

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT MẪU NƯỚC TIỂU GIẢ ĐỊNH ỨNG DỤNG TRONG NGOẠI KIỂM TỔNG PHÂN TÍCH 10 THÔNG SỐ NƯỚC TIỂU

Hà Mạnh Tuấn¹; Vũ Quang Huy^{1,2,3}; Trần Nhật Nguyên¹; Đặng Hùng Linh¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: nghiên cứu sản xuất mẫu ngoại kiểm nước tiểu giả định đạt tiêu chuẩn ISO 17043 nhằm tiến tới sản xuất ứng dụng trong chương trình ngoại kiểm tổng phân tích 10 thông số nước tiểu. Đánh giá tính đồng nhất và độ ổn định của bộ mẫu đã sản xuất thử nghiệm theo ISO GUIDE 35:2006 (TCVN 8245: 2009). **Phương pháp:** nghiên cứu thực nghiệm. Mẫu nước tiểu âm tính được sản xuất và làm nền để sản xuất bộ mẫu nước tiểu dương tính với những thông số đã định trước. Bộ mẫu sản xuất sẽ được đánh giá tiền phân tích và đánh giá độ đồng nhất trước khi chia thành 2 lô bảo quản ở 2 điều kiện nhiệt độ khác nhau là 2 - 8°C và -20°C. Sau đó, đánh giá độ ổn định dài hạn trong 3 tháng tại 6 thời điểm sau khi sản xuất: 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần, 8 tuần và 12 tuần. **Kết quả:** xây dựng hoàn chỉnh quy trình sản xuất mẫu ngoại kiểm 10 thông số nước tiểu. Mẫu nước tiểu giả định đạt độ đồng nhất sau sản xuất và đạt độ ổn định theo thời gian trong 3 tháng sau sản xuất ở cả 2 điều kiện nhiệt độ 2 - 8°C và -20°C đối với tất cả 10 thông số, đủ tiêu chuẩn để ứng dụng trong chương trình ngoại kiểm theo tiêu chuẩn ISO 17043. **Kết luận:** sản xuất được mẫu nước tiểu giả định dương tính với từng thông số cụ thể nhằm ứng dụng vào chương trình ngoại kiểm tổng phân tích 10 thông số nước tiểu. Bộ mẫu sau khi sản xuất đạt độ đồng nhất.

* Từ khóa: Mẫu nước tiểu; Ngoại kiểm; Mẫu nước tiểu giả định.

Study of Manufacturing Simulated Urine Application in Urinalysis of 10 Parameters in External Quality Assessment

Summary

Objectives: To study manufacturing simulated urine according to ISO 17043 standards to proceed to produce application in urinalysis of 10 parameters in external quality assessment. To evaluate homogeneity and stability of the sample set produced according to ISO GUIDE 35:2006 (TCVN 8245:2009). **Methods:** Experimental study. A negative urine sample is produced and made to produce a positive urine sample set with predetermined parameters. The set of samples produced will be evaluated for pre-analysis and assessment of homogeneity before being divided into 2 storage lots at 2 different temperature conditions of 2 - 8°C and -20°C.

1. Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

2. Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

3. Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học, Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Người phản hồi (Corresponding): Vũ Quang Huy (drvquanghuy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 15/04/2019; **Ngày phản biện đánh giá bài báo:** 22/05/2019

Ngày bài báo được đăng: 23/05/2019

The long-term stability is assessed for 3 months at 6 points after production, which is 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks, 8 weeks and 12 weeks. Results: Complete construction of the 10-parameter urine specimen production process. Urine simulated samples were homogeneity after production and were stable over time within 3 months after production in both temperature conditions 2 - 8°C and -20°C for all 10 parameters, qualified for application in external quality assessment according to ISO 17043 standards. Conclusions: Produce a positive urine sample with specific parameters. Sample set after production reaches uniformity

* Keywords: Urinalysis; External quality assessment; Simulated urine.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong lĩnh vực y tế hiện nay, kết quả xét nghiệm rất quan trọng cho việc chẩn đoán, điều trị, theo dõi và tiên lượng bệnh, do đó cần có phương pháp kiểm soát chất lượng khi thực hiện xét nghiệm. Để đảm bảo chất lượng xét nghiệm, mỗi đơn vị cần triển khai hệ thống quản lý chất lượng theo hướng dẫn Thông tư số 01/2013/TT-BYT của Bộ Y tế [5], khuyến cáo của CLSI, CDC và Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) [9].

