



(12) **BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
1-0021005

(51)⁷ **C12Q 1/32, A61B 5/1464, G01N 33/573, (13) B**
A61B 10/00, 5/15, G01N 33/543

(21)	1-2011-02430	(22)	23.04.2009
(62)	1-2010-02713		
(86)	PCT/SE2009/050426	23.04.2009	(87) WO2009/126110
(30)	12/101,470	11.04.2008	US
(45)	27.05.2019	374	(43) 26.11.2012
(73)	CALMARK SWEDEN AKTIEBOLAG (SE)		296
	c/o Mathias Karlsson, Ekasvagen 2, SE-653 42, Karlstad, Sweden		
(72)	KARLSSON, Mathias (SE), HIORT af ORNAS, Sofia (SE)		
(74)	Văn phòng luật sư Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)		

(54) **PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG THIẾU OXY Ở ĐƯỜNG TIÊU HÓA CỦA ĐỘNG VẬT CÓ VÚ**

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp đánh giá tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa của động vật có vú, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: a. thu mẫu máu đầu tiên, ban đầu hoặc đường nền từ đường tiêu hóa, mẫu máu này bao gồm huyết tương và tế bào máu; b. tách huyết tương ra khỏi tế bào máu; c. xác định lượng lactat dehydrogenaza (LDH) trong huyết tương; d. thu mẫu máu thứ hai từ đường tiêu hóa, mẫu máu này bao gồm huyết tương và tế bào máu; e. tách huyết tương ra khỏi tế bào máu trong mẫu thứ hai này; f. xác định lượng lactat dehydrogenaza (LDH) trong huyết tương trong mẫu thứ hai này; g. so sánh lượng lactat dehydrogenaza trong mẫu thứ hai với lượng lactat dehydrogenaza trong mẫu thứ nhất; h. đánh giá mức độ tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa theo lượng LDH trong huyết tương; và i. nhận diện vị trí nổi trên cơ sở đánh giá mức độ tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp đánh giá tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa của động vật có vú.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện tượng ngạt cấp tính trong quá trình sinh nở, tức là tình trạng thiếu oxy (mức bão hoà oxy không đủ trong máu thai nhi) trước hoặc trong khi sinh nở, gây tổn thương hệ thần kinh dưới dạng bệnh não do thiếu oxy huyết (hypoxic-ischemic encephalopathy - HIE) ở trẻ sơ sinh. Hiện tượng này xuất hiện ở tỷ lệ 2-9/1000 trẻ sơ sinh, dẫn tới chứng liệt não (cerebral palsy - CP) và tử vong trong các trường hợp nặng. Trên thế giới mỗi năm có khoảng 4 triệu trẻ sơ sinh bị chết và khoảng 23% trường hợp bị ngạt cấp tính trong quá trình sinh nở. Do thiếu các nguồn tài nguyên, nên các nước kém phát triển bị thiệt thòi hơn, tuy nhiên ở các nước phương Tây, đây cũng là một vấn đề nan giải. Thụy Điển có thể xem là một đất nước tiêu biểu cho các nước phương Tây thì hiện tượng ngạt vẫn chiếm khoảng 7/1000 ca sinh nở, làm 2/1000 trẻ sinh ra bị mắc chứng HIE. Để phòng ngừa các tổn thương lâu dài do hiện tượng ngạt trong quá trình sinh nở, thì điều quan trọng là phải phát hiện được tình trạng thiếu oxy ở thai nhi nhanh nhất có thể ngay khi hiện tượng này mới xuất hiện. Việc phát hiện nhanh cho phép đưa ra quyết định có nên can thiệp ở giai đoạn chưa xảy ra những tổn thương lâu dài hay không. Phương pháp can thiệp chủ yếu là phải lấy đứa trẻ ra càng nhanh càng tốt bằng dụng cụ, cụ thể bằng thủ thuật xê-da.

Hiện nay, hiện tượng ngạt cấp tính trong quá trình sinh nở được phát hiện bằng cách kiểm tra nhịp tim thai, sau đó xác định độ pH hoặc lượng lactat trong máu thu từ da đầu thai nhi được thu mẫu qua đường âm đạo nếu nhận thấy nhịp tim thai có tiên lượng xấu.

Độ pH và lactat là các dấu hiệu của chứng nhiễm axit chuyển hoá gây ra bởi sự thay đổi đột ngột sang quá trình chuyển hoá kỵ khí trong trường hợp oxy được cấp không đủ. Khi thai nhi thiếu oxy, pyruvat sẽ được chuyển hoá thành lactat và sinh ra năng lượng. Hiện nay, việc xác định độ pH là một tiêu chuẩn vàng. Tuy nhiên, việc

xác định sớm độ pH đòi hỏi phải lấy 35µl máu từ da đầu, là điều không dễ thực hiện. Lỗi trong việc xác định đầu tiên là khá phổ biến (20%) như một số nghiên cứu đã chỉ ra. Lactat được xác định đơn giản hơn vì chỉ cần 5µl máu và phân tích có thể được thực hiện ngay trên giường bệnh. Lactat có thể được phân tích trong vòng 1 phút, tức là đủ nhanh.

Lactat và độ pH cũng là các dấu hiệu của hiện tượng ngạt cấp tính. Lactat và độ pH có thể là dấu hiệu về việc thai nhi hoàn toàn khỏe mạnh có thể bất ngờ bị giảm oxy huyết do tình trạng thiếu máu cục bộ trong quá trình sinh nở. Một tỷ lệ đáng kể trong số những đứa trẻ bị giảm oxy huyết do thiếu máu cục bộ ở não đã có giai đoạn thiếu oxy do thiếu máu cục bộ trước khi vào pha sinh. Những đứa trẻ này dễ bị thiếu oxy huyết do thiếu máu cục bộ hơn trong quá trình sinh nở và không đáp ứng theo cách giống như các thai nhi khỏe mạnh, và do đó các phương pháp thường sử dụng là không thích hợp đối với nhóm bệnh nhân này.

Phương pháp kiểm soát quá trình sinh nở bao gồm bước xác định lượng lactat trong các dịch lỏng, như dịch âm đạo, đã được bộc lộ trong WO 2005/034762 A1. Các kết quả sơ bộ thu được từ nghiên cứu ngẫu nhiên của Thụy Điển mới đây về độ pH và lactat trong máu thai nhi ở thời kỳ thai nghén cho thấy rằng lactat, với vai trò là dấu hiệu nhiễm axit, là cũng quan trọng như độ pH. Cả lactat và độ pH không phải là các yếu tố tiên lượng lý tưởng của chứng HIE ở mức độ vừa phải/trầm trọng: độ nhạy chỉ là 67% đối với lactat và 50% đối với độ pH, trong khi đó độ đặc hiệu của chúng là tương đương nhau, 76% đối với lactat và 73% đối với độ pH. Cũng như vậy, độ nhạy và độ đặc hiệu trong tiên lượng chứng nhiễm axit ở trẻ sơ sinh là nhỏ hơn 70% đối với cả lactat và độ pH. Báo cáo gần đây ở Thụy Điển cho rằng ngay cả khi kiểm soát thai nhi bằng cách kết hợp điện tâm đồ (cardiotography - CTG) và STAN (phân tích phân đoạn điện tâm đồ ST - analysis of the cardiographic ST segment), thì vẫn có rủi ro là không phát hiện được hiện tượng ngạt trong quá trình sinh nở, có thể gây ra tổn thương ở não (SBU Alert-rapport nr 2006-04).

Các enzym có mức tăng ở trẻ sơ sinh bị ngạt trong quá trình chuyển dạ là LDH (lactat dehydrogenaza), ALT (alanin aminotransferaza) và AST (aspartat aminotransferaza) cũng được biết là các enzym ở gan. LDH được tìm thấy trong hầu hết các tế bào của cơ thể và được xem là enzym không đặc hiệu. Do đó, LDH hiếm khi được sử dụng trong lâm sàng. Trước đây, LDH được sử dụng làm chất đánh dấu tổn

thương cơ tim, nhưng hiện nay LDH đã được thay thế bằng các thử nghiệm đặc hiệu hơn. AST và đặc biệt là ALT đặc hiệu hơn đối với các tổn thương ở gan. Trong một nghiên cứu về ảnh hưởng của quá trình chuyển dạ và sinh tới mức các enzym gan trong huyết tương ở trẻ sơ sinh ở nhóm phụ nữ Trung Quốc có nguy cơ thấp, LDH (lactat dehydrogenaza), ALT (alanin transaminaza), AST (aspartat transaminaza), GGT (γ -glutamyl transaminaza) được xác định và có liên quan tới các đặc tính của mẹ và đặc tính mới sinh (Mongrelli M et al., J Obstet Gynaecol Res, 26(1): 61-63, 2000).

Nếu thai nhi bị giảm oxy huyết trong quá trình sinh hoặc gần sinh, thì dòng máu trong cơ thể chúng sẽ được phân bố lại từ “các cơ quan kém quan trọng hơn” (thận, gan, mỡ và ruột) ưu tiên đến não, tim và tuyến thượng thận. Điều này làm tổn thương các tế bào ở các cơ quan không được ưu tiên. Sự tổn thương tế bào làm enzym thoát ra, đi vào vòng tuần hoàn. Nếu tình trạng thiếu oxy trở nên nghiêm trọng, thì các tế bào sẽ bị chết, và nồng độ enzym sẽ tăng cao hơn trong máu. Tốc độ suy giảm LDH, AST và ALT (trong khoảng thời gian từ 12 đến 36 giờ) có thể được dùng để phát hiện các trường hợp dễ bị giảm oxy huyết do chứng thiếu máu cục bộ trong quá trình sinh do chứng giảm oxy huyết bắt đầu xảy ra trước khi sinh. Tình trạng thiếu oxy cũng ảnh hưởng đến trạng thái cân bằng của các chất điện phân trong cơ thể thai nhi. Một ví dụ là dòng canxi chuyển từ máu vào các tế bào trong quá trình giảm oxy huyết. Nhận thấy rằng nồng độ của canxi đã được ion hoá trong huyết thanh sẽ tăng lên trong thời gian thiếu oxy ở mô hình động vật mới sinh. Canxi cũng tiên lượng kết quả tác động (gây tổn thương hoặc không gây tổn thương não) ở đứa trẻ. Các enzym và chất điện phân có liên quan khác có thay đổi trong quá trình giảm oxy huyết ở động vật có vú mới sinh là kali (K^+), magie (Mg^{2+}), natri (Na^+), glucoza, creatinin kinaza (CK) và GGT.

Hàng năm trên thế giới có khoảng 4 triệu trẻ sơ sinh tử vong và khoảng 23% trong số các ca tử vong này là do hiện tượng ngạt cấp tính trong quá trình sinh nở gây ra. Cơ chế bệnh lý của tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ làm tổn hại các noron thần kinh trong não là cơ chế lưỡng pha được bắt đầu bằng pha sơ bộ xảy ra ngay sau khi sinh. Nếu đứa trẻ tỉnh lại hoàn toàn, thì sau pha sơ bộ này sẽ có quãng nghỉ kéo dài vài giờ. Ở hai trong số bảy đứa trẻ bị ngạt, sau quãng nghỉ này sẽ xảy ra hiện tượng thiếu hụt năng lượng thứ cấp làm chết tế bào trẻ ở não trẻ và hiện tượng lâm sàng co giật (cũng đã biết là HIE). Quãng nghỉ cho phép giảm tối đa khả năng chết của tế bào trẻ bằng cách điều trị hạ thân nhiệt (làm lạnh nhiệt độ não trẻ xuống $34,5^{\circ}C$). Tuy

hiện, hiện nay chưa có phương pháp tiên lượng đáng tin cậy để xác định xem đứa trẻ có bị mắc chứng HIE hay không và do đó việc điều trị hạ thân nhiệt sẽ có lợi hay không.

Tình trạng thiếu oxy không những xảy ra trong quá trình sinh và gần lúc sinh, mà còn liên quan đến nhiều bệnh khác. Ví dụ, bệnh ung thư ruột già là một trong những bệnh ung thư phổ biến nhất ở cả hai giới, tỷ lệ mắc bệnh này đang tăng lên hàng năm. Hiện nay, việc điều trị bao gồm tiến hành phẫu thuật trong đó để lấy khối u ra cùng với phần cuối của ruột. Trong phần lớn các trường hợp này, đầu xa của ruột và đầu gần của ruột sau đó được nối lại với nhau. Thủ thuật này được gọi là thủ thuật nối. Trong quá trình phẫu thuật này, máu ở động mạch cung cấp cho phần ruột tại vị trí có khối u bị ngắt quãng khi mạch máu bị cắt. Các biến chứng hậu phẫu do sự rò rỉ chỗ nối có thể được xuất hiện ở 7-10% trường hợp phẫu thuật. Trong các trường hợp như vậy, các chất chứa trong ruột sẽ bị rò rỉ vào bụng và gây ra chứng viêm, chứng viêm màng bụng, nhiễm trùng và có khả năng dẫn tới tử vong. Nguyên nhân chính gây ra biến chứng này là máu không được cung cấp đủ cho phần nối (tức là tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ) là nguyên nhân của sự cắt bỏ các mạch máu. Giải pháp hiện nay là phải phẫu thuật lại. Hiện nay, không thể dự đoán trước liệu được chỗ nối có bị rò rỉ hay không.

Các lĩnh vực khác cần quan tâm đến giảm oxy huyết bao gồm phẫu thuật mạch và phẫu thuật cấy ghép gan. Chẳng hạn, yếu tố chính để xác định tình trạng bệnh và tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân sau khi điều trị cấy ghép gan là ngăn ngừa các tổn thương ở các phần ghép của gan (Leemaster 1997). Mức độ rò rỉ LDH, AST và ALT là thước đo xác định độ suy giảm tính toàn vẹn màng của các tế bào gan (Kebis 2007).

