được phát hiện trong nước tiểu của người hút đến một vài ngày sau ngừng sử dụng.

Kết quả xét nghiệm Dương tính chỉ ra sự có mặt của cotinine trong nước tiểu. Kết quả Dương tính với xét nghiệm này nên được khẳng định bằng một phương pháp khẳng định, ví dụ như sắc ký khí khối phổ (gas chromatography/ mass spectrometry: GC/MS) hoặc sắc ký lỏng khối phổ đôi (liquid chromatography/ tandem mass spectrometry: LC/MS/MS).

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Methadone: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ methadone trong huyết thanh/ huyết tương ở người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ methadone trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý sắc ký khối phổ, ví dụ sắc ký khí – khối phổ (GC-MS) hoặc sắc ký lỏng – khối phổ (LC-MS). Ví dụ theo nguyên lý sắc ký khí – khối phổ như sau:

Chuẩn bị mẫu: Pha dãy dung dịch chuẩn methadone ở các nồng độ thích hợp và dung dịch chuẩn nội. Các mẫu chuẩn ở các nồng độ đã pha, và mẫu cần phân tích, đều được thêm cùng một lượng chuẩn nội. Các mẫu được điều chỉnh pH phù hợp với từng phương pháp tách chiết, sau đó được chiết xuất bằng phương pháp chiết lỏng – lỏng hoặc chiết pha rắn. Cặn chiết được tạo dẫn xuất với dung môi phù hợp.

Tiến hành sắc ký: Mẫu được bơm vào và theo dòng khí mang đưa đến cột sắc ký (pha tĩnh). Mẫu khi qua cột này sẽ được hấp phụ lên trên pha tĩnh đó. Sau đó, các chất lần lượt tách khỏi cột theo dòng khí ra ngoài được ghi nhận bởi đầu dò. Từ các tín hiệu nhận được máy tính sẽ xử lý và biểu hiện kết quả bằng sắc ký đồ. Các chất được xác định nhờ giá trị thời gian lưu trên sắc ký đồ. Nồng độ methadone được tính theo phương pháp đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng methadone máu;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu: hệ thống GC-MS hoặc LC-MS, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ xét nghiệm;

- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa

chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thử cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên liều lượng sử dụng thuốc methadone trên từng cá thể người bệnh, được động học thuốc, ...

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc ng/mL .

4.2.5. Biện luận kết quả

Methadone là một chất chủ vận opioid có thời gian tác dụng kéo dài. Đây là loại thuốc thường dùng nhằm điều trị cho người nghiện heroin. Bằng cách sử dụng methadone, người nghiện heroin có quá trình cai nghiện an toàn hơn, giảm khả năng tái nghiện. Liều thuốc methadone được thiết kế riêng cho từng bệnh nhân với mức độ cai nghiện và tiền sử sử dụng ma túy khác nhau. Trong toàn bộ các lần sử dụng methadone, người bệnh đều phải nhận thuốc dưới sự giám sát của bác sỹ.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, mẫu bệnh phẩm lấy không đạt yêu cầu về số lượng và chất lượng, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

LDL-C (low density lipoprotein - cholesterol): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên cholesterol toàn phần, triglycerid và HDL-C huyết thanh hoặc huyết tương)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tính nồng độ cholesterol gắn lipoprotein tỷ trọng thấp (low density lipoprotein – cholesterol: LDL-C) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nồng độ LDL-C được tính toán dựa trên kết quả định lượng cholesterol toàn phần (T-cholesterol), triglycerid, và cholesterol gắn lipoprotein tỷ trọng cao (high density lipoprotein – cholesterol: HDL-C) trong huyết thanh/ huyết tương người, với điều kiện nồng độ triglycerid $\leq 4,5$ mmol/L. Nồng độ T-cholesterol, triglycerid và HDL-C có thể được xác định theo nguyên lý enzym so màu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng T-cholesterol, triglycerid và HDL-C;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính dưới 01 giờ tính từ thời điểm có đầy đủ các thông số để tính toán.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm T-cholesterol, triglycerid và HDL-C được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Tính LDL-C huyết thanh/ huyết tương dựa trên các thông số T-cholesterol, triglycerid và HDL-C, ví dụ theo công thức sau:

$$[LDL - C] = [T - cholesterol] - ([triglycerid] \div 2,2 + HDL - C)$$

Lưu ý sử dụng công thức trên với điều kiện nồng độ triglycerid $\leq 4,5$ mmol/L. Các thông số sử dụng cùng đơn vị mmol/L.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

LDL-C máu tăng dự báo nguy cơ bệnh mạch vành và xơ vữa động mạch, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

β -hCG (beta-human chorionic gonadotropin): IU/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ β -hCG (beta-human chorionic gonadotropin) trong dịch não tủy người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ β -hCG trong dịch não tủy theo nguyên lý hoá sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, miễn dịch điện hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang như sau:

β -hCG trong mẫu gắn với kháng thể kháng β -hCG để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được xác định nhờ chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ với nồng độ β -hCG có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy mẫu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: điện cực, cồng phản ứng, khay/giá mẫu...;
- Pipette tự động/bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng β -hCG;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch não tủy.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống nghiệm trắng không chống đông hoặc ống thủy tinh sạch có nắp.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch não tủy.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 02 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị IU/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

β -hCG dịch não tủy tăng trong một số bệnh như ung thư tế bào mầm, germinoma thần kinh trung ương nguyên phát, các khối u tuyến tủy, tuyến yên, vùng dưới đồi, ung thư tinh hoàn di căn não, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm tán huyết: hemoglobin ảnh hưởng kết quả xét nghiệm. Đề phòng bằng cách lấy bệnh phẩm đúng quy trình kỹ thuật. Nếu có sai sót, có thể phải hủy mẫu và lấy lại mẫu để giảm mức độ ảnh hưởng của yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù...: tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Phạm Thiện Ngọc (2017). Các chỉ điểm ung thư và ứng dụng trong lâm sàng. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- Kretschmar C., Kleinberg L., Greenberg M., et al. (2007). Chemotherapy Followed by Response-based Radiotherapy for Newly Diagnosed Primary CNS Germinoma. *Pediatr Blood Cancer* 48(3): 285–291.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lactat (acid lactic): mmol/L: dịch não tủy: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ lactat (acid lactic) trong dịch não tủy người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ lactat trong dịch não tủy theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp so màu như sau:

Enzym trong thuốc thử chuyển hóa lactat trong mẫu tạo thành chất màu. Nồng độ lactat trong mẫu tỷ lệ với độ hấp thụ quang của sản phẩm này đo ở bước sóng thích hợp, và được xác định dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy dịch não tủy;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;

- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng lactat (acid lactic);
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch não tủy.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy bệnh phẩm dịch não tủy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;

- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Ở các bệnh nhân có triệu chứng của viêm màng não, xét nghiệm lactat dịch não tủy tăng cao gợi ý viêm màng não do vi khuẩn, trong khi lactat dịch não tủy bình thường hoặc tăng nhẹ ở bệnh nhân viêm màng não do virus, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị lẫn máu do lấy bệnh phẩm, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.

- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

VMA (vanillylmandelic acid): $\mu\text{mol/L}$: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ VMA (vanillylmandelic acid) trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ VMA niệu theo nguyên lý sắc ký khối phổ.

Ví dụ nguyên lý sắc ký khí – khối phổ (gas chromatography – mass spectrometry: GC-MS) như sau:

Mẫu sau khi tiền xử lý sẽ được đưa vào máy phân tích. VMA được phân tách bởi quá trình sắc ký khí sẽ được chuyển sang bộ phận đo khối phổ. VMA ở dạng khí sẽ được ion hoá chuyển vào vùng điện từ trường để xác định tỷ lệ khối lượng trên điện tích của ion.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cột, bình khí, lọ thuỷ tinh có nắp xoáy, ống đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;

- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng VMA;
- Dung dịch hoà loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;

- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu ngẫu nhiên hoặc nước tiểu 24 giờ (24h).
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng bệnh phẩm nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu nước tiểu sau tiền xử lý (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiền xử lý mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử.
- Đưa mẫu đã qua tiền xử lý vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$ hoặc $\mu\text{mol}/24\text{h}$ hoặc mg/L hoặc $\text{mg}/24\text{h}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong bệnh rối loạn chuyển hoá do di truyền, phần lớn do thiếu hụt một enzym đặc hiệu dẫn đến tích tụ các sản phẩm chuyển hoá trung gian trước phản ứng xúc tác bởi enzym đó, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian, nhiệt độ và chất bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Acid hữu cơ: mmol/mol creatinin: nước tiểu: Định lượng (sắc ký khối phổ)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ acid hữu cơ trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ acid hữu cơ niệu theo nguyên lý sắc ký khối phổ. Ví dụ phương pháp sắc ký khí – khối phổ (gas chromatography – mass spectrometry: GC-MS) như sau:

Mẫu sau khi tiền xử lý sẽ được đưa vào máy phân tích. Các acid hữu cơ được phân tách bởi quá trình sắc ký khí sẽ được chuyển sang bộ phận đo khối phổ. Các acid hữu cơ ở dạng khí sẽ được ion hoá chuyển vào vùng điện từ trường để xác định tỷ lệ khối lượng trên điện tích của ion.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cột, bình khí, lọ thủy tinh có nắp xoáy, đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;

- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng acid hữu cơ;
- Dung dịch hoà loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, tủ an toàn sinh học, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;

- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu ngẫu nhiên hoặc nước tiểu 24 giờ (24h).
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng bệnh phẩm nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu nước tiểu sau tiền xử lý (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 10 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;

- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Tiễn xử lý mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử.
- Đưa mẫu đã qua tiền xử lý vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiễn hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng,

...

Báo cáo kết quả định lượng nên sử dụng đơn vị mmol/mol creatinin.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong bệnh rối loạn chuyển hoá do di truyền, phần lớn do thiếu hụt một enzym đặc hiệu dẫn đến tích tụ các sản phẩm chuyển hoá trung gian trước phản ứng xúc tác bởi enzym đó, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị nhiễm bẩn, thời gian, nhiệt độ và chất bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

HCG (human chorionic gonadotropin): nước tiểu: Định tính (miễn dịch sắc ký)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định tính hCG (human chorionic gonadotropin, hormon hướng sinh dục rau thai người) trong nước tiểu ở người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định tính hCG niệu theo nguyên lý sắc ký miễn dịch. Ví dụ như sau:

Xét nghiệm sử dụng kết hợp các kháng thể bao gồm kháng thể anti-hCG đơn dòng để phát hiện nồng độ hCG tăng cao. Mẫu di chuyển nhờ mao dẫn dọc theo màng của thanh thử để phản ứng với liên hợp chất màu và kháng thể anti-hCG đặc hiệu. Mẫu dương tính khi có sự kết hợp kháng nguyên – kháng thể, tạo thành vạch màu tại vùng vạch thử của màng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao đi kèm bộ thuốc thử xét nghiệm cụ thể;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định tính hCG;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hòa loãng;
- Nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;

- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Chuẩn bị đầy đủ thiết bị, dụng cụ, vật tư, sinh phẩm.
- Đưa thuốc thử về nhiệt độ thích hợp.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Thực hiện các bước phân tích mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Thời gian và cách đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Kết quả được nhập/ chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm có thể đọc bằng mắt thường, theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm cụ thể.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định tính:

- Dương tính: phát hiện thấy hCG trong bệnh phẩm;
- Âm tính: không phát hiện thấy hCG trong bệnh phẩm.

Có thể yêu cầu kiểm tra lại trong trường hợp nghi ngờ.

4.2.5. Biện luận kết quả

hCG là một hormon glycoprotein được sản xuất bởi rau thai. Ở thai kỳ bình thường, hCG có thể được phát hiện sớm trong cả nước tiểu và máu, khoảng 7 – 10 ngày sau thụ tinh. Kết quả xét nghiệm Dương tính chỉ ra sự có mặt của hCG trong nước tiểu, giúp chẩn đoán sơ bộ có thai. Chẩn đoán xác định có thai được đưa ra bởi bác sỹ sau khi đánh giá tất cả triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm.

Kết quả dương tính giả có thể gặp trong các trường hợp sử dụng thuốc chứa hCG ví dụ như Pregnyl, Profasi, Pergonal, APL, ... hoặc trong các tình trạng không phải mang thai như bệnh nguyên bào nuôi, u tinh hoàn, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú, ung thư phổi, ... hCG có thể vẫn được phát hiện trong vài tuần sau khi đẻ thường/ đẻ mổ/ sảy thai/ phá thai. Trong một số trường hợp hiếm gặp, nồng độ hCG thấp kéo dài ở nam và nữ không mang thai có thể cho kết quả dương tính.

Kết quả âm tính giả có thể xảy ra khi nồng độ hCG thấp hơn ngưỡng xét nghiệm của thanh thử, ví dụ do mẫu nước tiểu bị hòa loãng sau khi tiêu thụ một lượng lớn chất lỏng hoặc do mới có thai. Nếu vẫn nghi ngờ có thai, có thể lấy mẫu nước tiểu đầu tiên của buổi sáng để xét nghiệm lại.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm vàng sẫm, lẫn máu, hoặc một số yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Methadone: nước tiểu: Định tính (miễn dịch sắc ký)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định tính methadone trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định tính methadone niệu theo nguyên lý sắc ký miễn dịch. Ví dụ như sau:

Methadone trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với chất cộng hợp methadone ở vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm thanh thử nhờ mao dẫn.

Methadone nếu có trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn giới hạn, sẽ không thể bão hòa hoàn toàn các kháng thể kháng methadone của thanh thử. Khi đó các kháng thể này sẽ còn khả năng phản ứng với chất cộng hợp methadone phủ sẵn tại vùng kết quả và tạo ra một vạch hồng gọi là vạch kết quả (T), cho kết quả là Âm tính.

Ngược lại, nếu nồng độ methadone có trong nước tiểu cao hơn giá trị giới hạn, lớp kháng thể sẽ bị bão hòa hoàn toàn, không còn để phản ứng tiếp với chất cộng hợp methadone và sẽ không làm cho vạch kết quả (T) xuất hiện, cho kết quả là Dương tính.

Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn xuất hiện tại vùng chứng, gọi là vạch chứng (C), để chứng tỏ lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
 - 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.
- Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu;
- Vật tư tiêu hao đi kèm bộ thuốc thử xét nghiệm cụ thể;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định tính methadone;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hòa loãng;
- Nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;

- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu nước tiểu được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Chuẩn bị đầy đủ thiết bị, dụng cụ, vật tư, sinh phẩm.
- Đặt thuốc thử về nhiệt độ thích hợp.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút nước tiểu ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Thực hiện các bước phân tích mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Thời gian và cách đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Kết quả được nhập/ chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm có thể đọc bằng mắt thường, theo hướng dẫn của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm cụ thể.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định tính:

- Dương tính: phát hiện thấy methadone trong bệnh phẩm;
- Âm tính: không phát hiện thấy methadone trong bệnh phẩm.

Có thể yêu cầu kiểm tra lại trong trường hợp nghi ngờ.

4.2.5. Biện luận kết quả

Methadone, tên thương hiệu là Dolophine và các tên khác, là một thuốc giảm đau nhóm opioid dùng để giảm đau và dùng làm phương pháp điều trị duy trì hoặc để giúp giải độc cho người bị phụ thuộc opioid. Ngày nay, methadone vẫn còn giá trị sử dụng, đóng vai trò quan trọng trong phác đồ điều trị cai nghiện hoặc thuốc giảm đau gây nghiện nói chung. Xét nghiệm nước tiểu có thể phát hiện methadone sau khi sử dụng 1 giờ, và lên đến 2 tuần sau khi sử dụng lần cuối cùng.

Kết quả xét nghiệm Dương tính chỉ ra sự có mặt của thuốc trong nước tiểu. Kết quả Dương tính với xét nghiệm này nên được khẳng định bằng một phương pháp khẳng định, ví dụ như sắc ký khí – khối phổ (gas chromatography – mass spectrometry: GC-MS).

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm vàng sẫm, lẫn máu, hoặc một số yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Angiotensin II: pmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ angiotensin II trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ angiotensin II trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ trong phương pháp miễn dịch cạnh tranh, angiotensin II trong mẫu cạnh tranh với angiotensin II gắn chất đánh dấu để gắn với kháng thể đặc hiệu. Cường độ tín hiệu của chất đánh dấu tạo ra tỷ lệ nghịch với nồng độ angiotensin II trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giềng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng angiotensin II;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 05 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị pmol/L hoặc pg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ angiotensin II có liên quan với các tình trạng sức khỏe khác nhau, đặc biệt là những tình trạng liên quan đến hệ thống renin-angiotensin-aldosterone (RAAS). Nồng độ cao gặp trong suy tim, tăng huyết áp, ... Nồng độ thấp gặp trong một số rối loạn chức năng thận, tuyến thượng thận, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lamotrigine: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ lamotrigine trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ lamotrigine trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ một xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất EMIT (enzyme-multiplied immunoassay) như sau:

Thuốc có trong mẫu cạnh tranh với lamotrigine gắn enzym glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) để gắn với kháng thể có trong thuốc thử. Hoạt độ enzym G6PD giảm phụ thuộc vào việc gắn với kháng thể, do đó nồng độ thuốc trong mẫu có thể được xác định dựa trên đo hoạt độ của enzym.

Enzym G6PD hoạt động sẽ xúc tác chuyển coenzym NAD^+ (nicotiamide adeninedinucleotide) thành NADH, làm thay đổi độ hấp thụ quang. G6PD nội sinh của mẫu không làm ảnh hưởng đến kết quả vì coenzym NAD^+ chỉ hoạt động với enzym vi khuẩn được sử dụng trong xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giềng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng lamotrigine;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 02 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ lamotrigine trong huyết thanh/ huyết tương phụ thuộc vào chỉ định sử dụng, liều lượng, phương thức sử dụng, chuyển hóa và các yếu tố lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có

thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Levetiracetam: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ levetiracetam trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ levetiracetam trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ một xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất EMIT (enzyme-multiplied immunoassay) như sau:

Thuốc có trong mẫu cạnh tranh với levetiracetam gắn enzym glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) để gắn với kháng thể có trong thuốc thử. Hoạt độ enzym G6PD giảm phụ thuộc vào việc gắn với kháng thể, do đó nồng độ thuốc trong mẫu có thể được xác định dựa trên đo hoạt độ của enzym.

Enzym G6PD hoạt động sẽ xúc tác chuyển coenzym NAD^+ (nicotiamide adeninedinucleotide) thành NADH, làm thay đổi độ hấp thụ quang. G6PD nội sinh của mẫu không làm ảnh hưởng đến kết quả vì coenzym NAD^+ chỉ hoạt động với enzym vi khuẩn được sử dụng trong xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giéng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng levetiracetam;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 02 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ levetiracetam trong huyết thanh/ huyết tương phụ thuộc vào chỉ định sử dụng, liều lượng, phương thức sử dụng, chuyển hóa và các yếu tố lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có

thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Oxcarbazepine: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ oxcarbazepine trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ oxcarbazepine trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ một xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất EMIT (enzyme-multiplied immunoassay) như sau:

Thuốc có trong mẫu cạnh tranh với oxcarbazepine gắn enzym glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) để gắn với kháng thể có trong thuốc thử. Hoạt độ enzym G6PD giảm phụ thuộc vào việc gắn với kháng thể, do đó nồng độ thuốc trong mẫu có thể được xác định dựa trên đo hoạt độ của enzym.

Enzym G6PD hoạt động sẽ xúc tác chuyển coenzym NAD^+ (nicotiamide adeninedinucleotide) thành NADH, làm thay đổi độ hấp thụ quang. G6PD nội sinh của mẫu không làm ảnh hưởng đến kết quả vì coenzym NAD^+ chỉ hoạt động với enzym vi khuẩn được sử dụng trong xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giềng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng oxcarbapenem;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 02 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ oxcarbazepine trong huyết thanh/ huyết tương phụ thuộc vào chỉ định sử dụng, liều lượng, phương thức sử dụng, chuyển hóa và các yếu tố lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có

thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Topiramate: $\mu\text{mol/L}$: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ topiramate trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ topiramate trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ một xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất EMIT (enzyme-multiplied immunoassay) như sau:

Thuốc có trong mẫu cạnh tranh với topiramate gắn enzym glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) để gắn với kháng thể có trong thuốc thử. Hoạt độ enzym G6PD giảm phụ thuộc vào việc gắn với kháng thể, do đó nồng độ thuốc trong mẫu có thể được xác định dựa trên đo hoạt độ của enzym.