Nội kiểm (IQC) và ngoại kiểm (EQA) có tầm quan trọng hàng đầu trong đảm bảo chất lượng xét nghiệm. Chương trình ngoại kiểm giúp các phòng xét nghiệm theo dõi chất lượng một cách có hệ thống, có cái nhìn khách quan về thực trạng của đơn vị mình. EQA giúp phòng xét nghiệm trong việc kiểm soát chất lượng xét nghiệm giai đoạn xét nghiệm, đồng thời EQA như là công cụ minh chứng cho sự hoàn thiện của hệ thống chất lượng trong phòng xét nghiệm, góp phần không nhỏ để chẩn đoán và điều trị bệnh nhân (BN) [6].

Ở nước ta, tuy có thể cung cấp chương trình EQA, nhưng chủ yếu là hợp tác với các cơ quan tổ chức uy tín nước ngoài và chưa có bất kỳ một công trình nào trong nước công bố về sản xuất mẫu

ngoại kiểm nước tiểu. Điều đó khiến cho các mẫu ngoại kiểm khi được phân phối về có giá thành cao, các phòng xét nghiệm tham gia ngoại kiểm gặp nhiều khó khăn về vấn đề kinh phí và bị động trong cung cấp mẫu ngoại kiểm, do đó cần chủ động trong sản xuất và cung cấp mẫu EQA.

Theo Vũ Quang Huy và CS, tỷ lệ các đơn vị tham gia ngoại kiểm tăng qua các năm (24,9% năm 2015 lên 61,8% năm 2018). Trong đó, phần lớn các đơn vị tham gia chương trình ngoại kiểm sinh hóa, huyết học, 6 tháng đầu năm 2018, tỷ lệ này đạt > 80% [4]. Riêng chương trình ngoại kiểm tổng phân tích nước tiểu tính đến năm 2018 là chương trình nằm trong chương trình ngoại kiểm phối hợp với RANDOX, số lượng các phòng xét nghiệm tăng liên tục qua hàng năm, nhưng tỷ lệ các phòng xét nghiệm tham gia rất thấp.

Vì vậy, để bảo đảm chất lượng xét nghiệm, đáp ứng nhu cầu tham gia ngoại kiểm của các phòng xét nghiệm, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài này với mục tiêu:

Nghiên cứu thử nghiệm sản xuất mẫu ngoại kiểm nước tiểu giả định nhằm tiến tới sản xuất ứng dụng trong chương trình ngoại kiểm đạt tiêu chuẩn ISO 17043:2011 [2].

Đánh giá tính đồng nhất và độ ổn định của bộ mẫu sản xuất thử nghiệm.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

Mẫu nước tiểu giả định ứng dụng trong ngoại kiểm tổng phân tích nước tiểu.

** Địa điểm nghiên cứu:*

Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học, Bộ Y tế (Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh) đạt tiêu chuẩn ISO 9001 AJA tháng 2 - 2017; ISO 17043: đánh giá ban đầu tháng 7 - 2017 đang được Sở Dịch vụ Khoa học, Bộ Khoa học Công nghệ Thái Lan đánh giá công nhận.

2. Phương pháp nghiên cứu.

** Thiết kế nghiên cứu:*

Nghiên cứu thực nghiệm, nghiên cứu sản xuất mẫu nước tiểu giả định ứng dụng trong ngoại kiểm tổng phân tích 10 thông số nước tiểu, đánh giá độ đồng nhất và tính ổn định các mẫu đã sản xuất theo thời gian và theo nhiệt độ tại Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

** Phương pháp tiến hành:*

Mẫu nước tiểu âm tính được sản xuất dựa theo công thức điều chế mẫu nước tiểu nhân tạo sử dụng trong đánh giá phòng xét nghiệm [7].

Mẫu nước tiểu có thông số dương tính sẽ được pha chế dựa trên vật liệu nền là mẫu nước tiểu giả định âm tính đã pha chế sẵn.

