

# QUY TRÌNH

## ĐỊNH LƯỢNG SERUM AMYLOID A (SAA)

### I. NGUYÊN LÝ

Các hạt polystyrene được phủ kháng thể đặc hiệu kháng SAA người sẽ ngưng kết khi được trộn lẫn với mẫu có chứa SAA. Các hạt ngưng kết này làm phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được xác định bằng cách so sánh với một chuẩn đã biết nồng độ.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Cán bộ thực hiện:** 01 Bác sỹ hoặc 01 cán bộ đại học và 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

Máy phân tích: BN ProSpec- hãng Siemens

Máy ly tâm

Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm

Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

##### 2.2. Hóa chất

- Hóa chất chính N SAA: Chứa các hạt polystyrene được phủ với kháng thể đặc hiệu (cừu) kháng SAA người. Đóng gói: Dạng đông khô, 3 x → 2 mL.

SAA Standard SY (người): Hỗn hợp đông khô của huyết thanh người với lượng cao SAA. Đóng gói: Dạng đông khô, 3 x → 0.5 mL.

N SAA Control SY (người): Hỗn hợp đông khô của huyết thanh người với lượng cao SAA. Đóng gói: Dạng đông khô, 4x → 0.5 mL.

Hóa chất phụ N SAA Supplementary Reagent: Dung dịch đệm glycine NaCl chứa pyrrolidone và chất tẩy như là chất phụ gia. Đóng gói: 3 x 1.3 mL.

Chất bảo quản:

+ Dung dịch hoàn nguyên của hóa chất chính N SAA Reagent: Gentamicin 6.25 mg/L, Amphotericin 0.625 mg/L

+ Dung dịch hoàn nguyên của N SAA Standard SY, hoàn nguyên của N SAA Control SY (người) và hóa chất phụ N SAA Supplementary Reagent: Sodium azide < 1 g/L

##### 2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm;

- Găng tay, nước rửa tay, khăn lau tay, khẩu trang;
- Bông, cùn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu, dây ga rô.

**3. Người bệnh:** Cần giải thích mục đích của xét nghiệm để bệnh nhân và người nhà bệnh hiểu, từ đó có thể hợp tác trong quá trình lấy máu.

**4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về bệnh nhân bao gồm họ tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, ngày giờ chỉ định, ngày giờ lấy mẫu, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm và xử lý mẫu bệnh phẩm**

Thực hiện trên mẫu máu: huyết thanh và huyết tương heparin

Mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2-8°C không quá 7 ngày) hoặc mẫu được trữ đông. Mẫu có thể được lưu dưới -25°C đến 3 tháng nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh chu trình kết đông- xả đông.

Mẫu huyết thanh phải được đông lại hoàn toàn và, sau khi ly tâm, không được chứa hạt nào hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ bị đục sau khi đã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

##### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dụng cụ chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nhau

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm SAA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm SAA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm SAA đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

##### **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của bệnh nhân); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích

Mẫu được pha loãng tự động 1:400 với N Diluent. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng 2 giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Giá trị tham chiếu:

Đánh giá được thực hiện tự động theo mg/ L hoặc trên một đơn vị được người sử dụng lựa chọn trên hệ thống BN ProSpec- hãng Siemens.

Đối với nhóm dân số có mức CRP huyết thanh bình thường (bách phân vị thứ 95 = 5.0 mg/L, n = 483), bách phân vị thứ 95 N Latex SAA là 6.4 mg/L.

Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng nhóm dân số.

### 2. Ý nghĩa lâm sàng

SAA (*Serum Amyloid A*) là một protein giai đoạn cấp tính trong đáp ứng viêm, nhiễm trùng cũng như các quá trình không viêm nhiễm, thể hiện sự gia tăng mạnh nồng độ trong máu trong vòng vài giờ. Sự gia tăng này có thể lên đến 1000 lần nồng độ ban đầu. SAA kết hợp với lipoprotein tỉ trọng cao (HDL) và có thể làm thay đổi sự trao đổi chất của chúng trong suốt quá trình viêm. Một điều đặc biệt quan trọng của SAA là sản phẩm thoái hóa của chính nó có thể tích tụ tại nhiều cơ quan khác nhau như các vi sợi Amyloid A (AA), gây nên biến chứng nghiêm trọng trong các bệnh viêm mạn tính. Giống như Protein phản ứng C (CRP), xác định SAA rất hữu ích trong chẩn đoán các quá trình viêm, đánh giá hoạt động của chúng cũng như theo dõi các quá trình này và cách điều trị. Tuy nhiên, xét nghiệm SAA cho nhiều kết luận hơn so với CRP ở những bệnh nhân nhiễm virus, phản ứng thải bỏ với ghép thận (đặc biệt đối với bệnh nhân suy giảm miễn dịch) cũng như ở bệnh nhân xơ nang điều trị với corticoids. Trong trường hợp bệnh nhân viêm khớp, SAA được ghi nhận là có mối tương quan mật thiết với hoạt động của căn bệnh này. Xác định đồng thời hai chỉ số CRP và SAA có thể làm tăng độ nhạy cho chẩn đoán. Đối với bệnh nhân mắc bệnh thoái hóa dạng tinh bột, tình trạng bệnh có thể được cải thiện bởi liệu pháp giúp đưa mức SAA trở về giá trị bình thường.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi: Mẫu máu bị huyết tán, triglycerides > 20 g/L, bilirubin > 0.6 g/L và hemoglobin tự do > 10 g/L

- Xử trí: Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại, yêu cầu lấy mẫu máu khác để xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15,000 x g).