Một thiếu sót quan trọng của các thiết bị và phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy đã biết là LDH chỉ có thể được phân tích ở huyết tương hoặc huyết thanh. Hơn nữa, cần phải có tối thiểu 150µl máu toàn phần để có thể xác định được tình trạng thiếu oxy này. Rất khó lấy được thể tích máu như vậy từ các động vật nhỏ, mô cụ thể hoặc trẻ chưa được sinh ra. Một vấn đề khác là LDH cũng có mặt ở hồng cầu và chứng tiêu huyết (làm vỡ các hồng cầu) sẽ dẫn tới các kết quả sai lệch lớn (trên giới hạn phát hiện).

Do đó, cần phải tìm ra phương pháp phân tích LDH, đơn lẻ hoặc cùng với các chất điện phân và enzym ở gan, một cách nhanh chóng và chỉ cần một lượng máu nhỏ để phát hiện ra tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ. Ngoài ra, cũng cần cải tiến kỹ thuật xác định tình trạng cung cấp oxy cho thai nhi ở thời kỳ mang thai.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế nhằm giải quyết ít nhất một số vấn đề nêu trên bằng cách đề xuất thiết bị và phương pháp trong đó LDH, và cũng tùy ý cả AST, ALT, Mg và lactat, có thể được phân tích trong vòng vài phút (hoặc theo cách khác trong khoảng thời gian tính bằng giây) trong 10µl máu toàn phần. Các phân tích này có thể được xác định cùng với hemoglobin tự do để đảm bảo rằng không xảy ra quá trình tiêu huyết làm tăng sai lệch nồng độ LDH.

Các phương án của sáng chế bao gồm phương pháp đánh giá thử nghiệm tình trạng thiếu oxy, cụ thể là tình trạng thiếu oxy trong mẫu máu có sẵn thu từ da đầu thai nhi trong quá trình chuyển dạ. Theo phương án như vậy, phương pháp này có thể bao gồm bước xác định LDH (lactat dehydrogenaza) trong huyết tương. Ngoài LDH, tốt hơn nếu xác định một hoặc một vài chất đánh dấu được chọn từ nhóm gồm K, Mg, Ca, AST, ALT và lactat trong máu thu từ da đầu thai nhi. Đặc biệt tốt hơn là LDH kết hợp với K, Mg, Ca, AST, ALT, lactat bất kỳ. Cũng tốt hơn là dạng kết hợp của LDH, lactat, Mg, và AST và/hoặc ALT.

Như được sử dụng trong bản mô tả, cần hiểu rằng “LDH” và “lactat dehydrogenaza” dùng để chỉ lactat dehydrogenaza toàn phần, chứ không phải là các isoenzym của chúng.

Trong phương pháp theo sáng chế, mẫu máu có sẵn thu từ da đầu, với lượng giới hạn (tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5µl đến 25µl) được thu từ thai nhi qua đường âm đạo trong quá trình sinh ở môi trường giống như ở bệnh nhân. Mẫu được tách riêng huyết tương (huyết thanh) ra khỏi các tế bào máu, cụ thể là hồng cầu và huyết tương được phân tích đối với LDH và, tùy ý, một hoặc nhiều K, Mg, Ca, AST, ALT, lactat, để cho kết quả trong vòng vài phút. Từ đó, bác sĩ có thể kết luận ngay đứa trẻ có bị ngạt cấp tính hay không, tức là cho thấy rằng thủ thuật xê-da là cần thiết hay không cần thiết. Theo sáng chế, có thể hạn chế được các đau đớn liên quan đến tình trạng thiếu oxy và cũng có thể cứu sống được nhiều trường hợp.

Trong các thử nghiệm được thực hiện bởi tác giả sáng chế, LDH, AST và ALT trong các mẫu máu thu từ đứa trẻ được phân tích trong 24 giờ đầu tiên. Nhận thấy rằng hơn 193 đứa trẻ được thử nghiệm. 19 trong số các đứa trẻ này có dấu hiệu ngạt được biểu hiện bởi điểm Apgar <7 ở cùng độ tuổi trong 5 phút. Bảng đường cong ROC (xem Fig.1), có thể quan sát được độ nhạy và độ đặc hiệu bằng 96% đối với LDH với giá trị ngưỡng 1000U/L. Đối với chứng HIE, độ nhạy bằng 100% và độ đặc hiệu bằng 96% với giá trị ngưỡng tương đương. Mặt khác, điều này có nghĩa là chất đánh dấu chính theo phương pháp của sáng chế sẽ xác định 95% (hoặc lớn hơn) trong số các đứa trẻ mắc tình trạng thiếu oxy thực sự ở cùng thời điểm xác định 95% trong số toàn bộ đứa trẻ khoẻ mạnh. AST và ALT có độ nhạy 86% và độ đặc hiệu 90% lần lượt ở các giá trị ngưỡng là 55U/L và 18U/L. Mặc dù trên thực tế thử nghiệm này mới chỉ ra sơ bộ những cải thiện bất ngờ so với các phương pháp đã biết hiện nay.

Về mặt giá thành, chúng lại cho các kết quả đáng ngạc nhiên. Khi sử dụng các phương pháp hiện nay, đã biết rằng cần khoảng 10 thủ thuật xê-da không cần thiết để tìm ra một đứa trẻ mắc chứng HIE, tức là để tìm ra một đứa trẻ mắc chứng HIE cần tiến hành 11 thủ thuật xê-da và trong số đó có tới 10 thủ thuật là không cần thiết. Độ nhạy và độ đặc hiệu theo sáng chế cho thấy rằng kết quả thu được là trái ngược, tức là chỉ có nhiều hơn một trong số mười thủ thuật xê-da là không cần thiết. Từ đó, xã hội sẽ tiết kiệm được một số tiền lớn và nếu không thì ít nhất cũng có nhiều đứa trẻ được sinh ra một cách tự nhiên. Bảng dưới đây thể hiện những cải thiện đáng kể của phương pháp theo sáng chế so với các phương pháp đã biết.

Phương pháp	LDH	AST/ALT	CTG	Độ pH	Lactat
HIE có độ nhạy	100%	90%		46%	72%
HIE có độ đặc hiệu	96%	91%		67%	71%
Apgar có độ nhạy	91%	86%	90%	57%	66%
Apgar có độ đặc hiệu	92%	89%	30%	71%	69%

Ở người khoẻ mạnh, đã biết rằng hồng cầu chứa lượng LDH nhiều hơn khoảng 150 lần so với trong huyết thanh. Do đó, việc lấy mẫu và tách riêng mẫu là bước quan trọng sao cho không làm ảnh hưởng tới hồng cầu để ngăn cản lượng LDH đi vào huyết tương. Việc lấy một lượng nhỏ thể tích máu thu từ da đầu dùng để phân tích là cũng quan trọng. Trong phương pháp theo sáng chế, mẫu máu thu từ da đầu được tách huyết

tương và tế bào máu bằng cách cho huyết tương đi qua nền xốp, trong bản mô tả này được gọi là “màng” trên chất mang rắn có khả năng giữ lại các tế bào máu. Huyết tương được phân tích LDH theo cách thông thường. K, Mg, Ca, AST, ALT, và/hoặc lactat có thể được phân tích trong huyết tương hoặc trong máu; nếu chúng được phân tích trong máu, thì mẫu máu thu từ da đầu được chia thành các phần, từ đó thu được huyết tương để xác định LDH, và một hoặc nhiều phần để phân tích các chất đánh dấu tình trạng thiếu oxy khác. Trong phạm vi của sáng chế, việc sử dụng các phương pháp khác là đã biết trong tình trạng kỹ thuật, như kỹ thuật siêu ly tâm, đĩa nén vi lỏng và kỹ thuật phổ từ, để tách huyết tương ra khỏi tế bào máu trong mẫu máu thu từ da đầu theo sáng chế.

Các phương pháp phân tích LDH trong các dịch như huyết tương là đã biết trong tình trạng kỹ thuật và có thể là thích hợp để xác định LDH trong huyết thanh thu được từ máu thai nhi; xem, chẳng hạn, Pinto P V C et al., Clin Chem 15:339-349, 1969. Đặc biệt có lợi là phương pháp được nêu trong Patent Hoa Kỳ số 4.803.159, được kết hợp vào đơn này bằng cách viện dẫn. Thiết bị thông thường để sử dụng trong phương pháp đã nêu cuối cùng có bán trên thị trường (Hệ thống hoá học Vitrosd DT60 II; Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., U.S.A.). Các phương pháp phân tích K, Mg, Ca, ALT, AST và lactat trong máu thường được sử dụng trong lĩnh vực hoá lâm sàng và do đó dễ dàng được thực hiện bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật.

Theo sáng chế, nồng độ LDH, K, Mg, Ca, ALT, AST và lactat sẽ tăng lên trong máu thu từ da đầu được thu từ thai nhi qua đường âm đạo trong quá trình sắp sinh nở nếu thai nhi mắc tình trạng thiếu oxy, đường chuẩn (đường nền) là nồng độ tương ứng ở thai nhi trong quá trình sắp sinh nở và/hoặc ngay sau khi sinh trong trường hợp sinh không quá khó khăn. Cụ thể, nồng độ LDH, ALT và AST tăng lên hai lần, cụ thể là ba hoặc nhiều lần, ở thai nhi trong quá trình sắp sinh nở chịu được trạng thái ngạt nặng, tức là trạng thái ngạt làm cho thai nhi có nguy cơ mắc chứng HIE cao.

Theo khía cạnh được ưu tiên, sáng chế đề xuất phương pháp đánh giá thử nghiệm tình trạng thiếu oxy trong mẫu máu có sẵn thu từ da đầu trong quá trình chuyển dạ, trong đó phương pháp này bao gồm việc cung cấp thiết bị chăm sóc sức khoẻ, sử dụng ít nhất một, tốt hơn là nhiều chất đánh dấu để xác định trong vòng vài phút nếu tình trạng thiếu oxy cấp tính có thể xảy ra.

Theo cải biến được ưu tiên khác, thiết bị này còn được dùng để phân tích một hoặc một vài trong số K, Mg, Ca, AST, ALT, lactat.

Theo khía cạnh được ưu tiên khác, sáng chế đề xuất thiết bị tách huyết tương của mẫu và sử dụng trực tiếp trong thiết bị/phương pháp theo sáng chế.

Theo cách khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp đánh giá thử nghiệm tình trạng thiếu oxy trong mẫu máu có sẵn ở mô của động vật có vú. Theo phương án như vậy, phương pháp này có thể bao gồm bước thu gom mẫu máu có sẵn được thu từ mô, trong đó mẫu máu chứa huyết tương và tế bào máu được tách riêng huyết tương ra khỏi tế bào máu. Lượng LDH trong huyết tương được xác định và tình trạng thiếu oxy có mặt ở mô được đánh giá thông qua lượng LDH trong huyết tương. Các phương pháp đánh giá thử nghiệm tình trạng thiếu oxy ở mô có thể bao gồm bước phân tích mẫu máu có sẵn thu từ đường tiêu hóa của động vật có vú (ví dụ, ruột của động vật có vú), phân tích mẫu thu từ cơ quan đặc thù (ví dụ, động mạch chủ của động vật có vú) hoặc dịch não tủy thu được, ví dụ bằng vi ống thông, phân tích nước tiểu hoặc dịch trong bụng, và phân tích mẫu thu từ các cơ quan cần được cấy ghép vào động vật có vú cần được điều trị. Các phương pháp đánh giá thử nghiệm tình trạng thiếu oxy theo phương án theo sáng chế có thể cho phép bác sĩ tiên lượng khả năng tổn thương não sau khi đưa trẻ bị ngạt trước lúc sinh và đánh giá được quá trình tuần hoàn máu tới các chi ở động vật có vú trước, trong và sau khi tiến hành thủ thuật y khoa hoặc phẫu thuật.

Sáng chế đề xuất hệ thống xét nghiệm để đánh giá tình trạng thiếu oxy ở mô của động vật có vú, kể cả người, trong đó hệ thống xét nghiệm này bao gồm dụng cụ dùng một lần có bộ phận lấy mẫu máu được bố trí để nhận mẫu của dịch lỏng cơ thể thu được từ động vật có vú, thiết bị tách và khoang được bố trí để xác định gián tiếp hoặc trực tiếp lactat dehydrogenaza (LDH) đến toàn phần trong mẫu này.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy cấp tính trong máu từ da đầu của thai nhi, trong đó phương pháp này bao gồm bước lấy mẫu máu trong phòng thử nghiệm và xử lý mẫu máu này để tìm ra ít nhất một dấu hiệu để xác định tình trạng thiếu oxy được đặc trưng ở chỗ nó bao gồm việc xác định lactat dehydrogenaza (LDH) toàn phần trong huyết tương thu được từ mẫu này.

Sáng chế sẽ được giải thích chi tiết hơn trong phần mô tả dưới đây, nhưng không bị hạn chế ở các phương án được minh họa trong các hình vẽ kèm theo.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị đường cong ROC biểu thị độ nhạy và độ đặc hiệu;

Fig.2 là sơ đồ khối minh họa phương án của phương pháp theo sáng chế;

Fig.3-Fig.5 thể hiện các mặt cắt của phương án thứ nhất của thiết bị tách để dùng trong các giai đoạn liên tiếp của phương pháp theo sáng chế;

Fig.6 thể hiện hệ thống dùng ống mao dẫn, để lấy và xét nghiệm máu thu từ da đầu theo sáng chế;

Fig.7 minh họa hệ thống phân tích xét nghiệm nhanh theo phương án khác của sáng chế;

Fig.8 thể hiện phương án của dụng cụ dạng thẻ dùng một lần để xét nghiệm nhanh theo sáng chế; và

Fig.9 minh họa sơ đồ hoạt động thông thường của sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn dưới đây bằng cách viện dẫn tới các hình vẽ kèm theo, trong đó một số, nhưng không phải tất cả các phương án theo sáng chế được thể hiện. Do đó, sáng chế có thể được thể hiện ở nhiều dạng khác nhau và không chỉ giới hạn bởi các phương án nêu dưới đây; các phương án này được đưa ra để bộc lộ sáng chế phù hợp với các quy định pháp lý hiện hành. Khi được sử dụng trong bản mô tả, và yêu cầu bảo hộ kèm theo, các dạng từ số ít sẽ bao hàm cả dạng số nhiều nếu không có chỉ dẫn khác.

