

QUY TRÌNH

23.232.(TT21); 23.149.(TT43) ĐỊNH LƯỢNG sTfR (soluble transferin receptor)

I. NGUYÊN LÝ

sTfR (soluble Transferin receptor- Thụ thể Transferin hòa tan) là thụ thể của transferin ở dạng hòa tan. sTfR là một protein dimer bao gồm hai tiểu đơn vị giống hệt nhau liên kết với nhau bởi cầu nối disulfide, nó có trọng lượng phân tử 190.000 Dalton. Xét nghiệm này thường được chỉ định trong bệnh thiếu máu do thiếu sắt.

Xét nghiệm sTfR là xét nghiệm miễn dịch enzyme 2 bước liên tục (kiểu “sandwich”). Mẫu được thêm vào giếng phản ứng cùng với các hạt thuận từ có phủ kháng thể kháng sTfR. Trong suốt quá trình ủ, kháng nguyên sTfR trong mẫu sẽ gắn với kháng thể kháng sTfR cố định trên pha rắn. Sau đó, phức hợp kháng thể kháng sTfR-alkaline phosphatase được thêm vào và phản ứng với một vị trí kháng nguyên khác trên phân tử sTfR. Sau khi ủ trong giếng phản ứng, các thành phần gắn với pha rắn sẽ được giữ lại trong điện trường, trong khi đó các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, chất nền quang hóa, Lummi-Phos*530, được thêm vào giếng phản ứng và ánh sáng phát ra trong phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang. Cường độ ánh sáng tỷ lệ thuận với nồng độ của sTfR trong mẫu bệnh phẩm. Lượng các chất cần phân tích có trong mẫu bệnh phẩm được xác định dựa trên đường cong hiệu chuẩn đa điểm đã chuẩn hóa được lưu trong máy.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 bác sỹ hoặc cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất:

- Phương tiện: Máy xét nghiệm DxI800- hãng Beckman Coulter.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm sTfR, chất chuẩn sTfR, chất kiểm tra chất lượng sTfR. Hoá chất đã sẵn sàng để sử dụng. Bảo quản theo phương thẳng đứng ở 2- 10°C, hóa chất ổn định cho tới hết hạn sử dụng ghi trên nhãn. Sau lần dùng đầu tiên, thuốc thử ổn định ở 2-10°C trong vòng 28 ngày.

- Khi lớp nhựa đàn hồi gắn trên hộp hoá chất bị bong ra hoặc giá trị kiểm chuẩn ra ngoài dải, hóa chất có thể đã bị hỏng. Nếu hộp hoá chất bị hỏng (ví dụ: lớp nhựa đàn hồi bị bong ra), bỏ hộp hoá chất đó đi.

R1a:	Các hạt thuận từ có phủ phức hợp streptavidin: kháng thể đơn dòng (gắn biotin) kháng thụ thể transferrin hòa tan, các protein (chuột, dê, bò), BSA, 0.1% sodium azide và 0.17% ProClin*** 300.
R1b:	Phức hợp kháng thể đơn dòng chuột kháng thụ thể transferrin hòa tan người-alkaline phosphatase (bò), BSA, 0.1% sodium azide, và 0.17% ProClin 300.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 8h ở nhiệt độ phòng (15-30°C); 7 ngày ở 2-8°C, 4 tuần ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật:

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: + Nam: (18 – 60 tuổi): 2.2 - 5.0 mg/L
+ Nữ: (18 – 45 tuổi): 1.9 – 4.4 mg/L

sTfR được xét nghiệm để chẩn đoán và theo dõi thiếu máu do thiếu sắt. Trong trạng thái bệnh lý này nồng độ sTfR trong máu tăng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:

- + Huyết thanh vàng : Bilirubin < 1026 μ mol/L
- + Huyết thanh đục: Triglycerid < 1000 mg/dL
- + Vỡ hồng cầu: Hb < 1000 mg/dL
- + Yếu tố thấp < 750 IU/mL
- + Không có hiệu ứng nồng độ cao khi sTfR < 80 mg/L

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