

QUY TRÌNH

ĐỊNH LƯỢNG CARBOHYDRATE DEFICIENT TRANSFERRIN (CDT)

I. NGUYÊN LÝ

CDT trong mẫu cạnh tranh với hạt polystyrene được phủ CDT để liên kết với kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CDT người, các kháng thể này cũng được liên kết với hạt polystyrene. Với sự hiện diện của CDT trong mẫu, các hạt polystyrene không có hoặc ít ngưng kết. Ngược lại, nếu mẫu không có CDT, sẽ có sự ngưng kết các hạt polystyrene. CDT càng cao, thì tín hiệu ánh sáng phát xạ càng thấp. Kết quả được xác định bằng cách so sánh chuẩn đã biết nồng độ.

Việc xác định CDT đóng góp quan trọng vào việc nhận diện bệnh nhân nghiện rượu mạn tính, theo dõi sự thay đổi trong tiêu thụ và ngừng sử dụng rượu. Nhiều nghiên cứu cho thấy CDT là một trong những dấu ấn đặc hiệu cho tiêu thụ rượu cao trong khoảng thời gian dài.

Các bệnh không do rượu có thể làm tăng CDT bao gồm viêm gan mạn hoạt động, xơ gan mật nguyên phát, suy gan và hội chứng hiếm gặp CDG (carbohydrate- deficient glycoprotein).

Việc tính toán %CDT từ CDT và transferrin cho phép giảm thiểu ảnh hưởng của mức chuyển vị, tình trạng sắt, và giới hạn từ thấp đến trung bình của chức năng gan trên kết quả CDT. Có thể nâng cao độ đúng chẩn đoán bằng cách kết hợp CDT và γ GT (γ -glutamyltransferase)

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

Máy phân tích: BN ProSpec

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

- Thuốc thử chính N CDT Reagent 1: Hỗn dịch của hạt polystyrene được phủ bởi carbohydrate-deficient transferrin (< 0.017 g/L). Đóng gói: 3 x 0.9 mL

- Thuốc thử chính N CDT Reagent 2: Hỗn dịch của hạt polystyrene được phủ với kháng thể kháng CDT đơn dòng (chuột) (< 9 mg/L). Đóng gói: 3 x 0.9 mL

- Thuốc thử phụ N CDT Supplementary Reagent: Dung dịch muối đệm phosphate với polyethylene glycol sorbitan monolaurate (5 g/L) và EDTA (< 0.2 mol/L). Đóng gói: 3 x 2 mL

- Chất hiệu chuẩn N CDT Standard SL: Huyết thanh người ổn định và carbohydrate-deficient transferrin. Nồng độ của CDT đã được hiệu chuẩn với CDT tinh khiết tham chiếu. Đóng gói: 3 x 1 mL

- Chất kiểm chuẩn N CDT Control SL/1 và N CDT Control SL/2: Mỗi loại bao gồm nền huyết thanh người ổn định và carbohydrate-deficient transferrin. Nồng độ của CDT được hiệu chuẩn với N CDT Standard SL tham chiếu. Đóng gói: 3 x 1 mL

- Chất bảo quản:

+ N CDT Reagent 1 và N CDT Reagent 2: Gentamicin 6.25 mg/L, Amphotericin 0.625 mg/L

+ N CDT Supplementary Reagent, N CDT Standard SL, N CDT Control SL/1 and N CDT Control SL/2: sodium azide < 1 g/L

Chuẩn bị thuốc thử

Thuốc thử, chất hiệu chuẩn, chất kiểm chuẩn sẵn sàng cho sử dụng và không cần chuẩn bị. Lắc đều trước lần sử dụng đầu tiên

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm;

- Găng tay, nước rửa tay, khăn lau tay, khẩu trang;

- Bông, cồn 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: Dùng huyết thanh

Mẫu bệnh phẩm thích hợp là mẫu, mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày) hoặc mẫu được trữ đông. Mẫu có thể được lưu tại nhiệt độ -20 °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 hoặc mẫu bị đục sau khi rã 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

Dựng đường 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 CDT. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CDT. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CDT 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 1:5 bằng N Diluent và cần được đo trong vòng 4 giờ. Việc lựa chọn độ pha loãng khác 1:5 là không được phép.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng tham chiếu: ở người khỏe mạnh và không sử dụng rượu, CDT trong huyết tương: 28.1 – 76.0 mg/L CDT. %CDT: 1.19 – 2.47%.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi: Mẫu máu bị huyết tán, nồng độ triglycerides > 16.2 g/L, bilirubin > 0.6 g/L và hemoglobin tự do > 10 g/L, và RF > 3,390 IU/ML

Đối với mẫu chứa kháng thể heterophilic có thể phản ứng miễn dịch và cho kết quả cao hoặc thấp hơn giá trị thực tế. Xét nghiệm này đã được thiết kế nhằm tối thiểu sự ảnh hưởng từ kháng thể heterophilic. Tuy nhiên, sự loại bỏ tất cả ảnh hưởng này trên tất cả các mẫu bệnh nhân là không được đảm bảo.

Đánh giá chẩn đoán của giá trị% CDT được thành lập với N Latex CDT bị hạn chế đối với các mẫu với nồng độ transferrin rất thấp (<1.2 g/L transferrin).

- 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.

Đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện 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).