Sáng chế đề xuất thiết bị và phương pháp trong đó LDH, và cũng tùy ý cả AST, ALT, Mg và lactat, có thể được phân tích trong vòng vài phút (hoặc theo cách khác là phân tích trong khoảng thời gian vài giây) trong 10 μ L máu toàn phần. Các phân tích này có thể được xác định cùng với hemoglobin tự do để đảm bảo rằng không xuất hiện quá trình tiêu huyết không phải do giá trị LDH tăng lên.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy. Theo phương án nhất định, phương pháp này có thể bao gồm bước lấy mẫu máu; và xác định tổng lượng LDH trong máu. Mẫu máu có thể được thu từ động vật có vú

bất kỳ hoặc có thể thu từ cơ quan bất kỳ được cấy ghép vào động vật có vú cần được điều trị.

Theo phương án khác, phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy bao gồm bước lấy mẫu máu, trong đó mẫu máu này gồm huyết tương và các tế bào máu. Tốt hơn là huyết tương được tách ra từ các tế bào máu sao cho huyết tương có thể được phân tích mà không cần sự có mặt của tế bào máu. Huyết tương đã được phân lập có thể được phân tích về mặt tổng lượng LDH trong huyết tương. Từ đó, có thể xác định được LDH. Dựa vào việc định lượng LDH, hoặc theo cách khác kết hợp với chất đánh dấu chẩn đoán khác, việc xác định tình trạng thiếu oxy có thể thu được một cách dễ dàng.

Theo một phương án được ưu tiên, bước xác định tình trạng thiếu oxy gồm bước phân tích mẫu máu để xác định định lượng hoặc lượng của nhiều chất đánh dấu chẩn đoán. Theo một phương án như vậy, phương pháp này bao gồm bước xác định lượng LDH trong mẫu máu, hoặc tốt hơn là trong huyết tương, và xác định lượng ít nhất một chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung được chọn từ nhóm gồm K, Mg, Ca, AST, ALT và lactat.

Tốt hơn là mẫu máu đem phân tích được điều chỉnh sao cho huyết tương được tách ra khỏi tế bào máu. Theo một phương án, bước tách này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng màng bán thấm hoặc máy ly tâm. Khi sử dụng màng bán thấm, tốt hơn nếu huyết tương đi qua màng này và tế bào máu được giữ lại trên màng đó. Từ đó, huyết tương được phân lập từ khối tế bào máu được dùng trên thực tế. Sau đó, huyết tương được thu mẫu và được xét nghiệm khi không có mặt các tế bào máu.

Theo các phương án khác, thể tích mẫu cần phân tích có thể giảm mạnh so với các phương pháp đã biết. Theo một phương án, thể tích máu cần xác định tình trạng thiếu oxy nằm trong khoảng từ 5 μ L đến 60 μ L, hoặc nằm trong khoảng từ 5 μ L đến 25 μ L, hoặc tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 15 μ L, và cụ thể là 10 μ L. Theo phương án nhất định, thể tích máu để xác định tình trạng thiếu oxy nằm trong khoảng từ 5 μ L đến 150 μ L, hoặc từ 10 μ L đến 120 μ L, hoặc từ 10 μ L đến 100 μ L, hoặc từ 10 μ L đến 80 μ L.

Có lợi nếu phương án theo sáng chế cho phép xác định tình trạng thiếu oxy trong nhiều trường hợp khác nhau. Chẳng hạn, phương án theo sáng chế bao gồm,

nhưng không hạn chế ở, bước xác định tình trạng thiếu oxy trong máu thu từ da đầu thai nhi, đường tiêu hóa (ví dụ, chỗ nối ruột kết), các cơ quan đặc thù (ví dụ, gan và động mạch chủ), dịch não tủy thu từ ống ngang thắt lưng, và các cơ quan được cấy ghép. Ngoài ra, phương án theo sáng chế có thể đánh giá và/hoặc kiểm tra gan (ví dụ, các rối loạn chức năng đa cơ quan của động vật có vú), mô ngoại biên (ví dụ, có liên quan đến chấn thương, nhiễm trùng, chảy máu hoặc phẫu thuật ở phạm vi rộng), tiên lượng sự tổn thương não sau khi bị ngạt khi sinh, và kiểm tra quá trình tuần hoàn máu ngoại biên ở động vật có vú.

Thiết bị tách huyết tương 1 theo sáng chế được thể hiện ở các Fig.3-Fig.5 để dùng trong các giai đoạn liên tiếp của phương pháp. Thiết bị 1 này bao gồm phần vỏ tròn làm bằng chất liệu polyme không ưa nước như poly(tetrafloetylen). Khoang thu thập huyết tương 2 nằm trong phần vỏ này có lỗ hở ở đỉnh được đậy bằng màng phân tách huyết tương 11 tựa trên các chấn song 12 làm bằng chất liệu giống hoặc tương tự chất liệu của phần vỏ. Phần đáy của khoang 13 nghiêng hướng về tâm của nó tạo thành hình nón góc rộng. Từ thành bên của khoang 14 có ống dẫn tròn 15 chứa van 16 kéo dài ra. Ống dẫn 15 kéo dài tới nguồn cấp áp suất âm như bơm chân không (không được thể hiện). Trong Fig.3, 40 μ L mẫu 7 chứa máu thu từ da đầu được đưa lên bề mặt ngoài của màng 11, van 16 ở vị trí đóng. Khi mở van 16, khoang 14 sẽ có áp suất âm (Fig.4); do đó, huyết tương 7' được hút vào khoang 14, tích tụ trên đáy nghiêng 13 của nó, hồng cầu 7'' được giữ lại nhờ màng 11. Sau khi đóng van 16, như được thể hiện ở Fig.5, áp suất trong khoang sẽ cân bằng với áp suất ngoài do có không khí được hút qua màng 11. Theo cách khác, quá trình cân bằng áp suất trong khoang 14 có thể được thực hiện thông qua ống dẫn 15 sau khi ngừng tạo ra áp suất âm, hoặc theo cách thích hợp bất kỳ. Fig.5 minh họa quá trình lấy mẫu huyết tương 7 ra khỏi khoang 14 bằng xi-lanh hơi, với ống thông 10 được đưa vào xuyên qua màng 11. Để tránh cho mẫu huyết tương 7 khỏi bị nhiễm hồng cầu trên màng, có thể tạo ra lỗ thông riêng biệt (không được thể hiện) như, chẳng hạn, bằng vách ngăn cao su được bố trí ở phần đỉnh hoặc vách bên của thiết bị 1. Sơ đồ khối ở Fig.2 minh họa các bước cơ bản của phương pháp theo sáng chế.

Khoang này còn có thể có ống dẫn thứ hai nối với phần đáy của nó và có van thứ hai để hút có kiểm soát dịch (huyết tương) đã được gom lại ở đáy khoang. Theo cách khác, khoang này có thể còn chứa thiết bị xác định LDH và các chất đánh dấu

khác trong huyết tương đã được gom lại. Tốt hơn nếu màng phân tách nêu trên có diện tích nằm trong khoảng từ 5mm^2 đến 1000mm^2 , cụ thể là nằm trong khoảng từ 20mm^2 đến 300mm^2 .

Phân tích máu thu từ da đầu

Phân tích được lặp lại thành công đối với máu thu từ da đầu được thu mẫu từ đàn ông trưởng thành khoẻ mạnh bằng thiết bị tiêu chuẩn thường được sử dụng trên lâm sàng để xác định độ pH hoặc lactat. Các mẫu được sử dụng hoặc không sử dụng ống âm đạo (để tránh nhiễm dịch nước ối trong tình huống thực tế). Thời gian từ lúc đưa mẫu máu vào thiết bị tách huyết tương đến khi hiển thị được kết quả trung bình là 7 phút. Đương nhiên là thời gian phân tích có thể được rút ngắn hơn nữa, như đến khoảng thời gian từ 3 đến 4 phút và thậm chí là ngắn hơn, bằng cách sử dụng thiết bị phù hợp với phương pháp, cụ thể thẻ tách trong đó áp suất âm được áp vào phía chân không của màng đã được kiểm soát và định thời gian một cách chặt chẽ, như bằng cách sử dụng các thiết bị điện tử. Do đó, việc sử dụng phương pháp theo sáng chế để xác định máu thu từ da đầu thai nhi ngay bên giường bệnh trong tình trạng khẩn cấp là cực kỳ khả thi.

Kết quả phân tích cho thấy rằng lượng LDH trong máu thu từ da đầu thai nhi là lớn hơn đáng kể trong máu ở mao mạch ngón tay; LDH: 1044U/L và 1127U/L trong máu thu từ da đầu có sử dụng hoặc không sử dụng ống đầu ối, tương ứng, so với 400U/L trong máu ở ngón tay. Sự khác nhau giữa máu thu từ da đầu và máu ở cuống rốn là tương tự như đối với LDH ở đàn ông trưởng thành cũng được thấy đối với glucoza và hemoglobin ở thai nhi. Việc xác định LDH trong máu thu từ da đầu thai nhi dường như là chưa từng được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật.

Fig.6 thể hiện một hệ thống theo sáng chế bao gồm thẻ dùng một lần 2 và thiết bị phân tích 3 để thực hiện việc xét nghiệm tại điểm khám, tức là trong môi trường xung quanh bệnh nhân, cho phép thể hiện kết quả xét nghiệm trong vòng 7 phút, tốt hơn là trong vòng 2 phút và tốt hơn nữa là trong vòng vài giây. Tốt hơn nếu trên thẻ dùng một lần 2 này có bố trí nhiều ô dò 20A - 20E khác nhau, như sẽ được giải thích chi tiết hơn trong Fig.7, nhưng thực tế, thẻ này chỉ để xét nghiệm LDH (hoặc ví dụ, có hai ô để dò đối với LDH+AST) có thể là thích hợp trong một số ứng dụng.

Fig.6 thể hiện hai bước liên tiếp của phương pháp theo sáng chế. Hình ở phía trên thể hiện bước thứ nhất, trong đó thẻ mới 2 được cấp máu thử nghiệm 7 bằng cách dùng ống mao dẫn thủy tinh 4, được nạp máu toàn phần với lượng, ví dụ khoảng 10 μ L. Trong bước tiếp theo, ống mao dẫn thủy tinh 4 được đưa vào khoang 21 của thẻ 2 để cho mẫu máu 7 tiếp xúc với thẻ 2 và thẻ dùng một lần 2 này được đặt vào thiết bị 3, trong đó có thể thực hiện phân tích trực tiếp mẫu máu 7 như sẽ được giải thích chi tiết hơn trong Fig.7. Thẻ này có các thiết bị (như đã biết bởi các chuyên gia trong lĩnh vực, ví dụ các vi kênh dịch dẫn để phân phối huyết tương/huyết thanh) để cho phép huyết tương 7' từ mẫu máu 7 đến được ít nhất một ô dò 20A - 20E, và tốt hơn nếu các tế bào máu đến được ít nhất một ô dò khác và tốt hơn nữa nếu máu toàn phần đến được ít nhất một ô dò khác. Trước khi đến được ô dò, huyết tương/huyết thanh/máu toàn phần này phải đi qua các khoang phản ứng (26A-26E) trong đó có chứa các thuốc thử (tốt hơn là loại khô). Do đó, phản ứng sẽ xảy ra trước điểm dò. Trong thiết bị 3, có bố trí các thiết bị quang học (như đã biết bởi các chuyên gia trong lĩnh vực, và ví dụ, được mô tả trong US 4935346 (được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn) để tiến hành xác định các thông số quang học. Việc xác định các thông số quang học (ví dụ, bằng máy quang phổ như đã biết bởi các chuyên gia trong lĩnh vực và được mô tả trong US 4803159, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn) sẽ được điều khiển trực tiếp bằng bộ xử lý 31 của thiết bị 3 và được thể hiện trên bộ phận hiển thị 32 và/hoặc được cấp như dữ liệu đầu ra 33, ví dụ trên giấy in. Ngoài ra, tốt hơn nếu thiết bị phân tích 3 chứa bộ phận đọc mã vạch 34 để đọc và xử lý mã vạch 22 là mã duy nhất cho mỗi thẻ dùng một lần 2. Tốt hơn nếu thiết bị phân tích 3 nằm gọn trong hộp 35 để có thể di chuyển được. Các đầu nối (không được thể hiện) được bố trí để cấp năng lượng cần thiết cho thiết bị 3, ví dụ nguồn điện (nếu không dùng pin). Theo phương án khác, thiết bị này có thể được chế tạo nhỏ gọn hơn bằng cách sử dụng bộ xử lý ngoài, ví dụ của máy tính xách tay được nối với thiết bị này, ví dụ bằng cáp USB.