Cách thức pha chế cho từng thông số dương tính [8]:

- Tỷ trọng: mẫu nước tiểu âm tính sau khi tạo ra có tỷ trọng đạt từ 1,015 - 1,025.

Điều chỉnh tỷ trọng cao hay thấp bằng cách thêm vào một lượng chất hòa tan NaCl và KCl hay giảm đi trong giai đoạn tạo mẫu nước tiểu âm tính.

- pH: mẫu nước tiểu âm tính sau khi tạo ra có nồng độ pH từ 5,0 - 6,0. Muốn giảm pH nước tiểu, cho thêm một lượng HCl 1N xác định cho đến khi đạt độ pH mong muốn, để tăng pH nước tiểu, thêm một lượng NaOH cho đến khi đạt được độ pH cần điều chỉnh.

- Glucose: để tạo mẫu nước tiểu dương tính với glucose, sử dụng bột glucose 100%.

- Nitrite: sử dụng tinh thể sodium nitrite để tạo mẫu nước tiểu dương tính với nitrite.

- Protein: tạo protein trong nước tiểu bằng cách thêm một lượng huyết thanh đã biết trước nồng độ protein đến khi đạt được nồng độ mong muốn.

- Hồng cầu: sử dụng mẫu hồng cầu rửa đã biết trước nồng độ để tạo mẫu nước tiểu dương tính đối với hồng cầu.

- Keton: sử dụng axit acetoacetic 99,5% để tạo mẫu nước tiểu dương tính với keton.

- Bạch cầu: emzym esterase của bạch cầu là chất sử dụng để phát hiện sự có mặt của bạch cầu trong nước tiểu.

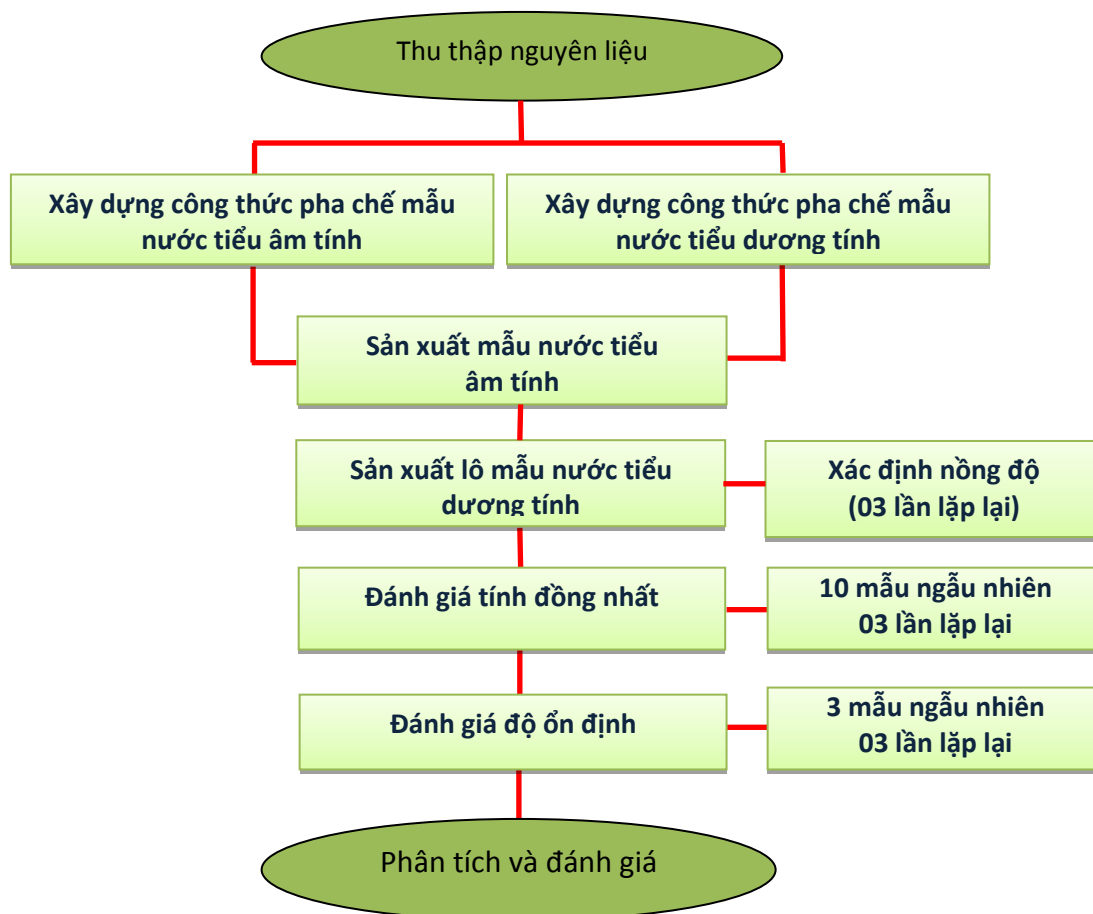
- Bilirubin: thêm vào bột bilirubin để tạo kết quả dương tính với bilirubin trong nước tiểu giả định.

