BỘ Y TẾ	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**
Số: 3639 /QĐ-BYT	*Hà Nội, ngày 25 tháng 11 năm 2025*

QUYẾT ĐỊNH
Về việc ban hành tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Huyết học" – Tập 1

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Khám bệnh, chữa bệnh năm 2023;

Căn cứ Nghị định số 42/2025/NĐ-CP ngày 27/02/2025 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành Danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh;

Căn cứ Quyết định số 619/QĐ-BYT ngày 14 tháng 03 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu "Hướng dẫn quy trình chuyên môn kỹ thuật về Huyết học";

Căn cứ Biên bản họp ngày 13 tháng 08 năm 2025 của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu "Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Huyết học"; Công văn số 1632/HHTMTW ngày 12 tháng 11 năm 2025 của Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương về việc hoàn thiện quy trình kỹ thuật chương 25 Huyết học;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này Tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Huyết học" – Tập 1, gồm 233 quy trình kỹ thuật *(Tài liệu chuyên môn kèm theo)*.

Điều 2. Tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Huyết học" được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày 01/7/2026.

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ; Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh; Cục trưởng, Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế; Giám đốc các bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương; Thủ trưởng Y tế các ngành và các cơ quan, đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:
- Như Điều 4;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng;
- BHXNVN - Bộ Tài chính;
- Cổng thông tin điện tử Bộ Y tế;
- Website Cục KCB;
- Tổng hội Y học Việt Nam và các hội y khoa;
- Lưu: VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG

Trần Văn Thuấn

HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH CHUYÊN MÔN KỸ THUẬT VỀ HUYẾT HỌC (TẬP 1)

(Ban hành kèm theo Quyết định số 3639 /QĐ-BYT ngày *25* tháng *11* năm 2025 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

Hà Nội, 2025

Chỉ đạo biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Trần Văn Thuấn	Thứ trưởng Bộ Y tế
Chủ biên	
PGS. TS. Nguyễn Hà Thanh	Viện trưởng Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
TS. Hà Anh Đức	Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
Tham gia biên soạn, thẩm định	
1. GS.TS. Phạm Quang Vinh	Nguyên Phó Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Chủ tịch hội đồng
2. TS. Vương Ánh Dương	Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Bộ Y tế
3. TS. Dương Huy Lương	Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Bộ Y tế
4. TS. Phù Chí Dũng	Giám đốc Bệnh viện Truyền máu Huyết học Thành phố Hồ Chí Minh - Phó Chủ tịch Hội đồng
5. PGS. TS. Nguyễn Tuấn Tùng	Phó Giám đốc bệnh viện Bạch Mai, Giám đốc Trung tâm Huyết học - Truyền máu bệnh viện Bạch Mai - Phó Chủ tịch Hội đồng
6. TS. Vũ Đức Bình	Phó Viện trưởng Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Thành viên
7. PGS.TS. Nguyễn Quang Tùng	Phó Giám đốc Trung tâm máu Quốc gia, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Thành viên
8. PGS.TS. Lê Xuân Hải	Trưởng khoa Miễn dịch, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Thành viên
9. TS.BS.Trần Thanh Tùng	Trưởng khoa Huyết học, Bệnh viện Chợ Rẫy - Thành viên
10. PGS. TS. Lý Tuấn Khải	Phó giám đốc TTXN - Chủ nhiệm khoa Huyết học, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 - Thành viên
11. BSCKII. Phan Hoàng Duy	TK Huyết học xét nghiệm, Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế - Thành viên
12. TS. Nguyễn Ngọc Dũng	Trưởng khoa Tế bào tổ chức học, Viện Huyết học Truyền máu Trung ương - Thành viên
13. TS. Trần Kiều My	Trưởng khoa Đông máu, Viện Huyết học Truyền máu Trung ương - Thành viên
14. TS. Hoàng Thị Thanh Nga	Trưởng khoa Huyết thanh học nhóm máu, Viện Huyết học Truyền máu Trung ương - Thành viên