Fig.7 thể hiện một phương án của thẻ dùng một lần 2 theo sáng chế. Thẻ 2 này được bố trí 5 ô dò 20A - 20E, tất cả là các ô dò quang học. Ô dò đầu tiên 20A là để phát hiện ALT. Ô dò thứ hai 20B là để phát hiện AST. Ô dò thứ ba 20C là để phát hiện tổng LDH. Ô dò thứ tư 20D và thứ năm 20E là lần lượt để phát hiện lactat và Mg²⁺. Thẻ theo phương án này có vùng tròn phẳng 23, có đường kính thích hợp, ví dụ nằm trong khoảng từ 20 đến 120mm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 40 đến 100mm. Chất

liệu của thân 23 này có thể được chọn từ, ví dụ poly(tetraflo)etylen, polyetylen, polypropylen, polystyren và các chất liệu tương tự. Như được thể hiện dưới dạng sơ đồ trong Fig.7, thẻ 2 này có khe 21 để tiếp nhận ống mao dẫn thủy tinh 4 cấp mẫu máu 7. Ở phần đáy của khe 21 có mặt phân cách 23, theo cách đã biết là bảo vệ quá trình chuyển tiếp mẫu máu, ví dụ tới thiết bị tách huyết tương 25 (bao gồm màng và khoang thu thập huyết tương, so sánh với màng 11 như được thể hiện trong các Fig.3-5). Giữa màng phân tách huyết tương 25 và mặt phân cách 23, tùy ý có bộ chia mẫu 24 (như được chỉ ra bởi các đường đứt nét) để có thể cung cấp máu toàn phần tới một số ô dò, ví dụ đi qua các thuốc thử 26 A, B, để phát hiện ALT và AST tương ứng. Sau đó, lượng chủ yếu mẫu máu toàn phần được cấp cho thiết bị tách huyết tương 25, sau đó đi qua các thuốc thử 26 C, D để phát hiện tổng LDH và lactat tương ứng trong huyết tương 7'. Các tế bào máu 7'' thu được sau khi tách có thể được trộn với thuốc thử 26 D và dẫn tới ô dò quang học 20E để phát hiện Mg^{2+} .

Các kết quả thử nghiệm trong đó các tổ hợp khác nhau của các chất đánh dấu được sử dụng trong các thẻ dùng một lần theo sáng chế được mô tả dưới đây.

Lactat dehydrogenaza sẽ tăng lên trong quá trình giảm oxy huyết và có mặt trong tất cả các tế bào của cơ thể. LDH có mặt trong máu chứng tỏ rằng tình trạng thiếu oxy trầm trọng tới mức làm giảm lượng máu tới các cơ quan ngoại biên. Điều này làm thoát LDH từ các tế bào này. Bằng cách phát hiện LDH, không thể xác định được cơ quan nào bị thiếu oxy. Nếu xảy ra quá trình tiêu huyết (các tế bào hồng cầu sẽ bị vỡ cũng là nguyên nhân làm tăng nồng độ LDH, ngay cả khi không phải do tình trạng thiếu oxy). Sự tiêu huyết được chia thành 2 nhóm: (1) In vitro, có nghĩa là sự tiêu huyết xảy ra khi lấy mẫu hoặc ở giai đoạn bảo quản trong các ống xét nghiệm, và (2) In vivo có nghĩa là hồng cầu của bệnh nhân bị vỡ do bệnh nhân bị ốm. Sau đó, quá trình tiêu huyết xảy ra gây lầm tưởng là làm tăng nồng độ LDH, chứ không phải chỉ do tình trạng thiếu oxy gây ra. Thời gian bán thải ($T_{1/2}$) của LDH tùy thuộc vào một trong số 5 loại isome của LDH đã bị thoát vào máu. LDH1 có mặt chủ yếu ở tim, não và các tế bào hồng cầu có $T_{1/2}$ là 120 giờ trong khi đó LDH5 có mặt chủ yếu ở gan và ở cơ có $T_{1/2}$ là 10 giờ.

		LDH cao		Tổng số
		Không	Có	
HIE	Không	178	6	184
	Có	0	10	10
Tổng số		178	16	194

Trong nghiên cứu của tác giả sáng chế, ở trẻ sơ sinh, nhận thấy rằng tất cả các bệnh nhân mắc chứng HIE bằng cách sử dụng LDH làm chất đánh dấu thì có 178 trong số 184 bệnh nhân khỏe mạnh. Điều này có nghĩa là không có trường hợp nào bị thiếu oxy và 6 đứa trẻ có thể được sinh ra bằng thủ thuật xê-da hoặc bằng thủ thuật y khoa một cách không cần thiết.

Nồng độ LDH cao chứng tỏ rằng tình trạng thiếu oxy tiến triển hoặc mới xảy ra ở một vùng trong cơ thể hoặc xảy ra quá trình tiêu huyết.

AST là enzym có mặt ở nhiều cơ quan trong cơ thể nhưng lại đặc hiệu ở nhiều cơ quan hơn so với LDH. AST có mặt chủ yếu ở gan, cơ và các hồng cầu. AST cũng như LDH, là nhạy cảm với quá trình tiêu huyết nhưng ở mức độ không giống nhau.

T1/2 đối với AST là 12-15 giờ ở trẻ sơ sinh.

		AST cao		Tổng số
		Không	Có	
HIE	Không	210	26	236
	Có	0	12	12
Tổng số		210	38	248

Trong nghiên cứu của tác giả sáng chế, nhận thấy rằng tất cả các bệnh nhân mắc HIE bằng cách sử dụng AST làm chất đánh dấu thì có 210 trong số 236 bệnh nhân khỏe mạnh. Điều này có nghĩa là không có trường hợp nào bị thiếu oxy và 26 đứa trẻ có thể được sinh ra bằng thủ thuật xê-da hoặc thủ thuật y khoa một cách không cần thiết.

Nồng độ AST cao chứng tỏ rằng tình trạng thiếu oxy đang tiến triển hoặc mới xảy ra ở gan hoặc cơ hoặc xảy ra quá trình tiêu huyết.

ALT là enzym đặc hiệu đối với gan và đặc hiệu rất kém với quá trình tiêu huyết.

T_{1/2} đối với ALT là 36 giờ.

		ALT cao		Tổng số
		Không	Có	
HIE	Không	212	28	240
	Có	0	12	12
Tổng số		212	40	252

Trong nghiên cứu của tác giả sáng chế, không có đứa trẻ nào bị tổn thương não nếu sử dụng ALT làm chất đánh dấu đơn lẻ nhưng 28 trong số 240 bệnh nhân khỏe mạnh có thể được sinh ra bằng thủ thuật xê-da hoặc thủ thuật y khoa một cách không cần thiết.

Nồng độ ALT tăng lên chứng tỏ tình trạng thiếu oxy đang tiến triển hoặc mới xảy ra ở gan.

Magie trong cơ thể chiếm tới 50% ở xương và 50% còn lại nằm ở các tế bào. Nếu bị nhiễm axit (độ pH xuống thấp), ví dụ trong quá trình giảm oxy huyết, các ion hydro sẽ di chuyển vào các tế bào. Đồng thời, Mg sẽ đi ra khỏi các tế bào vào máu làm tăng nồng độ Mg trong máu. Đối với trẻ sơ sinh mắc HIE, thì nồng độ Mg thấp hơn so với trẻ sơ sinh khỏe mạnh. Mg là chất đánh dấu đặc hiệu hơn đối với sự nhiễm axit so với các tế bào bị tổn thương.

Nồng độ Mg tăng lên chứng tỏ sự nhiễm axit là dấu hiệu của tình trạng thiếu oxy. Nồng độ Mg thấp chứng tỏ đã bị thiếu oxy dẫn tới tổn thương não.

Hiện nay, tác giả sáng chế vẫn chưa đưa dữ liệu về Mg trong quá trình chuyển dạ. Tuy nhiên, tác giả sáng chế tin rằng việc tăng nồng độ Mg có thể thấy ở các nghiên cứu trên động vật, ví dụ trên lợn con mới đẻ.

Bảng dưới đây thể hiện các kết quả khi sử dụng LDH+AST làm chất đánh dấu.

		AST+LDH cao			Tổng số
		Không	Một	Cả hai	
HIE	Không	170	11	3	184
	Có	0	0	10	10
Tổng số		170	11	13	194

Những phát hiện này cho thấy rằng tất cả những đứa trẻ khoẻ mạnh có nồng độ AST và/hoặc LDH đều thấp. Trên 10 đứa trẻ mắc HIE thì toàn bộ chúng đều có nồng độ AST và LDH cao. Ba đứa trẻ có nồng độ AST và LDH cao là không bị mắc HIE. AST hỗ trợ tác dụng của LDH để xác định khi đứa trẻ khoẻ mạnh.

Nếu LDH và AST ở nồng độ cao, thì chỉ ra rằng đứa trẻ bị mắc tình trạng thiếu oxy và xảy ra quá trình tiêu huyết.

Bảng dưới đây thể hiện kết quả khi sử dụng LDH+ALT làm chất đánh dấu.

		ALT+LDH cao			Tổng số
		Không	Một	Cả hai	
HIE	Không	163	20	1	184
	Có	0	0	10	10
Tổng số		163	20	11	194

Bảng nêu trên cho thấy rằng LDH và ALT được phân tích đồng thời thì tất cả các đứa trẻ khoẻ mạnh có nồng độ ALT và/hoặc LDH thấp. Trên 10 đứa trẻ mắc HIE, toàn bộ chúng có nồng độ ALT và LDH đều cao. Một đứa trẻ có nồng độ AST và LDH cao không bị mắc. ALT bổ sung tác dụng của LDH để xác định trong trường hợp đứa trẻ khoẻ mạnh.

ALT cũng đáng được quan tâm vì về mặt lý thuyết nó cho biết đứa trẻ có bị thiếu oxy ở giai đoạn sớm hay không khi vẫn còn nằm trong tử cung vì ALT vẫn duy trì trong máu trong thời gian dài (T_{1/2} là 36 giờ).

Nồng độ LDH và ALT tăng lên chứng tỏ tình trạng thiếu oxy có ảnh hưởng tới gan (trong số các cơ quan khác).

Bảng dưới đây thể hiện kết quả khi sử dụng LDH+ALT+AST làm chất đánh dấu.

		ALT+LDH+AST cao				Tổng số
		Không	Một	Hai	Tất cả	
HIE	Không	158	20	5	1	184
	Có	0	0	0	10	10
Tổng số		158	20	5	11	194

Nếu LDH được phân tích cùng với cả AST và ALT và có thể nhận thấy nếu nồng độ enzym thấp thì không có đứa trẻ nào mắc HIE. Nhận thấy ở cả 3 chất đánh dấu có nồng độ cao thì tất cả các đứa trẻ bị mắc HIE và chỉ có một đứa trẻ đã nhận một cách không cần thiết là không bị mắc HIE.

Nồng độ LDH+ALT+AST cao cho thấy rằng đã xuất hiện tình trạng thiếu oxy tiến triển hoặc tình trạng thiếu oxy trong nhiều giờ trước đó. Việc thời gian bán thải của ALT dài hơn của AST và LDH 24 giờ khiến cho tổ hợp này có thể phản ánh được khía cạnh thời gian của tình trạng thiếu oxy. Ví dụ, việc LDH+ALT+AST đều có nồng độ cao và vẫn tiếp tục tăng trong 24 giờ đầu sau khi đứa trẻ được sinh ra chứng tỏ rằng tình trạng thiếu oxy xuất hiện ngay gần lúc sinh.

Trong tài liệu sử dụng để tính toán, 23 thủ thuật xê-da và 22 thủ thuật y khoa được thực hiện trong nhóm không có dấu hiệu của tình trạng thiếu oxy (HIE, nhiễm axit hoặc điểm Apgar thấp). Trong số đó, chỉ bao gồm các thủ thuật xê-da được thực hiện do nghi có nguy cơ cho đứa trẻ.

Trong ví dụ nêu trên, đã chỉ ra rằng bằng cách sử dụng LDH kết hợp với ALT, chỉ có một đứa trẻ được sinh ra bằng thủ thuật xê-da không cần thiết chứ không phải 45 đứa trẻ. Do đó, tiết kiệm được 880 000 SEK để tiến hành thủ thuật xê-da, không bao gồm giá chiết trong môi trường chân không. Quá trình chiết trong môi trường chân không làm tăng nguy cơ cho cả sản phụ và đứa trẻ làm tăng giá thành cho việc chăm sóc sức khỏe đồng thời khiến bệnh nhân phải chịu đau đớn.

Như đã nêu trên, AST không được dùng nhiều cho phương pháp khi nó dùng để xác định xem đứa trẻ có bị mắc tình trạng thiếu oxy hay không. AST vẫn đang được đưa ra các thông tin do thời gian bán thải là 12 giờ. Cùng với ALT và việc lấy các mẫu lặp đi lặp lại sau khi sinh, hai enzym này có thể đưa ra thông tin về việc khi nào tình trạng thiếu oxy xảy ra. Điều này có giá trị pháp lý lớn vì hiện nay, các bác sĩ sản khoa

gặp phải một số vấn đề để chỉ ra rằng đứa trẻ nào không bị thiếu oxy hay đã bị thiếu oxy trước đó thì sản phụ có đến bệnh viện để sinh nở hay không.

Kết luận dựa trên những thông tin đưa ra từ các tài liệu khoa học đã cho thấy rằng magie cần được đưa vào sự hiểu biết là tình trạng thiếu oxy mới xuất hiện hay là có mặt từ trước đó.