- Urobilinogen: thêm vào dung dịch urobilinogen đã biết trước nồng độ mẫu nước tiểu giả định.

Mẫu sau khi được sản xuất sẽ đánh giá tiền phân tích, độ đồng nhất và độ ổn định theo thời gian và nhiệt độ theo hướng dẫn của Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8245:2009 tương đương với ISO

GUIDE 35:2006 về Mẫu chuẩn - Nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận với một số loại mẫu chuẩn [1] và Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9596:2013

tương ứng với ISO 13528:2003 về Phương pháp thống kê dùng trong thử nghiệm thành thạo bằng so sánh liên phòng thí nghiệm [3].



Hình 1: Sơ đồ quy trình thực hiện nghiên cứu sản xuất mẫu nước tiểu giả định.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Sản xuất thử nghiệm mẫu nước tiểu giả định 10 thông số pha chế dựa trên chất nền là mẫu nước tiểu âm tính.

Bộ mẫu nước tiểu âm tính được sản xuất có các tính chất về màu sắc, độ đục trong và thành phần hóa học tương đồng với mẫu nước tiểu thật. Bộ mẫu nước tiểu dương tính với từng thông số nhất định

được sản xuất bằng cách thêm các chất tương ứng vào vật liệu nền là mẫu nước tiểu âm tính giả định và điều chỉnh nồng độ sao cho kết quả như dự định (SG = 1,010; pH = 8,0; GLU = 500 mg/dl, KET = 100 mg/dl, NIT = positive, LEU = 25 leukocyte/ μ l, URO = 2 mg/dl, BIL = 17 μ mol/l, BLO = 50 erythrocytes/ μ l, PRO = 100 mg/dl).

Bảng 1: Kết quả bộ mẫu dương tính 10 thông số được sản xuất.

Thông số	SG	pH	GLU	KET	NIT	LEU	URO	BIL	BLO	PRO
Kết quả	1,010	8,0	500 mg/dl	100 mg/dl	+	25 leuko/ μ l	2 mg/dl	17 μ mol/l	50 Ery/ μ l	100 mg/dl

Mẫu sau khi sản xuất được đánh giá tiền phân tích, đánh giá độ đồng nhất, sau đó phân thành 2 lô mẫu để đánh giá độ ổn định dài hạn theo thời gian (3 tháng) và theo nhiệt độ bảo quản (2 - 8°C và -20°C).

Bảng 2: Kết quả tiền phân tích.

Thông số	SG	pH	GLU	KET	NIT	LEU	URO	BIL	BLO	PRO
Kết quả (p)	0,8865	0,9135	0,9853	0,9997	+	0,9830	0,9853	0,9968	0,9853	0,9853

Bộ mẫu trước khi chia lô, chọn 10 mẫu đo nhằm đánh giá kết quả ban đầu của bộ mẫu sau sản xuất trước khi chia nhỏ thành các mẫu.

Bảng 3: Kết quả đánh giá độ đồng nhất.

Thông số	SG	pH	GLU	KET	NIT	LEU	URO	BIL	BLO	PRO
Kết quả (p)	0,8091	0,9135	0,9853	0,9997	+	0,9853	0,9853	0,9909	0,9968	0,9979

Giá trị p của 10 thông số đều > 0,05, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Bộ mẫu sản xuất đạt tính đồng nhất và chia thành 2 lô bảo quản ở 2 điều kiện nhiệt độ khác nhau (2 - 8°C và -20°C).