Enzym G6PD hoạt động sẽ xúc tác chuyển coenzym NAD^+ (nicotinamide adeninedinucleotide) thành NADH, làm thay đổi độ hấp thụ quang. G6PD nội sinh của mẫu không làm ảnh hưởng đến kết quả vì coenzym NAD^+ chỉ hoạt động với enzym vi khuẩn được sử dụng trong xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giéng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng topiramate;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 02 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ topiramate trong huyết thanh/ huyết tương phụ thuộc vào chỉ định sử dụng, liều lượng, phương thức sử dụng, chuyển hóa và các yếu tố lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có

thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Infliximab: mg/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ infliximab trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ infliximab trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ sử dụng kỹ thuật sandwich, kháng nguyên infliximab trong mẫu được phát hiện nhờ tạo phức hợp với hai kháng thể đặc hiệu, trong đó một kháng thể đặc hiệu gắn chất đánh dấu. Cường độ tín hiệu do chất đánh dấu tạo thành tỷ lệ thuận với nồng độ infliximab có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, giềng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng infliximab;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;

- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 05 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.

- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thử cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mg/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Nồng độ infliximab trong huyết thanh/ huyết tương phụ thuộc vào chỉ định sử dụng, liều lượng, phương thức sử dụng, chuyển hóa và các yếu tố lâm sàng khác.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Biotinidase: nmol/phút/dL: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt độ biotinidase trong máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo hoạt độ biotinidase trong máu thấm khô theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ một xét nghiệm đo huỳnh quang như sau:

Biotinidase xúc tác phản ứng chuyển biotiny1-6-aminoquinoline thành 6-aminoquinoline và biotin. Sản phẩm tạo thành, 6-aminoquinoline là chất phát huỳnh quang, được đo tại bước sóng thích hợp để xác định hoạt độ enzym biotinidase.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm biotinidase;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đo huỳnh quang, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 05 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Đọc mẫu chuẩn, nội kiểm, bệnh phẩm vào các giếng cất mẫu.
- Pha dung dịch hỗn hợp thuốc thử và nhỏ vào mỗi giếng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Lắc, ủ, rửa đĩa theo hướng dẫn của nhà sản xuất hóa chất, thuốc thử.
- Đo tín hiệu bằng phần mềm chuyên dụng.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị nmol/phút/dL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Trong cơ thể enzym biotinidase có vai trò tách biotin từ biocytin hoặc peptid gắn biotin trong chu trình biotin. Sự phân tách này giúp cơ thể tái sử dụng biotin và duy trì lượng biotin cần thiết cho các hoạt động sống. Biotin là cofactor cho các enzym carboxylase hoạt động bao gồm: propionyl-CoA carboxylase (E.C. 6.4.1.3), 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase (E.C. 6.4.1.4), pyruvat carboxylase (E.C. 6.4.1.1), và acetyl-CoA carboxylase (E.C. 6.4.1.2).

Thiếu enzym biotinidase dẫn đến sự giảm hoạt động 4 enzym carboxylase trên. Hậu quả là cơ thể xuất hiện những rối loạn chuyển hóa acid amin, carbohydrat và acid béo. Thiếu enzym biotinidase có thể gặp thiếu một phần hoặc trầm trọng. Bệnh nhân không được điều trị sẽ để lại những hậu quả nặng nề về thần kinh, da, thị giác, thính giác, ... Tuy nhiên trên lâm sàng những hậu quả này có thể được cải thiện hoặc ngăn ngừa bằng cách bổ sung vitamin biotin.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

GALT (galactose-1-phosphat uridyltransferase): U/g Hb: máu thấm khô: Đo hoạt độ (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo hoạt độ galactose-1-phosphat uridyltransferase (GALT) trong máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo hoạt độ GALT trong máu thấm khô theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ một xét nghiệm đo huỳnh quang như sau:

GALT sau khi được chiết tách từ mẫu máu thấm khô, xúc tác chuyển galactose-1-phosphat thành glucose-1-phosphat. Sản phẩm này tiếp tục biến đổi, tạo thành NADPH. NADPH phát tín hiệu huỳnh quang tỷ lệ với hoạt độ GALT trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu cùn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm GALT;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đo huỳnh quang, ...;

- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 05 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Đọc mẫu chuẩn, nội kiểm, bệnh phẩm vào các giếng cắt mẫu.
- Pha dung dịch hỗn hợp thuốc thử và nhỏ vào mỗi giếng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Lắc, ủ, rửa đĩa theo hướng dẫn của nhà sản xuất hóa chất, thuốc thử.
- Đo tín hiệu bằng phần mềm chuyên dụng.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị U/g Hb.

4.2.5. Biện luận kết quả

Bệnh galactosemia là một rối loạn di truyền liên quan tới chu trình chuyển hóa đường galactose. Các nguồn chính cung cấp đường galactose là sữa và các sản phẩm sữa. Có 3 thể bệnh galactosemia, các thể bệnh này gây ra bởi đột biến ở một số các gen đặc biệt và ảnh hưởng đến hoạt động của các enzym khác nhau liên quan đến quá trình chuyển hóa đường galactose. Bệnh galactosemia cổ điển, còn được gọi là typ I (thiếu enzym galactose-1-phosphat uridylyltransferase, GALT) là loại phổ biến và nghiêm trọng nhất. Bệnh galactosemia typ II (thiếu enzym galactokinase, GALK) và typ III (thiếu enzym UDP-galactose-4-epimerase, GALE) thường chiếm tỷ lệ thấp và gây ra các dấu hiệu, triệu chứng lâm sàng khác nhau.

Trẻ bị bệnh galactosemia không được phát hiện và điều trị sớm sẽ có thể dẫn đến tiêu chảy, mất nước, vàng da, suy gan, hạ đường huyết, đục thủy tinh thể, chậm phát triển và tử vong trong vòng vài tuần. Nhiễm khuẩn huyết do *E. coli* thường gặp ở những trẻ này và thường là nguyên nhân gây tử vong. Điều trị bệnh bằng cách loại bỏ hoàn toàn các thực phẩm chứa đường galactose và lactose trong chế độ ăn.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

IRT (immunoreactive trypsin): $\mu\text{g/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ IRT (immunoreactive trypsin) trong máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ IRT trong máu thấm khô theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) như sau:

Sử dụng hai kháng thể đặc hiệu với những phần khác nhau của cùng một kháng nguyên (ở đây là IRT). Một kháng thể được gắn với bề mặt giếng, kháng thể còn lại được gắn enzym. Khi có mặt kháng nguyên, kháng nguyên gắn đồng thời với hai kháng thể như một chiếc cầu nối, tạo phức hợp sandwich gắn vào giếng. Sau khi rửa loại bỏ những thành phần không gắn, cơ chất được thêm vào giếng và được chuyển thành sản phẩm cuối có màu nhờ enzym; phản ứng nhanh chóng kết thúc nhờ dung dịch dừng phản ứng. Độ hấp thụ quang của từng giếng được đọc ở bước sóng 450 nm. Kết quả nồng độ IRT được đọc dựa trên đường chuẩn giữa nồng độ và độ hấp thụ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);

- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng IRT;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;

- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đo huỳnh quang, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 20 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.

- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Đọc mẫu chuẩn, nội kiểm, bệnh phẩm vào các giếng cắt mẫu.
- Pha dung dịch hỗn hợp thuốc thử và nhỏ vào mỗi giếng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Lắc, ủ, rửa đĩa theo hướng dẫn của nhà sản xuất hóa chất, thuốc thử.
- Đo tín hiệu bằng phần mềm chuyên dụng.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL .

4.2.5. Biện luận kết quả

IRT là một protein sản xuất bởi tụy, tăng do một số nguyên nhân, trong đó có bệnh xơ nang (cystic fibrosis). IRT trong máu thấm khô được sử dụng để sàng lọc bệnh xơ nang ở trẻ sơ sinh.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nồng độ IRT tăng rất cao có thể gặp trong trường hợp mẫu giấy thấm máu bị dính phân su của trẻ.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Phenylalanin: $\mu\text{mol/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ phenylalanin trong máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ phenylalanin trong máu thấm khô theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, ví dụ xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang hoặc xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng phenylalanin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đo huỳnh quang, ...;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 06 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Đọc mẫu chuẩn, nội kiểm, bệnh phẩm vào các giếng cất mẫu.
- Pha dung dịch hỗn hợp thuốc thử và nhỏ vào mỗi giếng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Lắc, ủ, rửa đĩa theo hướng dẫn của nhà sản xuất hóa chất, thuốc thử.
- Đo tín hiệu bằng phần mềm chuyên dụng.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Phenylalanin máu tăng cao gặp trong bệnh phenylceton niệu (PKU). Xét nghiệm phenylalanin trong máu thām khô được sử dụng để sàng lọc bệnh PKU ở trẻ sơ sinh.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;

- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Leucin: $\mu\text{mol/L}$: máu thấm khô: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ leucin trong máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ leucin trong máu thấm khô theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) như sau:

Mẫu và kháng thể đa dòng gắn biotin được thêm vào giếng phủ sẵn kháng thể đơn dòng kháng leucin người, tạo phức hợp sandwich gắn trên bề mặt giếng. Sau khi rửa loại bỏ các thành phần không gắn, liên hợp avidin-peroxidase được thêm vào giếng, gắn với phức hợp. Sau lần rửa nữa, cơ chất 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine được cho vào giếng, phản ứng tạo sản phẩm màu xanh dưới xúc tác của peroxidase, sau đó chuyển sang màu vàng khi thêm dung dịch dừng phản ứng. Nồng độ leucin có tương quan với cường độ màu tạo ra.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu cùn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng leucin;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu: thiết bị rửa khay vi giếng, máy lắc khay vi giếng, máy trộn lắc xoáy, máy đo huỳnh quang, ...;

- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 04 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Đọc mẫu chuẩn, nội kiểm, bệnh phẩm vào các giếng cắt mẫu.
- Pha dung dịch hỗn hợp thuốc thử và nhỏ vào mỗi giếng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Lắc, ủ, rửa đĩa theo hướng dẫn của nhà sản xuất hóa chất, thuốc thử.
- Đo tín hiệu bằng phần mềm chuyên dụng.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị $\mu\text{mol/L}$.

4.2.5. Biện luận kết quả

Leucin máu tăng gặp trong thiếu vitamin B, bổ sung quá mức protein hoặc acid amin, bệnh nước tiểu mùi siro (MSUD), ... Xét nghiệm leucin trong máu thăm khô được sử dụng để sàng lọc bệnh MSUD ở trẻ sơ sinh.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

TREC (T cell receptor excision circles): copies/ μ L: máu thấm khô: Định lượng (PCR và TR-FRET)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ TREC (T cell receptor excision circles) trong máu thấm khô của người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ TREC trong máu thấm khô dựa trên khuếch đại acid nucleic (PCR) và phát hiện sự cộng hưởng năng lượng huỳnh quang theo thời gian (TR-FRET). Định lượng đồng thời TREC (chỉ điểm của suy giảm miễn dịch kết hợp thể nặng, SCID) và beta-actin (dùng để kiểm soát sự khuếch đại của mẫu). Mẫu máu thấm khô được ủ bằng dung dịch rửa giải để DNA có trong mẫu được giải phóng ra ngoài. Sau đó DNA ban đầu được khuếch đại tạo ra nhiều bản sao. Cuối cùng, DNA được lai tạo với đầu dò huỳnh quang. Tín hiệu huỳnh quang được đo từ đầu dò được lai với TREC (để tính toán kết quả) và beta-actin (để kiểm soát sự khuếch đại của mẫu).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Giấy thấm máu;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cùn sát khuẩn, kim chích máu, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm định lượng TREC;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Thiết bị tiền xử lý mẫu: máy đục lỗ, máy ly tâm, máy lắc, buồng ủ, tủ sấy, thiết bị thổi khô bằng khí nitơ, tủ an toàn sinh học, máy vortex, máy spindown, ...;
- Hệ thống phân tích mẫu (PCR và TR-FRET);
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống xử lý mẫu hậu phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người nhà được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu thấm khô (được lấy từ gót chân, ngón tay, hoặc cuống rốn, ...) vào bất kỳ thời điểm nào sau sinh.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: giấy thấm máu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: dịch chiết tách.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính 08 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại giấy thấm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất.
- Chuẩn bị thuốc thử theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Đọc mẫu chuẩn, nội kiểm, bệnh phẩm vào các giếng cắt mẫu.
- Chuẩn bị dung dịch thuốc thử và nhỏ vào mỗi giếng.
- Sử dụng tấm dán dán chặt lên toàn bộ bề mặt đĩa và ly tâm đĩa.
- Cho đĩa vào hệ thống phân tích, chạy chương trình được cài đặt nhiệt độ và thời gian theo khuyến cáo của nhà sản xuất hóa chất, thuốc thử.
- Đọc và đánh giá kết quả trên phần mềm chuyên dụng.
- Tiến hành thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết.
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc bằng phần mềm chuyên dụng.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Nhà sản xuất hóa chất đưa ra giá trị ngưỡng cho TREC và beta-actin. Ví dụ nhận định như sau:

Vòng đầu tiên:

- $TREC \geq$ giá trị ngưỡng: nhận định “Bình thường”. Không cần kiểm tra lại.
- $TREC <$ giá trị ngưỡng: nhận định “Có khả năng dương tính”. Làm xét nghiệm vòng thứ hai.

Vòng thứ hai:

- Beta-actin cả hai vòng \geq giá trị ngưỡng, $TREC$ vòng hai \geq giá trị ngưỡng: nhận định “Bình thường”.
- Beta-actin cả hai vòng \geq giá trị ngưỡng, $TREC$ vòng hai $<$ giá trị ngưỡng: nhận định “Có khả năng dương tính”.
- Beta-actin cả hai vòng $<$ giá trị ngưỡng hoặc không đồng nhất giữa hai vòng: nhận định “Kết quả không hợp lệ”. Yêu cầu mẫu mới và xét nghiệm lại. Nếu mẫu thứ hai không kết luận được, lấy mẫu mới sau hai tuần và thử lại.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị copies/ μ L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Ở trẻ sơ sinh đủ tháng có nồng độ $TREC$ thấp hơn giá trị ngưỡng (dương tính), cần theo dõi SCID.