Nồng độ LDH+ALT+AST +Mg cao cho thấy tình trạng thiếu oxy tiến triển nghiêm trọng đủ để ảnh hưởng tới các cơ quan ngoại biên và làm nhiễm axit. Nồng độ LDH+ALT+AST cao nhưng nồng độ Mg thấp lại cho thấy một phần tình trạng thiếu oxy gây nguy hại tới các cơ quan và cũng có thể ảnh hưởng đến não. Mg là không nhạy đối với quá trình tiêu huyết và cùng với ALT, nó góp phần làm tăng nồng độ LDH là nguyên nhân dẫn tới tổn thương các cơ quan và không ảnh hưởng tới quá trình tiêu huyết.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Trong phần ví dụ dưới đây sẽ mô tả việc sử dụng phương pháp và thiết bị tương ứng theo sáng chế trên thực tế, cho rằng bệnh nhân có tên là Anna đến nhận phòng để chuyển dạ sinh nở. Bệnh nhân được bắt đầu thăm khám bằng cách kiểm soát tình trạng của thai nhi bằng cách xác định nhịp tim bằng cách đặt lên dạ dày của bà mẹ một thiết bị nhỏ (sơ đồ nhịp tim thai, CTG). Ở các khoảng thời gian, việc kiểm soát CTG được thực hiện để quan sát những thay đổi. Sau 8 giờ chuyển dạ và tử cung của Anna đã mở 8cm. Ở giai đoạn kiểm soát CTG ban đầu, nhận thấy rằng nhịp tim của đứa trẻ tăng lên. Người đỡ đẻ gọi cho bác sĩ sản khoa để tiếp tục lấy máu từ da đầu đứa trẻ để xem xét có bất kỳ dấu hiệu nào khác bị tổn hại hay không.

Anna, đang nằm trên giường bệnh, được yêu cầu chuyển tới phòng phụ khoa và bác sĩ sản khoa đặt ống kim loại qua đường âm đạo và đưa nó tới não của đứa trẻ. Bác sĩ rửa bỏ dịch nước ối và lấy một lượng máu nhỏ ở da đầu đứa trẻ (mẫu máu ở da đầu). Khi thấy một giọt máu 7, bác sĩ đưa ống mao dẫn 4 và lấy khoảng 10µL máu. (Việc lấy máu thông qua một ống nhỏ ở cùng thời điểm mà bác sĩ yêu cầu cần phải sạch và tiến hành nhanh chóng là không dễ dàng. 30-40µL là thể tích khá lớn trong nghiên cứu và lượng này là cần thiết đối với mẫu máu thu từ da đầu để xác định độ pH).

Người đỡ đẻ đứng đối diện với bác sĩ sản khoa để đưa thẻ dùng một lần 2 tại đó bác sĩ sẽ đặt thẻ này vào ống mao dẫn 4. Thẻ 2 chứa máu 7 sau đó được đưa vào thiết bị tách 3 đã được đặt gần đó, tại đó nồng độ LDH, AST, ALT và magie được phân tích bằng máy quang phổ 4. Các phân tích được thực hiện sau khi tách các tế bào hồng cầu 7" trên thẻ 2 và huyết tương 7' còn lại phản ứng với các thuốc thử 20 A-D trên thẻ. Trong vòng vài phút (ví dụ, khoảng 2 phút), các kết quả được hiện thị trên bộ phận hiển thị của thiết bị. Kết quả hiện thị "bình thường-bình thường-bình thường-bình thường" sẽ giúp bác sĩ sản khoa biết rằng không có chất nào trong số chất đánh dấu LDH, AST, ALT và magie là ở nồng độ cao. Anna vẫn chuyển dạ bằng cách tự nhiên và sau đó sinh được đứa trẻ khoẻ mạnh.

Sau đó, vào một đêm tương tự, bác sĩ sản khoa được gọi vào phòng 3 nơi Helena sẽ sinh đứa con đầu tiên. Tại đây, CTG là không thích hợp và lấy mẫu máu thu từ da đầu. Thời điểm mà bộ phận hiển thị chỉ ra "cao-cao-cao-cao" sẽ giúp bác sĩ sản khoa biết rằng tất cả các chất đánh dấu đang ở nồng độ cao. Điều này chỉ có nghĩa là đứa trẻ đang mắc bị thiếu oxy tiến triển và quyết định tiến hành khẩn cấp bằng thủ thuật xê-da. Tiến hành phẫu thuật và Helena nằm trên giường và được đưa vào phòng. Tiến hành gây mê nhanh trong khi đó bác sĩ sản khoa rửa tay và thay quần áo phẫu thuật. Sau đó, sản phụ được rạch phần da và tử cung và đứa trẻ được thu ra chỉ vài phút sau khi cấp cứu.

Như đã nêu trên, một vài chất đánh dấu là nhạy cảm với quá trình tiêu huyết. Ảnh hưởng của quá trình tiêu huyết đối với phương pháp chưa được điều tra đầy đủ ở thời điểm hiện tại, nhưng dường như kết quả vẫn không có sự thay đổi lớn trong ít nhất một số trường hợp. Tuy nhiên, nếu nhận thấy rằng quá trình tiêu huyết xuất hiện liên tục trong quá trình lấy mẫu thì có thể kết hợp chất đánh dấu trong quá trình tiêu huyết trên thẻ. Khả năng lớn nhất có thể xảy ra đó là tác giả sáng chế lựa chọn sử dụng hemoglobin tự do (Hb) làm chất đánh dấu. Bằng cách xác định Hb trong huyết tương, quá trình tiêu huyết sẽ xảy ra và nếu nó xảy ra thì có thể thấy được mức độ trầm trọng của nó. Cũng có thể tiến hành và tính toán lại nồng độ enzym phụ thuộc vào mức độ tiêu huyết.

Trong một số trường hợp, LDH ở dạng đơn lẻ hoặc LDH ở dạng kết hợp với, ví dụ lactat, ALT, AST, hoặc magie, có thể đủ để xem xét xem đứa trẻ thực hiện như thế nào, nếu phân tích là thiết bị đo màu (thay đổi màu sắc của các thuốc thử).

Fig.8 thể hiện phương án của thiết bị xét nghiệm khác, trong đó hoá chất khô được sử dụng để tiến hành phân tích. Ưu điểm của thiết bị xét nghiệm 5 như được thể hiện ở Fig.8 là thiết bị này hoàn toàn không cần cấp năng lượng. Thiết bị xét nghiệm 5 bao gồm một ống dài tạo thành thân/vỏ bọc 50. Trong thân kéo dài 50, có kênh 51 mở vào khoang trước 52 được đặt ngay sát đầu trước của thân 50. Ở đầu kia của kênh 51, gần đầu sau của thân, có lắp thiết bị bơm 53. Thiết bị bơm 53 có dạng thân rỗng đàn hồi có van kiểm soát 54 ở đầu ra của chúng. Đầu ra này (thông qua van kiểm soát 54) mở vào khoang thoát 55. Ở đầu trước của thân 50 có phần cổ 56 có lỗ ở vị trí trung tâm 57 nối với khoang trước 52 thông qua bộ phận lọc 58, để lọc hồng cầu. Nằm cách đầu trước một đoạn, tạo thành một phần của kênh 51, còn có khoang 59 có chứa các chất hoá học khô 8. Cũng như vậy, như một phần của kênh 51 nằm ngay sát thiết bị bơm 53 còn có khoang đệm 501 và cũng là chỉ dấu thể tích máu 7 trong kênh 51 này.

Thiết bị xét nghiệm được thể hiện ở Fig.8 được dự định để sử dụng trong quá trình chuyển dạ. Như được thể hiện bằng sơ đồ ở Fig.8, phần da đầu 6 của đứa trẻ được xuyên thủng để thu được giọt máu 7 (như đã biết bởi chuyên gia trong lĩnh vực). Sau đó, thiết bị xét nghiệm 5 được đưa qua âm đạo và úp vào mẫu máu 7, bằng cách định vị phần cổ 56 xung quanh giọt máu 7. Ở bước tiếp theo, cơ cấu bơm 53 được kích hoạt trong đó van kiểm soát 54 sẽ được mở để cho không khí thoát ra từ khoang rỗng bên trong của thiết bị bơm đàn hồi 53. Khi thiết bị bơm 53 này được nhả ra, chân không được tạo ra (nhờ tính chất đàn hồi), tác động đến giọt máu 7 thông qua kênh 51, nhờ đó máu sẽ được hút vào kênh 51 thông qua bộ phận lọc 58. Từ đó, huyết tương 7' sẽ đi vào khoang phân tích 59. Cơ cấu bơm có thể được dùng nhiều lần để đảm bảo có đủ lượng máu cho xét nghiệm, có thể được xác định ngay khi quan sát thấy máu trong khoang đệm 501. Sau đó, thiết bị xét nghiệm 5 được lấy ra, và bằng cách quan sát màu sắc của chất hoá học trong khoang phân tích 59, có thể xác định được đứa trẻ có bị thiếu oxy hay không. Như đã biết bởi chuyên gia trong lĩnh vực, các chất hoá học khô 8 có thể được sử dụng để chỉ dẫn các biện pháp khác nhau cần áp dụng phụ thuộc vào màu xuất hiện. Chẳng hạn, các màu dưới đây có thể được sử dụng để chỉ dẫn biện pháp nào được áp dụng. Nếu nó có màu xanh thì không cần áp dụng biện pháp nào. Nếu xuất hiện màu đỏ thì đứa trẻ phải được lấy ra càng nhanh càng tốt. Nếu xuất hiện màu vàng thì phải lấy mẫu mới trong thời gian ít hơn 20 phút.

Trên lâm sàng, thiết bị xét nghiệm 5 sẽ cho các chỉ dẫn tương tự như đã nêu trên. Hiển nhiên là ống mao dẫn để lấy máu từ da đầu đứa trẻ cũng có thể được dùng kết hợp với thiết bị xét nghiệm 5 đã được cải biến đôi chút, nhưng tốt hơn là được thiết kế sao cho khi lấy máu, hệ kín được thiết lập trong thiết bị 5. Điều này có thể được thực hiện bằng nhiều cách, ví dụ bằng cách ấn đầu có cổ silicon (như đã thể hiện) vào da đầu đứa trẻ hoặc bằng cách lấy thiết bị 5 ra và gắn một cái chụp kín lên trên đầu này (không được thể hiện).

Tác giả sáng chế cũng dự định rằng thử nghiệm lactat hiện đang được sử dụng có thể được phân tích kết hợp với phương pháp theo sáng chế.

Fig.9 thể hiện biểu đồ để xác định khi nào nên ưu tiên sử dụng phương pháp và các thiết bị tương ứng theo sáng chế. Như được thể hiện trên biểu đồ, CTG nên được sử dụng làm chỉ dấu sơ bộ. Nếu CTG là bình thường, thì thông thường không cần áp dụng biện pháp khác. Tuy nhiên, nếu CTG là bất thường, thì việc lấy mẫu máu từ da đầu đứa trẻ để phân tích theo sáng chế hoặc có thể được tiến hành sau khi phân tích ST tim của thai nhi.

Sáng chế không bị hạn chế ở các phương án nêu trên mà có thể biến đổi trong phạm vi của các yêu cầu bảo hộ kèm theo. Chẳng hạn chuyên gia trong lĩnh vực thấy rằng định nghĩa “máu thu từ da đầu” cũng có thể bao gồm các mẫu máu thu được từ các bộ phận khác của cơ thể có thể tạo ra chức năng nhằm đạt được những lợi ích theo sáng chế. Các mẫu được sử dụng theo sáng chế bao gồm máu toàn phần, huyết tương và huyết thanh.

Theo khía cạnh khác, phương án theo sáng chế được sử dụng một cách hữu ích trong các trường hợp dùng trong y tế khác. Theo một phương án, mẫu máu được thu từ bộ phận trước khi tiến hành nghiên cứu y học và được phân tích về các chất đánh dấu chẩn đoán. Tốt hơn nếu huyết tương và các tế bào màu được tách riêng trước khi xác định lượng tương ứng của chất đánh dấu chẩn đoán trong huyết tương (ví dụ, tổng lượng LDH trong huyết tương). Sau khi hoàn thành việc tiến hành nghiên cứu y học, mẫu máu thứ hai có thể thu được từ thời điểm cần thiết và được phân tích theo cách tương tự như ở mẫu đầu tiên. Việc xác định chất đánh dấu chẩn đoán trong mỗi mẫu có thể được xác định và được so sánh để đánh giá sự có mặt của tình trạng thiếu oxy.

Theo các phương án khác, nhiều chất đánh dấu chẩn đoán được phân tích. Các phương án như vậy bao gồm việc xác định tổng lượng LDH và ít nhất một chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung trong huyết tương của cả hai mẫu máu được chọn từ nhóm gồm K, Mg, Ca, AST, ALT và lactat. Từ đó, lượng tương ứng của mỗi chất đánh dấu chẩn đoán trong các mẫu thứ nhất và thứ hai có thể được so sánh với nhau để xác định vị trí thích hợp cho quá trình nối. Theo một phương án, tiến hành điều trị bao gồm việc nối đường tiêu hóa.

Ví dụ, ung thư ruột già là một trong những ung thư phổ biến nhất ở cả hai giới. Cách điều trị hiện nay bao gồm tiến hành phẫu thuật trong đó khối u được loại bỏ cùng với phần gốc của ruột. Trong đa số các trường hợp này, đầu xa và đầu gần ruột được đặt trở lại cùng với nhau. Thao tác này được gọi là nối.

Theo cách như vậy, phương án nhất định bao gồm phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy từ mẫu máu thu từ đường tiêu hóa của động vật có vú (ví dụ, ruột). Theo cách như vậy, phương án nhất định bao gồm phương pháp thử nghiệm tại chỗ (point-of-care - POC) để xác định nhanh (ví dụ, trong vòng vài phút hoặc vài giây như đã nêu trên) tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ từ lượng nhỏ thể tích máu. Do đó, các phương án này có thể khả thi để quyết định xem phần nào của ruột là thích hợp cho việc nối này.

LDH, AST, magie và lactat là chất đánh dấu làm tăng nồng độ trong máu do gây tổn thương tế bào và chuyển hoá kỵ khí trong tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ. Trước khi mạch máu bị cắt bỏ, máu từ ruột có thể thu được bằng cách sử dụng dao mổ (hoặc dụng cụ tương tự) và ống mao dẫn tiết trùng. Ống mao dẫn này có thể được đưa vào thể phân tích như đã nêu trên và được phân tích. Tốt hơn nếu kết quả được sử dụng làm giá trị tham khảo duy nhất của bệnh nhân (ví dụ, đường nền). Sau khi loại bỏ khối u (và phần ruột xung quanh), có thể tiến hành thử nghiệm mới để xem nồng độ chất đánh dấu có tăng lên hay không. Nếu tăng lên, phần nối có thể phải xác định lại sao cho gần với nguồn cấp máu hiện có để giảm thiểu nguy cơ mắc phải tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ bao gồm bước nối không hiệu quả và thoát ra ngoài.