Bảng 4: Kết quả đánh giá độ ổn định dài hạn ở điều kiện nhiệt độ 2 - 8°C (p)

		SG	pH	GLU	KET	NIT	LEU	URO	BIL	BLO	PRO
2 - 8°C	1 tuần	0,1541	0,9454	0,8863	0,0656	+	0,8629	0,8629	0,9242	0,3376	0,6535
	2 tuần	0,4382	0,5520	0,5475	0,3598	+	0,5223	0,5223	0,0930	0,7004	0,8512
	4 tuần	0,5490	0,5520	0,4111	0,3598	+	0,1759	0,8629	0,0930	0,7915	0,2612
	6 tuần	0,4382	0,9454	0,8863	0,0656	+	0,5223	0,5223	0,0930	0,3376	0,6535
	8 tuần	0,4382	0,5520	0,4111	0,3598	+	0,0454	0,1759	0,0197	0,7004	0,8512
	12 tuần	0,5490	0,2231	0,8863	0,0656	+	0,0015	0,0454	0,0034	0,1115	0,4261

Lô mẫu bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 2 - 8°C có các thông số SG, pH, GLU, KET, BLO, PRO đạt độ ổn định trong thời gian 3 tháng với p > 0,05. Thông số NIT đạt độ ổn định 3 tháng với giá trị dương tính như ban đầu. Thông số LEU chỉ đạt độ ổn định trong 6 tuần, p tuần 8 = 0,0454 < 0,05. Thông số BIL đạt độ ổn định trong 6 tuần, p ở tuần 8 = 0,0197 < 0,05. Thông số URO đạt độ ổn định trong 8 tuần, p ở tuần 12 = 0,0454 < 0,05.

Bảng 5: Kết quả đánh giá độ ổn định dài hạn ở điều kiện nhiệt độ -20°C (p).

		SG	pH	GLU	KET	NIT	LEU	URO	BIL	BLO	PRO
-20°C	1 tuần	0,4382	0,9454	0,8863	0,3598	+	0,8629	0,8629	0,9242	0,3376	0,2612
	2 tuần	0,4379	0,4318	0,5475	0,0656	+	0,5223	0,5223	0,3424	0,7915	0,6535
	4 tuần	0,9576	0,5520	0,4111	0,5839	+	0,1759	0,8629	0,3424	0,7004	0,2612
	6 tuần	0,1541	0,9454	0,5475	0,3598	+	0,5223	0,5223	0,0930	0,7915	0,6535
	8 tuần	0,9576	0,9454	0,4111	0,3598	+	0,5223	0,5223	0,3424	0,7004	0,8512
	12 tuần	0,5490	0,5520	0,8863	0,0656	+	0,1759	0,1759	0,0930	0,7004	0,8512

Lô mẫu bảo quản ở điều kiện nhiệt độ -20°C, tất cả 10 thông số SG, pH, GLU, KET, LEU, URO, BIL, BLO, PRO đều đạt độ ổn định trong thời gian 3 tháng với $p > 0,05$. Lô mẫu bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 2 - 8°C, các thông số SG, pH, GLU, KET, BLO, PRO đạt độ ổn định trong thời gian 3 tháng, $p > 0,05$.

BÀN LUẬN

1. Sản xuất thử nghiệm mẫu nước tiểu giả định bao gồm mẫu nước tiểu âm tính và mẫu dương tính được pha chế dựa trên chất nền là mẫu nước tiểu âm tính.

Quy trình sản xuất mẫu nước tiểu giả định bắt đầu từ khi chuẩn bị nguyên liệu sản xuất. Mẫu nước tiểu giả định sản xuất dựa trên công thức sản xuất mẫu nước tiểu dùng trong phòng thí nghiệm và đáp ứng mục tiêu của ngoại kiểm nhằm kiểm tra chất lượng về trang thiết bị, hóa chất và kỹ thuật của người thực hiện xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu.