Xét nghiệm có thể dương tính giả ở các mẫu có nồng độ hemoglobin cao, mẫu bị nhiễm bẩn, trẻ bị rối loạn suy giảm miễn dịch như hội chứng DiGeorge, sử dụng thuốc ức chế miễn dịch, trẻ có hệ miễn dịch kém phát triển như trẻ sinh non, ... Có thể âm tính giả ở trẻ sơ sinh mắc SCID do thiếu ADA (adenosine deaminase), đặc biệt những trường hợp khởi phát muộn.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyên qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm bệnh nhân, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thực hiện xét nghiệm trong phòng sạch hoặc tủ hút có tia cực tím, thường xuyên làm sạch bằng dung dịch khử khuẩn hoặc cồn.

Việc thực hiện không đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất gây sai lệch kết quả. Vì vậy cần tuân thủ đúng các bước trong quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất, thực hiện lại xét nghiệm nếu cần.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Vitamin B12 hoạt hóa (holotranscobalamin): pmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ vitamin B12 hoạt hóa (active vitamin B12, active-B12, holotranscobalamin, HoloTC) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ active-B12 trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang như sau:

Active-B12 trong mẫu gắn với kháng thể kháng active-B12 để tạo phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Phức hợp này được xác định nhờ chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ với nồng độ active-B12 có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng active-B12;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị pmol/L hoặc pg/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

HoloTC là dạng vitamin B12 gắn với transcobalamin, một protein vận chuyển vitamin B12 trong máu. Đây được coi là dạng hoạt tính để tế bào sử dụng. Xét nghiệm HoloTC (active-B12) được coi là chỉ điểm sớm của tình trạng thiếu hụt vitamin B12 do nồng độ của nó có thể giảm trước khi giảm nồng độ vitamin B12 toàn phần.

Thiếu vitamin B12 gặp trong khiếm khuyết của quá trình tiết yếu tố nội của dạ dày (intrinsic factor, IF) dẫn đến hấp thụ không đủ vitamin B12 từ thực phẩm, cắt bỏ dạ dày, kém hấp thu do phẫu thuật và nhiều bệnh do vi khuẩn hoặc viêm gây ảnh hưởng đến ruột non, hấp thụ không đủ từ chế độ ăn uống (có thể xảy ra sau nhiều năm kiêng tất cả các sản phẩm từ động vật), ...

Tăng vitamin B12 có liên quan đến tình trạng mang thai, sử dụng thuốc tránh thai đường uống và multivitamin, các bệnh tăng sinh tủy như bệnh bạch cầu dòng hạt và bệnh bạch cầu đơn nhân dòng tủy mạn tính, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Bicarbonat: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ bicarbonat (HCO_3^-) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ bicarbonat trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp enzym đo UV (ultraviolet, bước sóng tử ngoại) động học như sau:

Bicarbonat và phosphoenolpyruvat được chuyển hóa thành oxaloacetat và photphat trong phản ứng được xúc tác bởi phosphoenolpyruvat carboxylase. Malat dehydrogenase xúc tác quá trình khử oxaloacetat thành malat, đồng thời oxy hóa nicotinamid adenin dinucleotid dạng khử (NADH). Mức giảm độ hấp thụ quang của NADH tỷ lệ với với lượng bicarbonat của mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;

- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng bicarbonat;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).

- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L hoặc mEq/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Tăng trong nhiễm toan hô hấp có bù và nhiễm kiềm chuyển hóa, ...

Giảm trong nhiễm kiềm hô hấp có bù và nhiễm toan chuyển hóa, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Ecstasy: $\mu\text{g/L}$: nước tiểu: Định tính bán định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Ecstasy là một nhóm các hợp chất đồng đẳng của amphetamine có vòng thơm được thay thế bởi methylenedioxy, bao gồm 3,4-methylenedioxy amphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxy methamphetamine (MDMA), và 3,4-methylenedioxy ethylamphetamine (MDEA). Mục đích của kỹ thuật là nhằm định tính hoặc bán định lượng nồng độ ecstasy trong nước tiểu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định tính hoặc bán định lượng nồng độ ecstasy trong nước tiểu theo nguyên lý hóa sinh miễn dịch. Ví dụ xét nghiệm miễn dịch enzym đồng nhất như sau:

Xét nghiệm dựa trên sự cạnh tranh giữa thuốc được đánh dấu với enzym glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) và thuốc tự do trong mẫu nước tiểu đối với một lượng cố định các vị trí gắn kháng thể. Trong trường hợp không có thuốc tự do trong mẫu, kháng thể đặc hiệu liên kết với thuốc được đánh dấu G6PD làm giảm hoạt động của enzym. Hiện tượng này tạo ra mối tương quan giữa nồng độ thuốc trong nước tiểu và hoạt độ enzym. Enzym này xúc tác chuyển nicotinamid adenin dinucleotid dạng oxy hóa (NAD^+) thành dạng khử (NADH), làm thay đổi độ hấp thụ quang của dung dịch phản ứng ở bước sóng nhất định.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy nước tiểu (cốc, ống để bệnh phẩm nước tiểu, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Bộ sinh phẩm xét nghiệm ecstasy;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;

- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống đựng bệnh phẩm nước tiểu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: nước tiểu.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian

chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.

- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dựng đường chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Kết quả cao hơn ngưỡng cut-off được coi là Dương tính.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc

công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả bán định lượng theo đơn vị $\mu\text{g/L}$ hoặc ng/mL , hoặc báo cáo kết quả Âm tính hoặc Dương tính.

4.2.5. Biện luận kết quả

Kết quả xét nghiệm Dương tính chỉ ra sự có mặt của thuốc trong nước tiểu. Kết quả Dương tính với xét nghiệm này nên được khẳng định bằng một phương pháp khẳng định, ví dụ như sắc ký khí khối phổ (gas chromatography/ mass spectrometry: GC/MS).

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị lấy sai quy cách, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục, đỏ, hoặc các màu sắc bất thường khác, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

KL-6 (Krebs von den Lungen-6): kU/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh miễn dịch)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ KL-6 (Krebs von den Lungen-6, một kháng nguyên sialoglycoprotein biểu hiện trên tế bào biểu mô phế nang loại II) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ KL-6 trong huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý miễn dịch, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như miễn dịch đo độ đục, miễn dịch hấp phụ gắn enzym, miễn dịch hóa phát quang, ... Ví dụ theo nguyên lý miễn dịch hóa phát quang như sau:

KL-6 trong mẫu gắn đặc hiệu với kháng thể đơn dòng anti- KL-6 phủ trên bề mặt các hạt, tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên – kháng thể. Sau khi rửa loại bỏ những chất không gắn kết, bổ sung các kháng thể đơn dòng anti- KL-6 đánh dấu phosphatase kiềm (ALP) để gắn đặc hiệu với KL-6 trong phức hợp miễn dịch. Sau một lần rửa nữa, cơ chất được thêm vào, ALP xúc tác phản ứng loại bỏ gốc phosphat. Cường độ ánh sáng tạo ra từ phản ứng này tỷ lệ với nồng độ KL-6 có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);

- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μL , 200 μL , 10 μL , ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng KL-6;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;

- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính từ 01 đến 04 giờ (tùy theo từng quy trình cụ thể) tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị U/mL.