Ngoài bước lấy mẫu máu từ đường tiêu hóa, phương án theo sáng chế có thể là hữu ích bao gồm lấy các mẫu máu từ cơ quan đặc thù hoặc dịch não tủy của động vật có vú trong quá trình tiến hành phẫu thuật.

Chẳng hạn, lí do chính để phẫu thuật ở động mạch chủ ngực bụng là chứng phình động mạch chủ và mổ xẻ. Phẫu thuật tổng thể cần có liên hệ với tình trạng bệnh nghiêm trọng và tỷ lệ tử vong. Một trong số những biến chứng thường gặp nhất là tổn thương hệ thần kinh. Lí do chính gây ra những biến chứng này là oxy và năng lượng không được cung cấp đầy đủ do chứng thiếu máu cục bộ. Ví dụ, các ca phẫu thuật này có thể gây ra chứng liệt vĩnh viễn là biến chứng hậu phẫu trong 1-10% bệnh nhân tùy thuộc vào vị trí phẫu thuật trên động mạch chủ.

Tuy nhiên, phương án theo sáng chế bao gồm phương pháp, có thể là phương pháp POC, để phát hiện tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ trong quá trình phẫu thuật lấy máu từ các cơ quan đặc thù hoặc dịch não tủy (cerebrospinal fluid - CSF) thông qua ống ngang thắt lưng. Như vậy, mẫu thu từ cơ quan đặc thù thu được và được phân tích LDH như được mô tả chi tiết trên đây. Theo phương án ưu tiên, phương pháp để phát hiện tình trạng thiếu oxy bao gồm việc xác định LDH và ít nhất một chất tiên lượng bổ sung trong mẫu được chọn từ nhóm gồm K, Mg, Ca, AST, ALT và lactat. Tốt hơn, một trong số các chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung được xác định bao gồm lactat. Chẳng hạn, cơ quan đặc thù có thể bao gồm động mạch chủ của động vật có vú.

Theo khía cạnh khác, phương án theo sáng chế có thể cải thiện tình trạng bệnh và tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân sau khi điều trị cấy ghép. Một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới tình trạng bệnh và tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân sau khi cấy ghép là có liên quan tới sự tổn thương hoàn toàn của các mô ghép, như các mô ghép gan trong quá trình ghép gan. Ví dụ, nhận thấy rằng LDH, AST và ALT thoát vào dịch truyền làm mất tính toàn vẹn màng của các tế bào gan.

Theo một phương án như vậy, phương pháp xác định sự có mặt của tình trạng thiếu oxy ở cơ quan đã được cấy ghép vào động vật có vú cần được điều trị có thể bao gồm bước lấy mẫu máu và phân tích mẫu, như đã nêu trên, đối với chất đánh dấu chẩn đoán trước khi tiến hành phẫu thuật cấy ghép. Theo một phương án, mẫu được phân tích để xác định tổng lượng LDH và ít nhất một chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung

trong mẫu được chọn từ nhóm gồm K, Mg, Ca, AST, ALT và lactat. Theo một phương án được ưu tiên, cơ quan cấy ghép là gan.

Phương án nhất định theo sáng chế có thể thoả mãn yêu cầu trên lâm sàng để xác định bệnh nhân có các rối loạn chức năng đa cơ quan. Hiện nay, một số quốc gia đã hình thành nhóm người gồm các bác sĩ và y tá từ đơn vị chăm sóc sức khoẻ chuyên sâu (intensive care unit - ICU) với mục đích cung cấp một đội lưu động có thể đến các cơ sở y tế, không phải các khu vực chăm sóc sức khoẻ chuyên sâu, cơ sở phòng bệnh để đánh giá xem bệnh nhân có bị các rối loạn chức năng đa cơ quan hay không. Nếu được xác định có nguy cơ, bệnh nhân có thể được điều trị và chuyển tới ICU. Ở Úc, sự chỉ dẫn của các đội lưu động này đã làm giảm tỷ lệ mắc phải của các bệnh liên quan đến tim, giảm tỷ lệ tử vong đột ngột do các bệnh liên quan đến tim, các biến chứng ở giai đoạn hậu phẫu gây ra và những ngày ở ICU đã giảm được 50% số trường hợp mắc bệnh.

Các đội lưu động này tiến hành thử nghiệm lâm sàng ở phổi, thận và vòng tuần hoàn để đánh giá các rối loạn chức năng đa cơ quan. Tuy nhiên, chưa có phương pháp nhanh, đáng tin cậy để đánh giá ở gan hoặc đánh giá mức độ chuyển hoá. Gan thường do bệnh trầm trọng và enzym ở gan gây ra và chứng nhiễm axit chuyển hoá là tiên lượng cho sự tử vong.

Do đó, các thiết bị theo phương án theo sáng chế là thích hợp để sử dụng cho các đội như vậy. Các thiết bị như vậy thường nhỏ gọn và đủ nhanh để cho đội lưu động mang theo (ví dụ, túi) khi tư vấn cho các khu vực mắc bệnh. Do LDH, AST và ALT có mặt ở các tế bào gan và lactat thường tăng lên trong chứng nhiễm axit chuyển hoá, nên các đội này có thể đưa ra đánh giá bổ sung về những thông số đã được xét nghiệm ở gan bằng cách sử dụng thiết bị theo sáng chế. Do đó, các thiết bị và phương pháp theo phương án theo sáng chế có khả năng xác định, thậm chí ở nhiều bệnh nhân về những nguy cơ mắc bệnh trầm trọng và do đó nó mang tính nhân đạo và đem lại lợi ích kinh tế.

Theo khía cạnh khác, các thiết bị và phương pháp theo phương án nhất định là thích hợp để sử dụng cho các nhân viên thuộc đơn vị chăm sóc sức khoẻ chuyên sâu (ICU). ICU là thích hợp đối với các bệnh nhân bị ốm ở mức độ trầm trọng trong hệ thống chăm sóc sức khoẻ. Tuy ý, nếu bệnh nhân được chuyển tới ICU do chấn thương,

được chẩn đoán bị mắc bệnh tim, nhiễm trùng, chảy máu hoặc phẫu thuật ở phạm vi rộng, thì luôn luôn có nguy cơ bị thiếu oxy nếu quá trình tuần hoàn và bảo hoà không cung cấp đủ. Ngay cả khi các thông số thông thường được kiểm tra cẩn thận và những bất thường được điều trị bằng dịch truyền và thuốc, thì vẫn không tiến hành được phương pháp điều trị trên giường bệnh dưới sự chỉ dẫn của các nhân viên ICU về các ảnh hưởng của việc điều trị lên mô ngoại biên.

Đã biết rằng LDH, AST, ALT và lactat tăng đáng kể trong huyết thanh bệnh nhân kèm theo sốc nặng là dấu hiệu của các hậu quả xấu (ví dụ, tử vong) (Hardaway 1981). AST, ALT (và trước đây được gọi là LDH) được xác định theo cách thông thường trên lâm sàng ở nhiều ICU, là chất đánh dấu của các tổn thương và lactat được sử dụng làm chất đánh dấu của quá trình chuyển hoá kỵ khí và chứng thiếu máu cục bộ ở ruột (Juel 2007). Tuy nhiên, chưa đưa ra thiết bị có thể dùng để phẫu thuật trên giường bệnh hoặc cho kết quả trong vài phút.

Phương án theo sáng chế bao gồm thiết bị và phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy trên giường bệnh, trong đó hầu hết các kết quả có giá trị trong vòng vài phút. Phương án này bao gồm bước lấy mẫu để phân tích và xác định LDH. Theo phương án được ưu tiên, các phương pháp bao gồm bước xác định lượng ít nhất một chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung trong huyết tương chủ yếu được chọn từ nhóm gồm AST, ALT và lactat.

Như đã nêu trên, hiện tượng ngạt cấp tính trong quá trình sinh nở, tức là, tình trạng thiếu oxy (mức bão hoà oxy không đủ trong máu thai nhi) trước hoặc trong khi sinh nở, là nguyên nhân chính gây ra các tổn thương hệ thần kinh dưới dạng tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ ở não (HIE) ở trẻ sơ sinh. Cơ chế bệnh lý của tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ dẫn tới sự tổn thương các noron ở là cơ chế lưỡng pha được bắt đầu bằng pha sơ bộ xảy ra ngay sau khi sinh nở. Nếu đứa trẻ tỉnh lại hoàn toàn ở pha sơ bộ này thì sau đó sẽ có quãng nghỉ kéo dài trong vài giờ. Hai trong số bảy đứa trẻ bị ngạt, quãng nghỉ này sẽ xảy ra hiện tượng thiếu hụt năng lượng thứ cấp làm chết tế bào trẻ ở não trẻ và hiện tượng lâm sàng co giật (cũng đã biết là HIE). Quãng nghỉ cho phép giảm tối đa khả năng chết của tế bào trẻ bằng cách điều trị hạ thân nhiệt (làm lạnh nhiệt độ não trẻ xuống 34,5°C). Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi phải tiên lượng để xác định xem đứa trẻ có bị mắc HIE hay không và do đó việc

điều trị hạ thân nhiệt sẽ có lợi hay không và xác định xem đứa trẻ nào không bị mắc HIE.

Do việc bắt đầu điều trị hạ thân nhiệt có thể được thực hiện càng sớm càng tốt ngay sau khi sinh (có tác dụng bảo vệ noron thần kinh giảm tới mức thấp nhất sau 5,5 giờ sau khi bị ngạt) là vấn đề quan trọng, nên hệ thống chăm sóc sức khỏe nhằm phát hiện nhanh chất đánh dấu chẩn đoán đem lại giá trị trên lâm sàng. Dữ liệu được thu thập từ những đứa trẻ sơ sinh cho thấy rằng bằng cách xác định lượng LDH cùng với ALT thu được 100% độ nhạy đối với việc tiên lượng HIE chiếm > 96% độ đặc hiệu.

Theo phương án nhất định, sáng chế đề xuất công cụ chẩn đoán cho bác sĩ trên lâm sàng và nghiên cứu về việc điều trị hạ thân nhiệt ở trẻ sơ sinh bị ngạt trong quá trình sinh. Hơn nữa, phương án theo sáng chế còn bao gồm phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy, trong đó bác sĩ có thể tiên lượng tổn thương não sau khi ngạt trước khi sinh. Các phương pháp như vậy bao gồm bước lấy mẫu để phân tích LDH như đã nêu chi tiết ở trên. Theo phương án được ưu tiên, lượng tương đối của nhiều chất đánh dấu chẩn đoán có thể được xác định. Tốt hơn nếu mẫu máu được xử lý sao cho huyết tương được tách ra từ các tế bào máu và xác định nồng độ của các chất đánh dấu chẩn đoán khác nhau chỉ dựa vào việc phân tích huyết tương. Theo phương án được ưu tiên khác, phương pháp bao gồm bước xác định lượng LDH và ít nhất một chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung trong huyết tương được chọn từ nhóm gồm AST, ALT và lactat. Tốt nhất nếu lượng ALT là một trong số các chất đánh dấu chẩn đoán đã được xác định.

Theo một phương pháp theo các phương án của sáng chế, phương pháp này bao gồm bước điều trị hạ thân nhiệt cho động vật có vú cần được điều trị, trong đó bước xác định LDH (đơn lẻ hoặc cùng với chất đánh dấu chẩn đoán khác) trong huyết tương sẽ cho thấy hiện tượng chết của các tế bào trẻ ở não động vật có vú.

Theo khía cạnh khác nữa, các phương án theo sáng chế có thể được dùng để đánh giá tình trạng của các chi ở động vật có vú trước, trong và sau khi điều trị bằng thủ thuật y khoa hoặc phẫu thuật. Chẳng hạn, chấn thương, gãy xương và tắc mạch có thể ảnh hưởng tới quá trình tuần hoàn tới các chi và cơ ngoại biên (ví dụ, hội chứng ngón). Nhận thấy có mối liên hệ mật thiết giữa oxy trong cơ bị thiếu máu cục bộ và nồng độ lactat và LDH (Yamamoto 1988) và lactat có nồng độ trong máu ở đùi của

bệnh nhân mắc bệnh tắc nghẽn động mạch ngoại biên cao hơn so với các giá trị đối chứng (Rexroth 1988). Các thiết bị theo phương án theo sáng chế có thể dựa vào nồng độ enzym và lactat để chẩn đoán chứng thiếu máu cục bộ ở các chi cụ thể và cũng đánh giá hiệu quả tốt nhất của việc điều trị.

Ngoài ra, phương án theo sáng chế bao gồm phương pháp xác định tình trạng thiếu oxy do thiếu máu cục bộ bằng cách phân tích mẫu thu từ chi và xác định tổng lượng LDH trong huyết tương. Các chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung có thể được định lượng ở cùng thời điểm với việc xác định LDH. Từ đó, đánh giá được quá trình tuần hoàn máu tới các chi của động vật có vú trước, trong và sau khi điều trị bằng thủ thuật y khoa hoặc phẫu thuật.