15. BSCKII. Lâm Trần Hoà Chương	Trưởng khoa Miễn dịch Bệnh viện Truyền máu Huyết học Thành phố Hồ Chí Minh - Thành viên
16. BSCKII. Vũ Văn Trường	Phó giám đốc Trung tâm Huyết học - Truyền máu bệnh viện Bạch Mai - Thành viên
17. TS. Hàn Viết Trung	Phó Giám đốc Trung tâm Huyết học và truyền máu, Bệnh viện Bạch Mai - Thành viên
18. PGS.TS Trần Ngọc Quế	Giám đốc Trung tâm máu Quốc Gia, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
19. TS. Nguyễn Bá Khanh	Phó giám đốc Trung tâm máu Quốc gia, Giám đốc Ngân hàng tế bào gốc, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
20. ThS. Võ Thị Diễm Hà	Phó giám đốc Trung tâm máu Quốc Gia, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
21. TS. BS. Hà Hữu Nguyện	Trưởng khoa tiếp nhận máu điểm lưu động, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
22. TS. BS. Dương Doãn Thiện	Trưởng khoa tiếp nhận thành phần máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
23. ThS. BS. Vũ Quang Hưng	Trưởng khoa tiếp nhận máu điểm cố định, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
24. ThS. Nguyễn Phương Thảo	Trưởng phòng Quan hệ công chúng, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
25. ThS. Nguyễn Thị Thanh Dung	Trưởng khoa xét nghiệm sàng lọc máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
26. ThS. Hoàng Nhật Lệ	Trưởng khoa Lưu trữ và phân phối máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
27. ThS. Trần Thị Thủy	Phó trưởng khoa Điều chế máu và các thành phần máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung
28. BSCKII. Đào Thị Thiết	Phó Trưởng khoa Khoa Đông máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
29. BSCKII. Lưu Thị Thu Hương	Phó trưởng Khoa Tế bào - Tổ chức học, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
30. CKI.KTY Đỗ Đình Đĩnh	Trung tâm Huyết học - Truyền máu, Bệnh viện Bạch Mai
31. ThS. Lê Xuân Thịnh	Kỹ thuật viên trưởng Ngân hàng Tế bào gốc, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương

32. ThS. Vũ Đức Lương	Kỹ thuật viên trưởng Khoa Miễn dịch, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
33. CKI.KTY. Nguyễn Đình Tuệ	Kỹ thuật viên trưởng Khoa Tế bào - Tổ chức học, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
34. CN. Nguyễn Thị Thanh Hương	Kỹ thuật viên trưởng Khoa Đông máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
35. ThS. Trương Thị Hiên	Khoa Tế bào - Tổ chức học, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
36. CĐKTY. Đinh Thị Thuận Anh	Kỹ thuật viên khoa Huyết thanh học nhóm máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
37. CN. Phạm Quang Thịnh	Kỹ thuật viên khoa Huyết thanh học nhóm máu, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
Thư ký	
1. TS. Nguyễn Hữu Chiến	Trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Thành viên, Thư ký
2. ThS. BS. Đào Nguyên Minh	Trưởng phòng Quản lý chất lượng và Chuyển giao kỹ thuật, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Thành viên kiêm Thư ký
3. ThS. Đoàn Văn Chính	Phó trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương - Thư ký
4. ThS. BS. Lê Sinh Quân	Chuyên viên Phòng Quản lý chất lượng và Chuyển giao kỹ thuật, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Thư ký

LỜI NÓI ĐẦU

Bộ Y tế đã xây dựng và ban hành Tài liệu "Hướng dẫn Quy trình chuyên môn kỹ thuật về Huyết học" năm 2012, 2014, 2017. Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật này là căn cứ để cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh, nhân viên y tế triển khai áp dụng và thực hiện kỹ thuật khám, chữa bệnh.