4.2.5. Biện luận kết quả

Hàm lượng KL-6 trong huyết thanh/ huyết tương người bị viêm phổi kẽ cao hơn nhiều so với người khỏe mạnh và những bệnh nhân mắc bệnh hô hấp khác. Ngoài ra, những giá trị dao động phản ánh tình trạng của bệnh viêm phổi kẽ trong những trường hợp theo dõi.

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, có kháng thể phản ứng với thành phần trong thuốc thử, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Lithium: mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Định lượng (hóa sinh đo quang)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ lithium (Li) trong huyết thanh/ huyết tương người. Lithium được sử dụng rộng rãi trong điều trị rối loạn tâm thần hưng trầm cảm. Lithium hoạt động bằng cách tăng cường sự hấp thu của chất dẫn truyền thần kinh, gây ra tác dụng an thần trên hệ thần kinh trung ương. Nồng độ lithium huyết thanh chủ yếu được đo để đảm bảo việc tuân thủ điều trị và để tránh ngộ độc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng nồng độ lithium huyết thanh/ huyết tương theo nguyên lý hóa sinh đo quang. Ví dụ phương pháp so màu như sau:

Lithium hiện diện trong mẫu phản ứng với một phức hợp porphyrin ở pH kiềm, dẫn đến thay đổi độ hấp thụ quang ở bước sóng nhất định. Sự thay đổi độ hấp thụ này tỷ lệ thuận với nồng độ lithium có trong mẫu và kết quả xét nghiệm được tính toán dựa trên đường chuẩn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, cồng phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;

- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;
- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng lithium;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;

- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm (không sử dụng chất chống đông Li-heparine).
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính trên dưới 01 giờ tính từ thời điểm tiếp nhận bệnh phẩm tại phòng xét nghiệm.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;
- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L hoặc mEq/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Có thể tham khảo:

Dạng thuốc phóng thích tức thời dùng buổi tối: nồng độ tối thiểu có hiệu quả là 0,5 – 0,8 mEq/L hoặc mmol/L (lấy mẫu buổi sáng, 12 giờ sau khi uống).

Dạng thuốc phóng thích kéo dài dùng buổi tối: nồng độ tối thiểu có hiệu quả là 0,5 – 0,8 mEq/L hoặc mmol/L (lấy mẫu buổi tối, 24 giờ sau khi uống); nồng độ giữa là 0,8 – 1,2 mEq/L hoặc mmol/L (lấy mẫu buổi sáng, 12 giờ sau khi uống).

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th Edition. W. H. Freeman.
- Donna L. Larson (2017). *Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques*. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). *Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects*. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.

Non-HDL-C (non - high density lipoprotein - cholesterol): mmol/L: huyết thanh/ huyết tương: Tính toán (dựa trên cholesterol toàn phần và HDL-C huyết thanh hoặc huyết tương)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tính nồng độ cholesterol không HDL (non-HDL-C) trong huyết thanh/ huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nồng độ non-HDL-C có thể được tính toán dựa trên kết quả xét nghiệm định lượng cholesterol toàn phần và cholesterol gắn lipoprotein tỷ trọng cao (HDL-C) có trong huyết thanh/ huyết tương. Nồng độ cholesterol toàn phần và HDL-C có thể được xác định theo nguyên lý enzym so màu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Nhân lực trực tiếp bao gồm:

- 01 bác sỹ hoặc kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm (trình độ đại học);
- 01 kỹ thuật y chuyên ngành hóa sinh hoặc xét nghiệm.

Nhân lực hỗ trợ: y công/ hộ lý, ...

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm;
- Dụng cụ lấy bệnh phẩm: theo quy trình lấy máu (bông, cồn sát khuẩn, bơm tiêm, kim lấy bệnh phẩm, dây ga-rô, miếng dán cá nhân, khay kim loại, ...);
- Vật tư tiêu hao tùy theo hệ thống phân tích: bóng đèn, công phản ứng, cốc đựng mẫu, khay/ giá mẫu, ...;
- Pipette tự động/ bán tự động các loại, ví dụ 1000 μ L, 200 μ L, 10 μ L, ...;
- Đầu côn tương ứng các loại pipette tự động/ bán tự động;
- Pipette thủy tinh, quả bóp hút chân không;
- Lọ thủy tinh, cốc thủy tinh;

- Ống đựng mẫu thứ cấp;
- Xe để dụng cụ;
- Giá đựng bệnh phẩm;
- Quần áo blouse, giày dép, mũ, khẩu trang, găng tay;
- Dung dịch khử khuẩn bề mặt, khăn lau, thùng rác, túi rác;
- Dung dịch rửa tay thường, nước sát khuẩn tay nhanh, khăn lau tay.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm

- Thuốc thử xét nghiệm định lượng cholesterol toàn phần và HDL-C;
- Dung dịch pha loãng mẫu theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử;
- Vật liệu hiệu chuẩn xét nghiệm;
- Vật liệu kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm, ngoại kiểm);
- Dung dịch hệ thống: nước cất, các loại nước rửa.

Các dụng cụ, vật tư, hóa chất, sinh phẩm có thành phần và điều kiện bảo quản tùy theo nhà sản xuất cụ thể.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động;
- Hệ thống xử lý mẫu tiền phân tích và hậu phân tích;
- Hệ thống phân tích mẫu;
- Hệ thống lọc nước phục vụ hệ thống phân tích;
- Hệ thống lưu điện;
- Hệ thống máy tính có kết nối hệ thống quản lý thông tin của bệnh viện và của phòng xét nghiệm;
- Các phần mềm phục vụ chuyên môn: HIS, LIS, quản lý chất lượng, quản lý kho, quản lý nhân sự, ...;
- Máy ly tâm để tách các thành phần hữu hình trong mẫu;
- Tủ lạnh thường và tủ lạnh âm sâu để bảo quản hóa chất, mẫu bệnh phẩm;
- Máy in giấy, máy in mã vạch, thiết bị quét mã vạch.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Đối với quy trình kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm

- Chuẩn bị người bệnh: người bệnh được giải thích về việc lấy mẫu xét nghiệm, phối hợp để lấy mẫu theo đúng yêu cầu.
- Loại mẫu bệnh phẩm: máu toàn phần.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, bảo quản: ống lấy máu không chống đông hoặc có chất chống đông theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Điều kiện bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.4.2. Đối với quy trình kỹ thuật về thực hiện xét nghiệm

- Loại mẫu bệnh phẩm: huyết thanh hoặc huyết tương.
- Dụng cụ chứa mẫu, bảo quản mẫu: ống chứa mẫu ban đầu (ống sơ cấp) và/hoặc ống đựng mẫu dịch được tách ra (ống thứ cấp).
- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm: tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm (thể tích, số lượng, chất lượng, ...): tùy theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu yêu cầu xét nghiệm bản giấy hoặc thể hiện trên phần mềm kết nối giữa phòng xét nghiệm và các đơn vị, có đầy đủ thông tin theo quy định của bệnh viện và Bộ Y tế như họ tên, tuổi/ năm sinh, giới tính của bệnh nhân, số giường hoặc địa chỉ, khoa phòng, chẩn đoán, họ tên bác sỹ chỉ định, xét nghiệm cần làm, thời gian chỉ định, họ tên người lấy mẫu, thời gian lấy mẫu và thời gian vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm, ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Ước tính dưới 01 giờ tính từ thời điểm có đầy đủ các thông số để tính toán.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm xét nghiệm: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Thực hiện các quy định của Bộ Y tế, bệnh viện và khoa phòng về các vấn đề:

- An toàn sinh học;
- An toàn cho người thực hiện, dự phòng nguy cơ trước và sau phơi nhiễm;

- Bảng dữ liệu an toàn hóa chất có sẵn, cung cấp cho nhân viên khi có yêu cầu;
- An toàn thiết bị và điện, phòng tránh cháy nổ;
- Kiểm soát môi trường (các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ...).

4. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm

- Lấy mẫu theo chỉ định xét nghiệm, tuân thủ đúng quy trình và sử dụng loại ống bệnh phẩm theo đúng yêu cầu.
- Thời gian và các điều kiện bảo quản, vận chuyển mẫu áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm (đối với giao nhận thủ công)

- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm đáp ứng các yêu cầu về số lượng, chất lượng, bảo quản, thời gian, điều kiện vận chuyển và lưu trữ mẫu bệnh phẩm.
- Ống mẫu được ghi thông tin định danh người bệnh và/ hoặc dán mã vạch duy nhất để nhận dạng mẫu.
- Phiếu xét nghiệm có đầy đủ thông tin và mã vạch tương ứng với ống mẫu.

4.1.3. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ, hóa chất

- Thiết bị đã được cài chương trình phân tích và được xác nhận giá trị sử dụng phương pháp theo quy định.
- Bảo dưỡng bảo trì thiết bị theo khuyến cáo của nhà sản xuất thiết bị.
- Chuẩn bị thuốc thử và đưa vào thiết bị.
- Dụng cụ chuẩn: theo yêu cầu hiệu chuẩn của nhà sản xuất thuốc thử.

4.1.4. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm

- Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy định: kết quả nội kiểm phải được đánh giá đạt, khuyến cáo tăng cường chất lượng xét nghiệm bằng ngoại kiểm (mẫu mù, so sánh liên phòng, ...).
- Bộ phận giám sát kiểm tra chất lượng phối hợp cùng nhân viên vận hành thiết bị và các bộ phận có liên quan để theo dõi, đánh giá kết quả kiểm tra chất lượng bằng phần mềm quản lý, xử lý trường hợp có kết quả không đạt.

4.1.5. Phân tích mẫu

- Chỉ định xét nghiệm được nhập thủ công, hoặc được chuyển qua hệ thống mạng đến phần mềm quản lý thông tin phòng xét nghiệm có kết nối với máy phân tích.
- Ly tâm mẫu, hút dịch ra ống thứ cấp nếu cần thiết.
- Đưa mẫu vào hệ thống phân tích, thực hiện các bước theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Tiến hành hòa loãng, thực hiện lại phân tích mẫu trong trường hợp cần thiết (khi kết quả không nằm trong dải đo của xét nghiệm, nghi ngờ có yếu tố nhiễu, ...).
- Bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu giữ, bảo quản và hủy theo quy định.
- Kết quả được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng

Xem xét kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu mới đọc kết quả xét nghiệm.

4.2.2. Đọc kết quả

Kết quả xét nghiệm được đọc dựa trên đường chuẩn, hoặc được xác định tự động bằng phần mềm hệ thống phân tích.

Tính non-HDL-C theo công thức:

$$[\text{non-HDL-C}] = [\text{cholesterol toàn phần}] - [\text{HDL-C}]$$

Các thông số sử dụng cùng đơn vị mmol/L.

4.2.3. Nhận định kết quả

Nhận định kết quả dựa trên khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng theo khuyến cáo của cơ quan, tổ chức chuyên ngành, nghiên cứu có uy tín, hoặc công bố của nhà sản xuất về khoảng tham chiếu và ngưỡng xét nghiệm đối với thuốc thử sử dụng trên hệ thống phân tích cụ thể.

Ngoài ra, phối hợp các thông tin lâm sàng và các xét nghiệm khác (nếu có) để đánh giá, nhận định kết quả.

4.2.4. Phiên giải và báo cáo kết quả

Phiên giải kết quả dựa vào ngưỡng xét nghiệm, khoảng chuẩn sinh học, giá trị quyết định lâm sàng, ...

Báo cáo kết quả định lượng theo đơn vị mmol/L.

4.2.5. Biện luận kết quả

Non-HDL-C huyết thanh/ huyết tương tăng dự báo nguy cơ bệnh mạch vành và xơ vữa động mạch, ...

4.3. Trả, tư vấn kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả được trả dưới dạng bản ký số chuyển qua mạng, hoặc trả bản giấy.

Tư vấn kết quả xét nghiệm khi có yêu cầu.

Lưu kết quả xét nghiệm và các hồ sơ liên quan như hồ sơ xác nhận giá trị sử dụng phương pháp, theo dõi vận hành bảo dưỡng bảo trì thiết bị, theo dõi số lô, hạn sử dụng thuốc thử, theo dõi kết quả kiểm tra chất lượng xét nghiệm, ...

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Các sai sót có thể xảy ra như sai hoặc thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, trên ống đựng bệnh phẩm, lấy mẫu sai thời điểm, nhầm loại ống, nhầm bệnh nhân, bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, thời gian và nhiệt độ bảo quản không đúng quy định, ...

Xử trí: lấy, bảo quản, vận chuyển, tiếp nhận và xử lý mẫu theo đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Mẫu bệnh phẩm bị đục do tăng lipid máu nội sinh, vàng sẫm do tăng bilirubin máu, đỏ do tan máu nội mạch, protein tăng quá cao, hoặc một số yếu tố khác, có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Có thể pha loãng bệnh phẩm để giảm mức độ ảnh hưởng của các yếu tố này.

Nếu kết quả kiểm tra chất lượng không đạt, cần dừng xét nghiệm không đạt trên hệ thống phân tích, tìm nguyên nhân gốc rễ và khắc phục. Kiểm tra chất lượng lại nếu đạt thì tiếp tục thực hiện xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tiếp nhận và giải quyết các phản hồi từ khách hàng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm: tuân theo quy trình đảm bảo chất lượng xét nghiệm của đơn vị;
- Thực hiện ngoại kiểm, hoặc so sánh liên phòng, hoặc kiểm tra mẫu mù, ... : tiến hành tùy theo chương trình.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- David L. Nelson, Michael M. Cox (2017). Lehninger Principles of Biochemistry. 7th Edition. W. H. Freeman.

- Donna L. Larson (2017). Clinical Chemistry: Fundamentals and Laboratory Techniques. Elsevier.
- William J. Marshall, Marta Lapsley, Andrew P. Day, Ruth M. Ayling (2014). Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Elsevier (Churchill Livingstone).
- Hướng dẫn sử dụng của các hãng sản xuất thiết bị, thuốc thử.