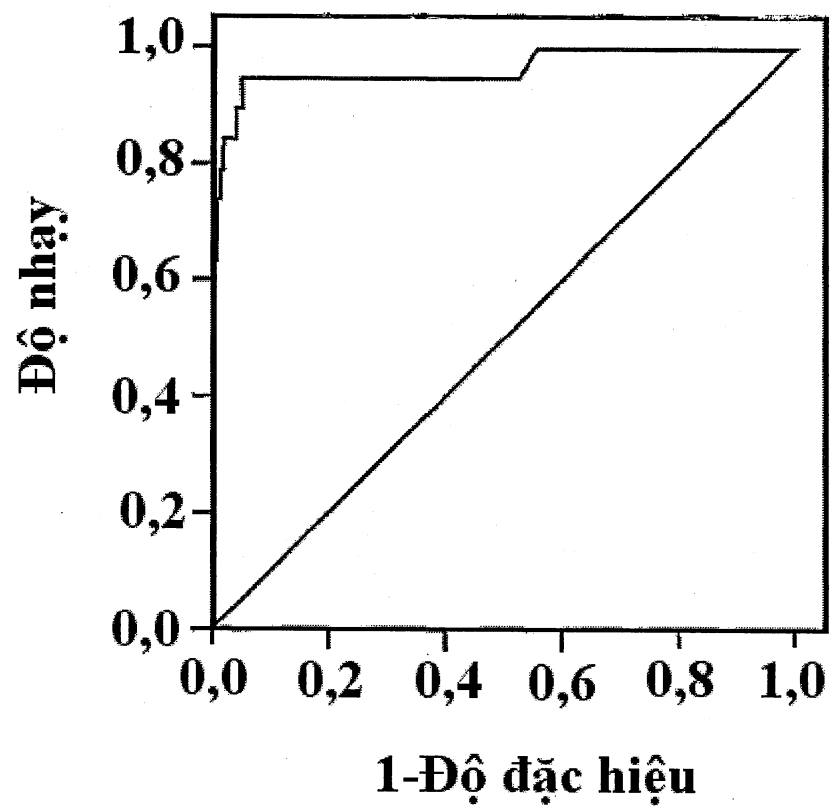
Chuyên gia trong lĩnh vực tin tưởng rằng nhiều cải biến khác nhau có thể được thực hiện mà không cần tới kỹ năng sáng tạo, không thuộc phần mô tả nêu trên, ví dụ sử dụng thuỷ tinh hoặc một số vật liệu thích hợp khác trong nhựa, v.v..

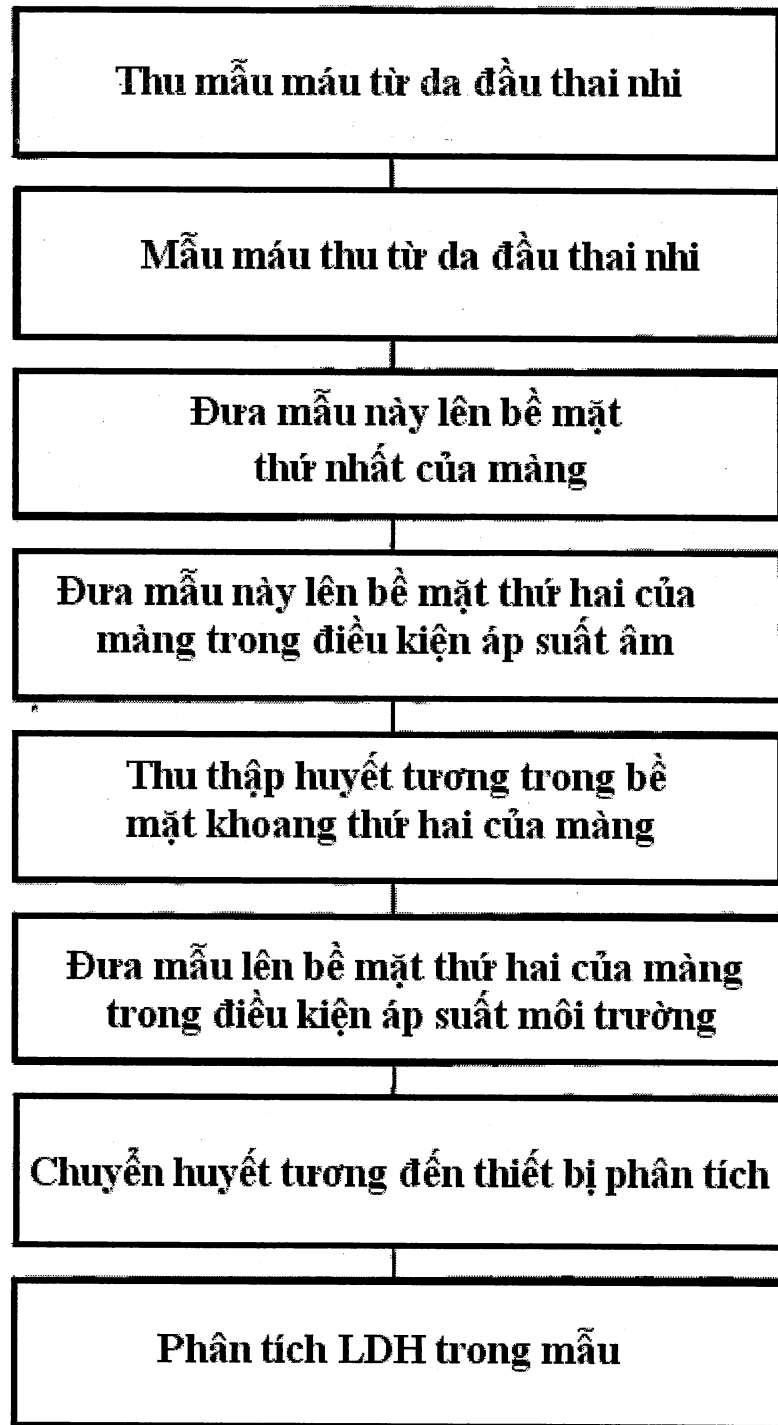
Nhiều cải biến và các phương án khác theo sáng chế đã nêu trong phần mô tả sẽ giúp chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật làm cho sáng chế này hiểu được lợi ích của phần mô tả nêu trên và các hình vẽ kèm theo. Do đó, cần hiểu rằng sáng chế không hạn chế ở các phương án cụ thể đã nêu và các cải biến và các phương án khác dự định nằm trong yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mặc dù các thuật ngữ cụ thể được sử dụng trong phần mô tả này, nhưng chúng chỉ được sử dụng theo nghĩa chung và mang tính chất mô tả, chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi của sáng chế.

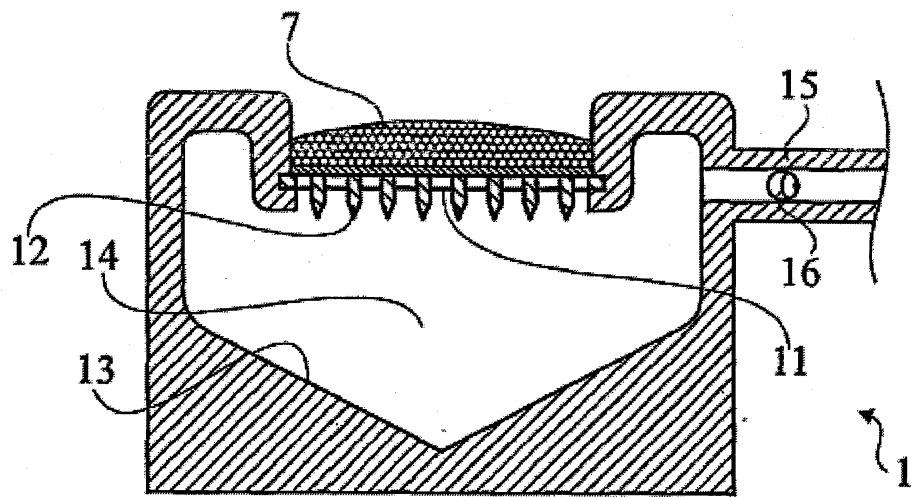
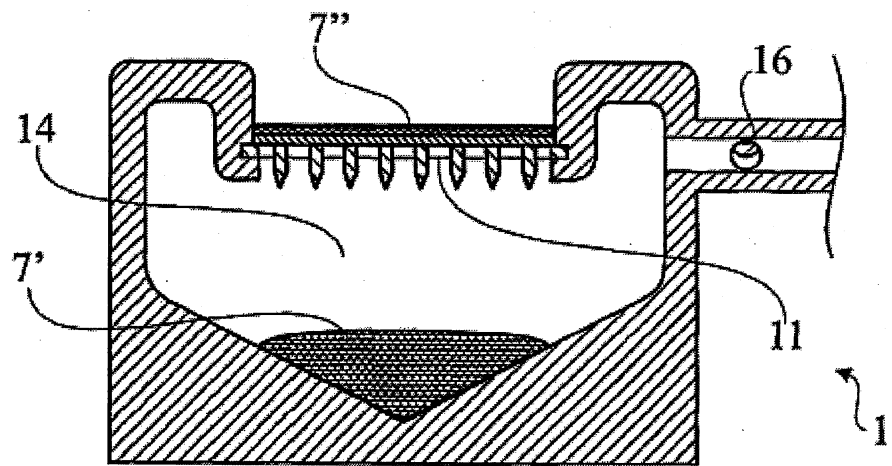
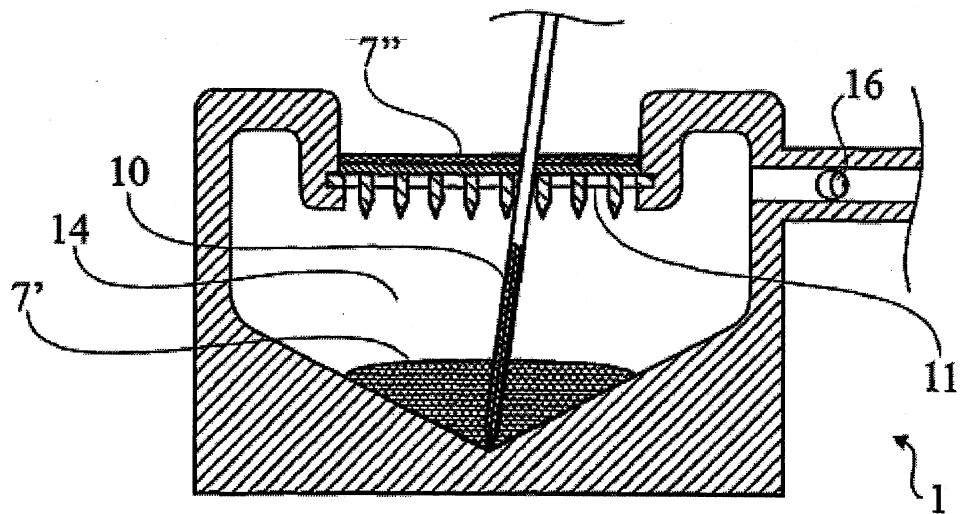
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp đánh giá tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa của động vật có vú, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:
 - a. thu mẫu máu đầu tiên, ban đầu hoặc đường nền từ đường tiêu hóa, mẫu máu này bao gồm huyết tương và tế bào máu;
 - b. tách huyết tương ra khỏi tế bào máu;
 - c. xác định lượng lactat dehydrogenaza (LDH) trong huyết tương;
 - d. thu mẫu máu thứ hai từ đường tiêu hóa, mẫu máu này bao gồm huyết tương và tế bào máu;
 - e. tách huyết tương ra khỏi tế bào máu trong mẫu thứ hai này;
 - f. xác định lượng lactat dehydrogenaza (LDH) trong huyết tương trong mẫu thứ hai này;
 - g. so sánh lượng lactat dehydrogenaza trong mẫu thứ hai với lượng lactat dehydrogenaza trong mẫu thứ nhất;
 - h. đánh giá mức độ tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa theo lượng LDH trong huyết tương; và
 - i. nhận diện vị trí nổi trên cơ sở đánh giá mức độ tình trạng thiếu oxy ở đường tiêu hóa.
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước xác định lượng của ít nhất một chất đánh dấu chẩn đoán bổ sung trong huyết tương được chọn từ nhóm bao gồm K, Mg, Ca, aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT) và lactat.
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó thể tích của mẫu máu nằm trong khoảng từ 5 μ l đến 150 μ l.
4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó thể tích của mẫu máu nằm trong khoảng từ 5 μ l đến 25 μ l.
5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó thể tích của mẫu máu nằm trong khoảng từ 5 μ l đến 15 μ l.

6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó huyết tương được tách ra từ các tế bào máu bằng màng bán thấm sao cho huyết tương đi qua được màng này và các tế bào máu được giữ lại trên màng.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó mẫu máu được thu từ đại trực tràng của động vật có vú.
8. Phương pháp theo điểm 7, trong đó mẫu máu đầu tiên, ban đầu hoặc đường nền được thu trước khi tiến hành thủ thuật y khoa và mẫu máu thứ hai được thu sau khi tiến hành thủ thuật y khoa.
9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó thủ thuật y khoa bao gồm việc nối đường tiêu hóa.