Các nguyên liệu sử dụng trong quá trình sản xuất được đảm bảo nguồn gốc và an toàn tuyệt đối cho người thực hiện. Hóa chất sử dụng có nguồn gốc rõ ràng và đạt tiêu chuẩn nhất định. Những loại chế phẩm máu được sàng lọc kỹ trước

khi thực hiện sản xuất, mẫu máu mua tại Bệnh viện Huyết học - Truyền máu Thành phố Hồ Chí Minh.

Các giai đoạn tiếp theo được thực hiện theo đúng ISO 17043:2011 về đánh giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo. Chúng tôi đánh giá độ đồng nhất và độ ổn định của mẫu sản xuất theo ISO 13528:2015 và theo hướng dẫn của ISO Guide 35:2006 về Mẫu chuẩn - Nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận.

2. Độ đồng nhất và độ ổn định của bộ mẫu sản xuất theo thời gian và theo điều kiện nhiệt độ.

Bộ mẫu sau khi sản xuất chia thành 2 lô bảo quản ở 2 điều kiện nhiệt độ (2 - 8°C và -20°C) trong 3 tháng nhằm đánh giá sự ổn định các thông số theo 2 điều kiện nhiệt độ khác nhau và theo thời gian. Kết quả đánh giá ổn định cho thấy:

lô mẫu bảo quản ở điều kiện nhiệt độ -20°C đạt độ ổn định trong 3 tháng ở tất cả 10 thông số. Lô mẫu bảo quản ở nhiệt độ $2 - 8^{\circ}\text{C}$, các thông số LEU, URO, BIL có độ ổn định ngắn hơn 3 tháng (LEU và BIL ổn định 6 tuần, URO ổn định 12 tuần). Điều này có thể do khi bảo quản ở $2 - 8^{\circ}\text{C}$, enzym esterase leukocyte bị giảm hoạt tính theo thời gian, do nhiệt độ bảo quản của enzym là -20°C , riêng URO và BIL có thể bị ảnh hưởng bởi yếu tố ánh sáng.

KẾT LUẬN

- Bộ mẫu nước tiểu giả định dương tính với từng thông số cụ thể: tỷ trọng, pH, glucose, protein, urobilinogen, bilirubin, nitrite, leukocyte, keton, blood được sản xuất thử nghiệm thành công nhằm ứng dụng vào chương trình ngoại kiểm tổng phân tích 10 thông số nước tiểu.

- Các bộ mẫu sau khi sản xuất đều đồng nhất với nhau.

- Mẫu nước tiểu sản xuất ra đạt độ ổn định trong thời hạn 3 tháng ở điều kiện nhiệt độ -20°C . Riêng bộ mẫu giữ ở $2 - 8^{\circ}\text{C}$, leukocyte và bilirubin ổn định chỉ trong 6 tuần, urobilinogen ổn định trong 8 tuần, những thông số còn lại ổn định trong 3 tháng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 8245:2009 ISO Guide 35:2006*. Mẫu chuẩn - Nguyên tắc chung và nguyên tắc thống kê trong chứng nhận. 2009, tr.18-43.
2. *Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 17043:2011 ISO 17043:2010*. Đánh giá sự phù hợp - yêu cầu chung đối với thử nghiệm thành thạo. 2011, tr.13-23.
3. *Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 9596:2013 ISO 13528:2003*. Phương pháp thống kê dùng trong thử nghiệm thành thạo bằng so sánh liên phòng thí nghiệm. 2013, tr.56-61.
4. *Vũ Quang Huy và CS*. Nâng cao chất lượng xét nghiệm y học từ 2015 đến 6 tháng đầu 2018 qua các chương trình ngoại kiểm. Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học, Bộ Y tế tại Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Y học TP. Hồ Chí Minh. 2018, 22 (5), tr.290-297.
5. *Bộ Y tế*. Thông tư 01 hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám chữa bệnh. 2013.
6. *Clinical and Laboratory Standards Institute QMS01-A4*. Quality management system: A model for laboratory services. Approved Guideline Fourth edition. 2011.
7. *Brian Shmaefsky*. Artificial Urine for Laboratory Testing. 1995, 57 (7), pp.428-430
8. *Susan King Strasinger, Marjorie Schaub Di Lorenzo*. Urinalysis and body fluids. FA Davis. 2014
9. *WHO*. Overview of External Quality Assessment (EQA). pp.1-8.