Đường cong ROC**Fig.1**

**Fig.2**

**Fig.3****Fig.4****Fig.5**

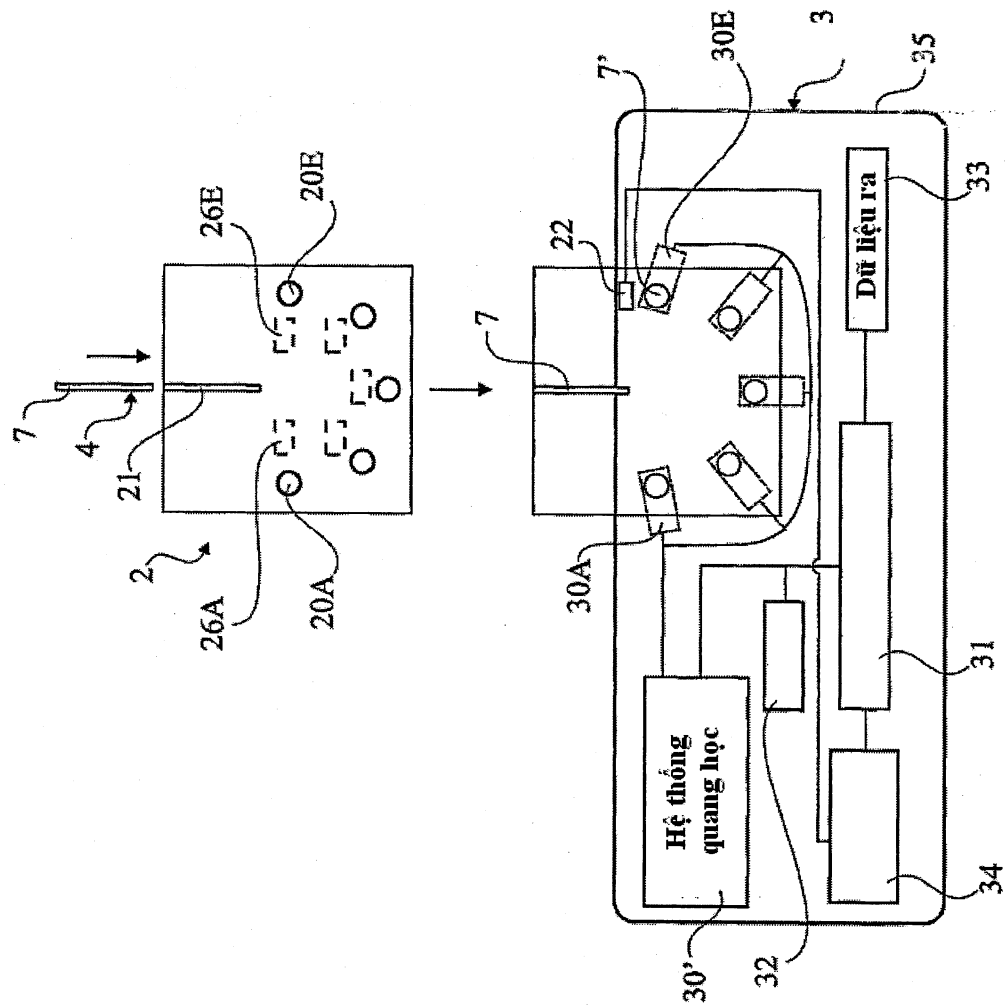


Fig. 6

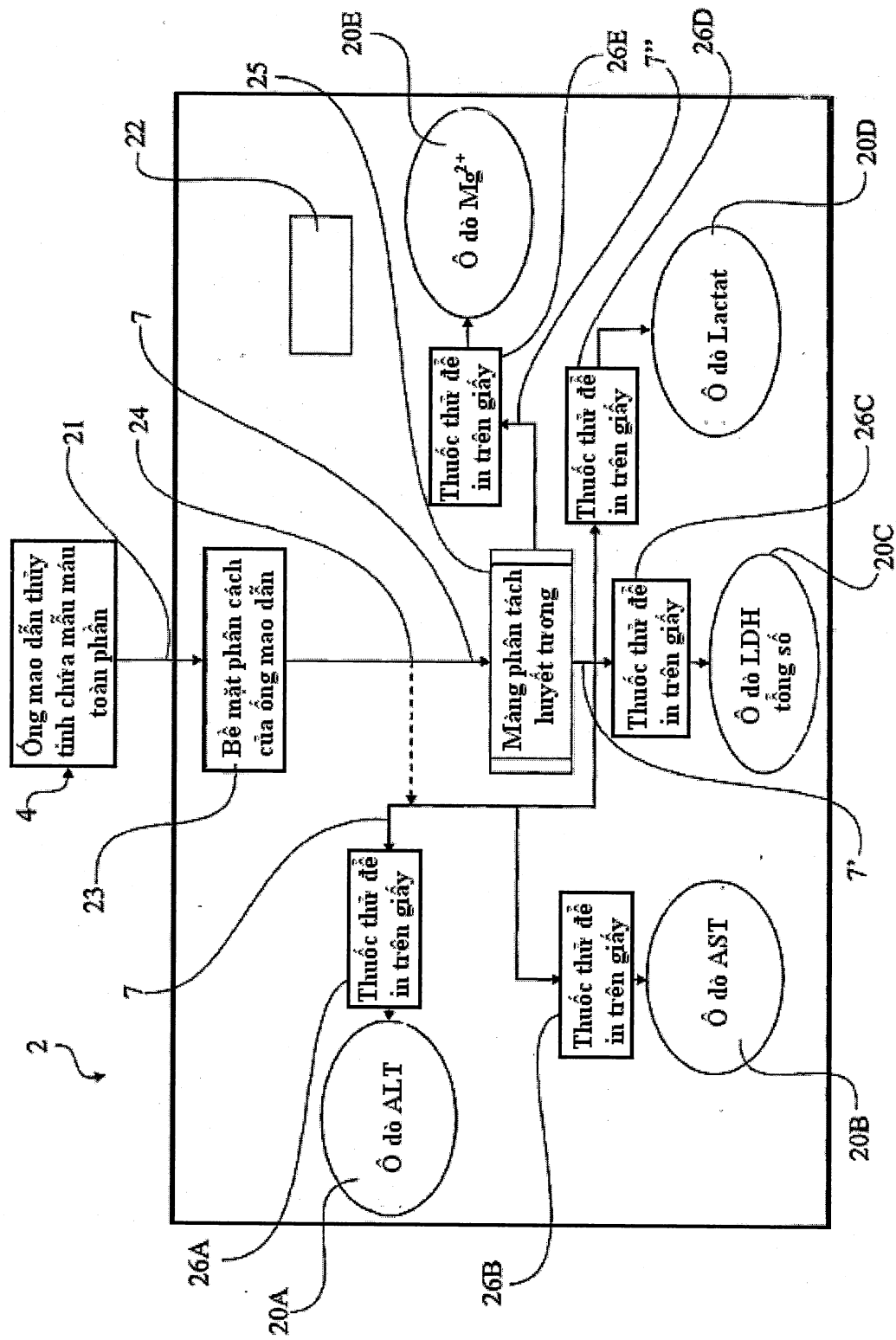
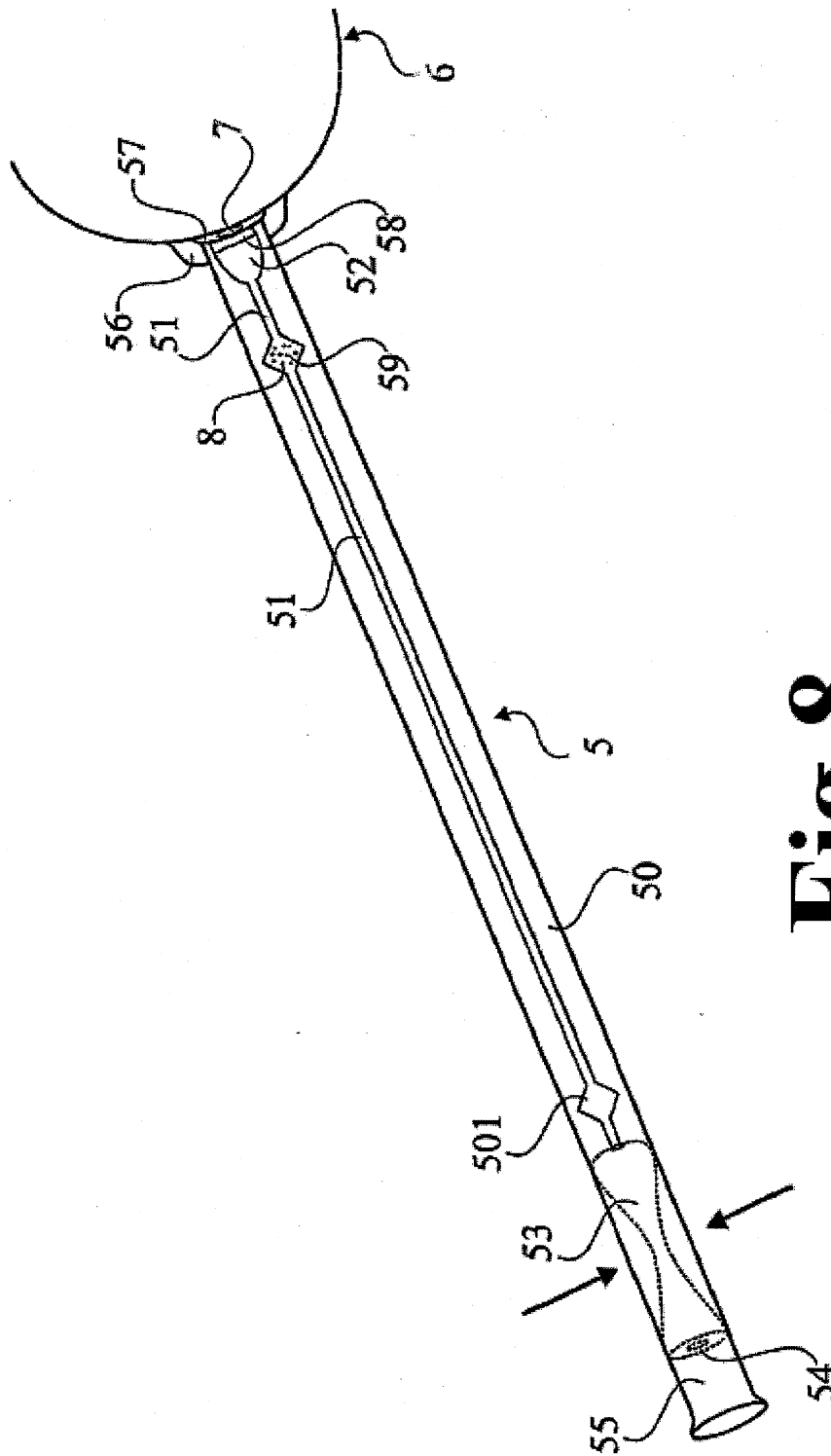


Fig. 7

**Fig. 8**

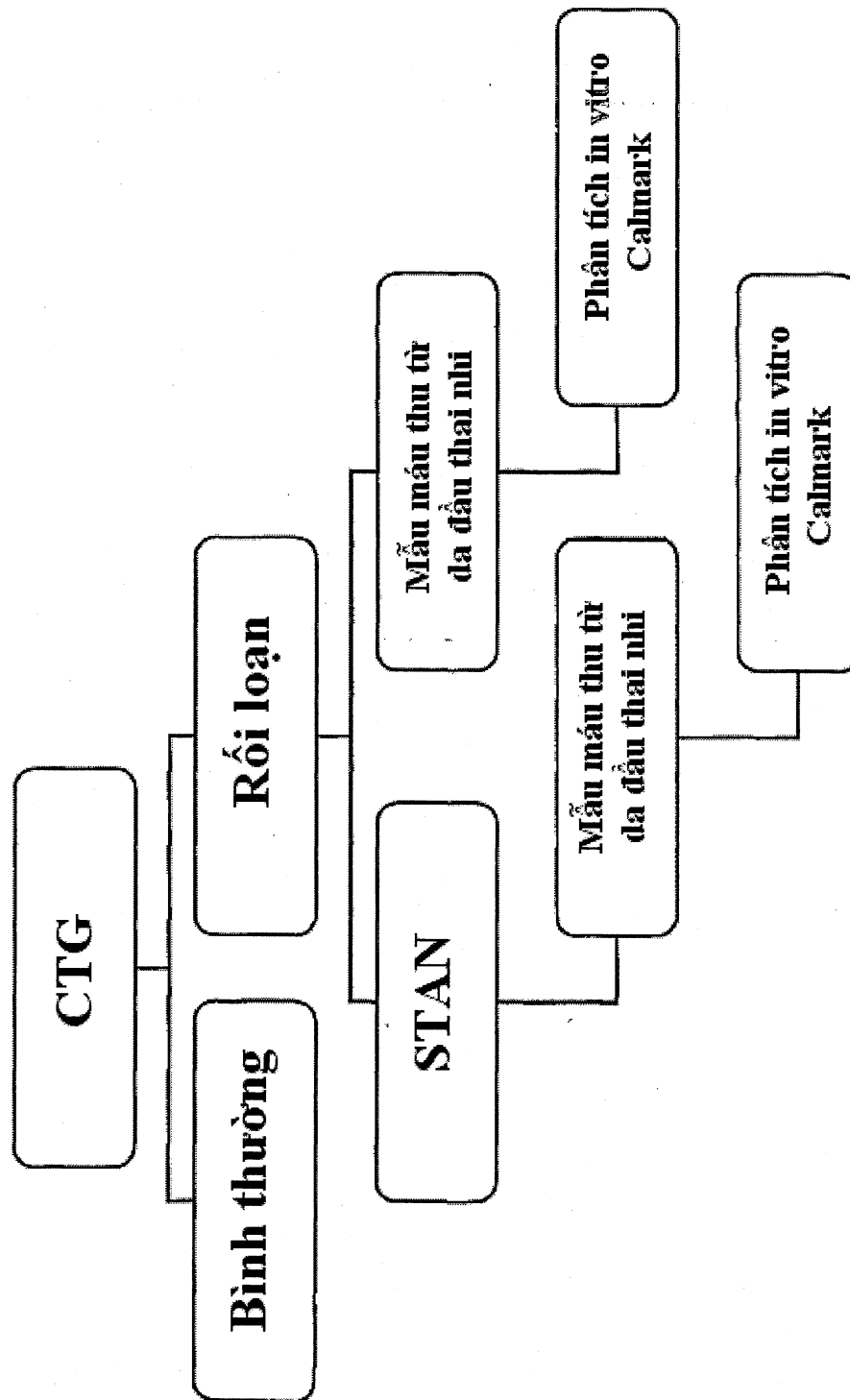


Fig.9