Trong những năm gần đây, khoa học kỹ thuật trên thế giới và năng lực người thực hiện kỹ thuật đã phát triển và nâng cao; nhằm cập nhật, bổ sung những tiến bộ mới và tiếp tục chuẩn hóa quy trình thực hiện kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh, Bộ Y tế đã giao một số bệnh viện làm đầu mối xây dựng, cập nhật Hướng dẫn Quy trình chuyên môn kỹ thuật Huyết học như Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương, Bệnh viện Bạch Mai, các bệnh viện được giao đã huy động và phân công các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa… biên soạn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật; tổ chức họp hội đồng khoa học trong bệnh viện để nghiệm thu; biên tập, hoàn thiện theo ý kiến của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu do Bộ Y tế thành lập và chịu trách nhiệm về chuyên môn kỹ thuật quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật đều được các thành viên biên soạn rà soát với hướng dẫn hiện hành, tham khảo các tài liệu trong nước, nước ngoài để cập nhật phù hợp với thực tế hiện nay.

Bộ Y tế đã thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các chuyên gia về huyết học trong cả nước. Các thành viên Hội đồng đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật.

Để hoàn thành Tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn Quy trình chuyên môn kỹ thuật về Huyết học" - Tập 1, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế trân trọng cảm ơn sự đóng góp công sức, trí tuệ, kinh nghiệm của các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa, chuyên ngành hàng đầu trong lĩnh vực Huyết học đã tham gia với vai trò là thành viên Ban biên soạn, thành viên Hội đồng góp ý và nghiệm thu Tài liệu chuyên môn.

Trong quá trình biên soạn, biên tập, in ấn tài liệu, mặc dù Ban Biên soạn đã hết sức cố gắng nhưng khó tránh khỏi hoàn toàn những thiếu sót, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến từ quý độc giả đồng nghiệp để Tài liệu chuyên môn ngày một hoàn thiện hơn. Mọi ý kiến góp ý xin gửi về Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế, 138A, Giảng Võ, Hà Nội.

Trân trọng cảm ơn!

GS. TS. Trần Văn Thuấn
THỨ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH

1. Nguyên tắc xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

a) Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chương, chuyên ngành bảo đảm đầy đủ các nội dung cơ bản về chỉ định, chống chỉ định, thận trọng, chuẩn bị đến các các bước thực hiện kỹ thuật theo trình tự thực hiện từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật;

b) Thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế… (danh mục và số lượng) được quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật căn cứ trên yêu cầu chuyên môn, tính phổ biến, thường quy thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Trong thực tế triển khai, thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế… (danh mục và số lượng) có thể thay đổi dựa trên cá thể người bệnh, tình trạng bệnh, diễn biến lâm sàng… và điều kiện thực tế hạ tầng, thiết bị, nhân lực của mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

c) Ngoài địa điểm thực hiện kỹ thuật như phòng phẫu thuật (phòng mổ), phòng thực hiện kỹ thuật (phòng thủ thuật), phòng bệnh... được quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, kỹ thuật có thể được thực hiện ở các địa điểm khác theo nguyên tắc:

- Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng bệnh thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng thực hiện kỹ thuật, phòng phẫu thuật;
- Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng thực hiện kỹ thuật thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng phẫu thuật;
- Các kỹ thuật chỉ được phép thực hiện tại các địa điểm khác trong trường hợp cấp cứu theo quy định pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

2. Nguyên tắc áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được phép áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành và phải có văn bản do người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phê duyệt việc triển khai áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành.

b) Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì tuân thủ theo nguyên tắc xây dựng. Căn cứ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật tương ứng do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành, Thủ trưởng cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ đạo xây dựng, ban hành, triển khai, áp dụng phù hợp với đơn vị và hoàn toàn trách nhiệm về việc xây dựng, ban hành, triển khai và áp dụng.

c) Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng cho các kỹ thuật tại Phụ lục số 02 Thông tư số 23/2024/TT-BYT ban hành Danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh và đồng thời có tại Phụ lục số 01 Thông tư số 23/2024/TT-BYT có cùng tên hoặc có tên khác so với tên kỹ thuật tại Phụ lục số 02 Thông tư số 23/2024/TT-BYT nhưng bản chất và quy trình kỹ thuật thực hiện giống nhau.

d) Người thực hiện các kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh là người hành nghề có phạm vi hành nghề phù hợp với kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh, theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh, không bị giới hạn bởi các chức danh nghề nghiệp được liệt kê trong từng quy trình kỹ thuật.

đ) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ được thực hiện kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh sau khi được cấp có thẩm quyền phê duyệt, cho phép và sử dụng thuốc, thiết bị y tế được cấp phép theo quy định hiện hành.

e) Trong quá trình triển khai áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, nếu có các bất cập hoặc nhu cầu cần sửa đổi, bổ sung, cập nhật…, các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chủ động cập nhật và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, đồng thời báo cáo, đề xuất Bộ Y tế (Cục Quản lý Khám, chữa bệnh) để xem xét ban hành áp dụng trong cả nước.

MỤC LỤC

1. ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY TỔNG TRỞ 47
2. ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY LASER 50
3. ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG HỆ THỐNG MÁY KẾT NỐI NHUỘM TỰ ĐỘNG 53
4. XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI BẰNG MÁY 56
5. XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI THỦ CÔNG 59
6. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG MÁY TỔNG TRỞ 62
7. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG MÁY LASER 66
8. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG HỆ THỐNG MÁY KẾT NỐI NHUỘM TỰ ĐỘNG 70
9. TẬP TRUNG BẠCH CẦU 73
10. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TỦY XƯƠNG 76
11. XÉT NGHIỆM HÓA HỌC TẾ BÀO TỦY XƯƠNG 80
12. PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU/ TUỶ TRÊN TIÊU BẢN NHUỘM GIEMSA BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG 85
13. XÉT NGHIỆM MÔ BỆNH HỌC TỦY XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HEMATOXYLIN EOSIN 88
14. XÉT NGHIỆM HÓA MÔ MIỄN DỊCH TỦY XƯƠNG TRÊN MÁY NHUỘM TỰ ĐỘNG 92
15. TÌM HỒNG CẦU CÓ CHẤM ƯA BAZƠ 96
16. TÌM MẢNH VỠ HỒNG CẦU 99
17. TÌM TẾ BÀO HARGRAVES 102
18. CHỤP ẢNH MÀU TẾ BÀO QUA KÍNH HIỂN VI 106
19. XÉT NGHIỆM MÁU LẮNG BẰNG MÁY BÁN TỰ ĐỘNG (GIỜ 1, GIỜ 2) 108
20. XÉT NGHIỆM MÁU LẮNG BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG (GIỜ 1) 111
21. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU BẰNG MÁY 114
22. XÉT NGHIỆM CẶN ADDIS 117
23. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC DỊCH (NÃO TỦY, MÀNG TIM, MÀNG PHỔI, MÀNG BỤNG, DỊCH KHỚP, RỬA PHẾ QUẢN…) BẰNG MÁY 120
24. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU CHẢY BẰNG PHƯƠNG PHÁP DUKE 124
25. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU CHẢY BẰNG PHƯƠNG PHÁP IVY 126

26. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN PROTHROMBIN (PT: Prothrombin Time hoặc Thời gian Quick) BẰNG MÁY 128
27. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN THROMBIN (TT: THROMBIN TIME) 132
28. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN THROMBOPLASTIN MỘT PHẦN HOẠT HOÁ (APTT: Activated Partial Thromboplastin Time) BẰNG MÁY 136
29. XÉT NGHIỆM NGHIỆM PHÁP VON - KAULLA (VON KAULLA TEST) 140
30. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN PLASMINOGEN 144
31. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PLASMINOGEN 148
32. ĐỊNH LƯỢNG ANTI Xa VỚI THUỐC KHÁNG Xa TRỰC TIẾP 152
33. ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC 156
34. ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG 160
35. BÁN ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER BẰNG NGƯNG KẾT LATEX 164
36. BÁN ĐỊNH LƯỢNG FDP BẰNG NGƯNG KẾT LATEX 168
37. ĐỊNH LƯỢNG FDP 172
38. ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN PHƯƠNG PHÁP TRỰC TIẾP BẰNG MÁY (CLAUSS) 175
39. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH ANTITHROMBIN 179
(AT ACTIVITY) 179
40. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH CHẤT ỨC CHẾ HOẠT HÓA PLASMINOGEN 1 (PAI-1) 183
41. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH MEN ADAMTS13 (A DISINTERIN AND METALLOPROTEINASE WITH THROMBOSPONDIN 1 MEMBER 13) 187
42. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN MEN ADAMTS13 (A DISINTERIN AND METALLOPROTEINASE WITH THROMBOSPONDIN 1 MEMBER 13 ANTIGEN) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ELISA 191
43. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PROTEIN C (PROTEIN C ACTIVITY) 195
44. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PROTEIN S TỰ DO (FREE PS ACTIVITY) 199
45. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH t-PA (Tissue Plasminogen activator) 203
46. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG 206
47. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC 210
48. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC 214

49. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG 218
50. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN YẾU TỐ XIII 222
51. ĐỊNH TÍNH YẾU TỐ XIII 226
52. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ CHẤT ỨC CHẾ YẾU TỐ IX 229
53. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ CHẤT ỨC CHẾ YẾU TỐ VIII 234
54. ĐỊNH LƯỢNG PHỨC HỆ FIBRIN MONOMER HÒA TAN (SOLUBLE FIBRIN MONOMER COMPLEX TEST: SFMc TEST) 239
55. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ ĐÔNG MÁU NGOẠI SINH (V HOẶC VII HOẶC X) 243
56. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ ĐÔNG MÁU NỘI SINH (VIII HOẶC IX HOẶC XI) .. 247
57. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ XII 251
58. ĐỊNH LƯỢNG α2 ANTIPLASMIN 255
59. ĐO ĐỘ ĐÀN HỒI CỤC MÁU (TEG –thromboElastoGraphy) THÔNG THƯỜNG HOẶC TRUNG HÒA HEPARIN (TEG – HEPARINASE) HOẶC ỨC CHẾ TIỂU CẦU (TEG-PLATELET BLOCKER) HOẶC ỨC CHẾ TIÊU SỢI HUYẾT (TEG – ANTIFIBRINOLYTIC DRUG) 258
60. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP ADP HOẶC COLLAGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG HỌC 262
61. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP RISTOCETIN/EPINEPHRIN/A. ARACHIDONIC/THROMBIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG HỌC 266
62. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP ADP HOẶC COLLAGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP TRỞ KHÁNG 270
63. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP RISTOCETIN/EPINEPHRIN/ACIDE ARACHIDONIC/THROMBIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP TRỞ KHÁNG 274
64. ĐO ĐỘ QUÁNH MÁU/HUYẾT TƯƠNG (WHOLE BLOOD/PLASMA VISCOSITY TEST) 278
65. NGHIỆM PHÁP RƯỢU (ETHANOL TEST) 281
66. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM – Rotation thromboElastometry) NỘI SINH (INTEM) HOẶC NGOẠI SINH (EXTEM) HOẶC ĐƯỜNG CHUNG (NATEM) 285
67. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM: ROTATION THROMBOELASTOMETRY) ỨC CHẾ TIỂU CẦU (FIBTEM) 290

68. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM: ROTATION THROMBOELASTOMETRY) ỨC CHẾ TIÊU SỢI HUYẾT (APTEM) 294
69. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM: ROTATION THROMBOELASTOMETRY) ỨC CHẾ HEPARIN (HEPTEM) 298
70. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU ĐƯỜNG CHUNG 302
71. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU NGOẠI SINH 306
72. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU NỘI SINH KHÔNG PHỤ THUỘC THỜI GIAN VÀ NHIỆT ĐỘ 310
73. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU NỘI SINH PHỤ THUỘC THỜI GIAN VÀ NHIỆT ĐỘ 314
74. XÉT NGHIỆM CO CỤC MÁU ĐÔNG 318
75. XÉT NGHIỆM KHÁNG PROTEIN C HOẠT HÓA 321
76. XÉT NGHIỆM PFA (PLATELET FUNCTION ANALYSER) VỚI COLLAGEN/EPINEPHRINE TRÊN MÁY TỰ ĐỘNG 325
77. XÉT NGHIỆM PFA (PLATELET FUNCTION ANALYSER) VỚI COLLAGEN/ADP TRÊN MÁY TỰ ĐỘNG 328
78. XÉT NGHIỆM PFA (PLATELET FUNCTION ANALYSER) VỚI P2Y TRÊN MÁY TỰ ĐỘNG 331
79. XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN GIẢM TIỂU CẦU DO HEPARIN Ab HOẶC IgG (HEPARIN INDUCED THROMBOCYTOPENIA – HIT) BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG 334
80. XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN GIẢM TIỂU CẦU DO HEPARIN Ab HOẶC IgG (HEPARIN INDUCED THROMBOCYTOPENIA – HIT) BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC 338
81. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG PF4 TIỂU CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ MIỄN DỊCH 342
82. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG PF4 TIỂU CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP ELISA 345
83. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ ĐÔNG MÁU NGOẠI SINH II 349
84. XÉT NGHIỆM KHÁNG ĐÔNG LUPUS (LA: LUPUS ANTICOAGULANT) 353
85. ĐỊNH LƯỢNG ANTI Xa VỚI HEPARIN 357
86. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN ANTITHROMBIN (AT ANTIGEN) 361
87. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN PROTEIN S TỰ DO (FREE PS ANTIGEN) 365
88. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN t-PA (Tissue Plasminogen activator) 369
89. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ CHẤT ỨC CHẾ YẾU TỐ V 373

90. NGHIỆM PHÁP PROTAMIN SULFATE 377
91. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN REPTILASE 381
92. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG ECARIN (ECT: ECARIN CLOTTING TIME) 385
93. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH YẾU TỐ XIII 389
94. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL..... 393
95. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 397
96. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT PHIẾN ĐÁ HOẶC GIẤY TẠI PHÒNG XÉT NGHIỆM 401
97. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG THẺ ĐỊNH NHÓM MÁU TẠI PHÒNG XÉT NGHIỆM 405
98. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO, Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 409
99. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO, Rh(D) TRÊN HỆ THỐNG MÁY TỰ ĐỘNG HOÀN TOÀN 413
100. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH BẰNG GIẤY HOẶC PHIẾN ĐÁ TRƯỚC KHI TRUYỀN KHỐI HỒNG CẦU/ MÁU TOÀN PHẦN/ KHỐI BẠCH CẦU 417
101. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH BẰNG GIẤY HOẶC PHIẾN ĐÁ TRƯỚC KHI TRUYỀN TIỂU CẦU/ HUYẾT TƯƠNG/ TỦA LẠNH 421
102. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH TRÊN THẺ (ĐÃ CÓ SẴN HUYẾT THANH MẪU) TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU TOÀN PHẦN/ KHỐI HỒNG CẦU/ KHỐI BẠCH CẦU 425
103. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH TRÊN THẺ (ĐÃ CÓ SẴN HUYẾT THANH MẪU) TRƯỚC KHI TRUYỀN TIỂU CẦU/ HUYẾT TƯƠNG/ TỦA LẠNH 429
104. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 433
105. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT PHIẾN ĐÁ HOẶC GIẤY 437
106. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRONG TRƯỜNG HỢP KHÔNG XÁC ĐỊNH ĐƯỢC BẰNG PHƯƠNG PHÁP THÔNG THƯỜNG 441
107. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO, Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT HỒNG CẦU GẮN TỪ 447
108. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 451

109. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 456
110. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 461
111. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 466
112. XÁC ĐỊNH BẢN CHẤT KHÁNG THỂ KHÁNG HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 471
113. XÁC ĐỊNH BẢN CHẤT KHÁNG THỂ KHÁNG HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 475
114. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ MIỄN DỊCH CHỐNG KHÁNG NGUYÊN HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 479
115. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ MIỄN DỊCH CHỐNG KHÁNG NGUYÊN HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 483
116. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ TỰ NHIÊN CHỐNG A HOẶC CHỐNG B BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 487
117. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ TỰ NHIÊN CHỐNG A HOẶC CHỐNG B BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 491
118. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN NHÓM MÁU HỒNG CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC PHÂN TỬ 496
119. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN H BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 501
120. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN H BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 505
121. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN D YẾU CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 509
122. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN D YẾU CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 513
123. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN A_1 BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 517
124. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN A_1 BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 521
125. XÉT NGHIỆM LỰA CHỌN ĐƠN VỊ MÁU PHÙ HỢP BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL TRONG TRƯỜNG HỢP KHÔNG CẤP PHÁT ĐƯỢC BẰNG QUY TRÌNH THÔNG THƯỜNG 524

126. XÉT NGHIỆM LỰA CHỌN ĐƠN VỊ MÁU PHÙ HỢP BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM TRONG TRƯỜNG HỢP KHÔNG CẤP PHÁT ĐƯỢC BẰNG QUY TRÌNH THÔNG THƯỜNG 529
127. XÉT NGHIỆM COOMBS GIÁN TIẾP BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 534
128. XÉT NGHIỆM COOMBS GIÁN TIẾP BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 538
129. XÉT NGHIỆM COOMBS TRỰC TIẾP BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 542
130. XÉT NGHIỆM COOMBS TRỰC TIẾP BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 546
131. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH MÔI TRƯỜNG NƯỚC MUỐI SINH LÝ, NHIỆT ĐỘ DƯỚI 10ºC BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 550
132. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH MÔI TRƯỜNG NƯỚC MUỐI SINH LÝ, NHIỆT ĐỘ PHÒNG BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 555
133. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH MÔI TRƯỜNG NƯỚC MUỐI SINH LÝ, NHIỆT ĐỘ PHÒNG BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 560
134. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH Ở NHIỆT ĐỘ 37ºC VÀ CÓ SỬ DỤNG KHÁNG GLOBULIN NGƯỜI BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 565
135. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH Ở NHIỆT ĐỘ 37ºC VÀ CÓ SỬ DỤNG KHÁNG GLOBULIN NGƯỜI BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 569
136. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP TIỂU CẦU BẰNG KỸ THUẬT ELISA 573
137. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN C CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 577
138. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN c CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 581
139. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN E CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 585
140. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN e CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 589
141. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^a CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 593
142. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^b CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 597
143. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^a CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 601

144. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^b CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 605
145. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN K CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 609
146. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN k CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 613
147. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^a CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 617
148. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^b CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 621
149. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^a CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 625
150. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^b CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 629
151. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Mi^a CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 633
152. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN M CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 637
153. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN N CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 641
154. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 645
155. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN s CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 649
156. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN P_1 CỦA HỆ P1PK BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 653
157. XÁC ĐỊNH CÁC KHÁNG NGUYÊN KHÁC NGOÀI HỆ ABO, Rh(D) (C^w/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a…) BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 657
158. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN C CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 661
159. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN c CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 665
160. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN E CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 669

161. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN e CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 673
162. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^a CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 677
163. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^b CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 681
164. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^a CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 685
165. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^b CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 689
166. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN K CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 693
167. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN k CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 697
168. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^a CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 701
169. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^b CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 705
170. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^a CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 709
171. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^b CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 713
172. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN M CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 717
173. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Mi^a CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 721
174. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN N CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 725
175. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 729
176. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN s CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 733
177. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN P_1 CỦA HỆ P1PK BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 737

178. XÁC ĐỊNH CÁC KHÁNG NGUYÊN KHÁC NGOÀI HỆ ABO, Rh(D) (C^w/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a…) BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 741
179. ĐỊNH LƯỢNG CD 25 (IL-2R) HOÀ TAN TRONG HUYẾT THANH BẰNG KỸ THUẬT ELISA 745
180. PHÂN TÍCH DẤU ẤN/CD/MARKER MIỄN DỊCH MÁU NGOẠI VI BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY (LÀM CHO 1 DẤU ẤN/CD/MARKER) 748
181. PHÂN TÍCH DẤU ẤN/CD/MARKER MIỄN DỊCH TỦY XƯƠNG, DỊCH KHÁC, MÔ VÀ TỔ CHỨC BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY (LÀM CHO 1 DẤU ẤN/CD/MARKER) 752
182. XÁC ĐỊNH CÁC TẾ BÀO MIỄN DỊCH LYMPHO T, LYMPHO B, NK BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 756
183. XÁC ĐỊNH DẤU ẤN MIỄN DỊCH TRÊN HỒNG CẦU ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH LÝ ĐÁI HUYẾT SẮC TỐ KỊCH PHÁT BAN ĐÊM BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY (CD55, CD59 CD14….) 759
184. XÁC ĐỊNH DẤU ẤN MIỄN DỊCH TRÊN BẠCH CẦU ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH LÝ ĐÁI HUYẾT SẮC TỐ KỊCH PHÁT BAN ĐÊM BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY (CD55, CD59 CD14, CD15, CD64, FLAER….) 762
185. ĐẾM SỐ LƯỢNG TẾ BÀO NK BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 765
186. XÁC ĐỊNH TỒN LƯU TỐI THIỂU (MRD) DẤU ẤN MIỄN DỊCH TẾ BÀO BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 768
187. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU TRỰC TIẾP VÀ GIÁN TIẾP BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 772
188. ĐỊNH LƯỢNG GLYCOPROTEIN TIỂU CẦU (CD41, CD61, CD42a, CD42b, …) BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY 776
189. XÉT NGHIỆM KHÁNG THỂ KHÁNG BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 779
190. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI CỐ ĐỊNH MIỄN DỊCH HUYẾT THANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI GEL THẠCH/MÀNG CELLULOSE ACETATE 783
191. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI MIỄN DỊCH HUYẾT THANH TRÊN MÁY ĐIỆN DI MAO QUẢN 786
192. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI PROTEIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP MAO QUẢN 789
193. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI CỐ ĐỊNH PROTEIN HUYẾT THANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI GEL THẠCH/MÀNG CELLULOSE ACETATE 792
194. XÉT NGHIỆM HLA-B27 BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY 795

195. XÉT NGHIỆM PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HUYẾT SẮC TỐ BẰNG PHƯƠNG PHÁP MAO QUẢN 798
196. XÉT NGHIỆM PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HUYẾT SẮC TỐ BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC 802
197. ĐẾM SỐ LƯỢNG TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU CD34+ BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 806
198. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ KHÁNG HLA BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX 811
199. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG HLA VỚI PANEL PHẢN ỨNG (PRA) BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX 817
200. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ KHÁNG HLA BẰNG KỸ THUẬT ELISA 823
201. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG HLA BẰNG KỸ THUẬT ELISA 827
202. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP CHÉO (CROSS-MATCH) TẾ BÀO LYMPHO BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 831
203. BẤT HOẠT TÁC NHÂN GÂY BỆNH TRONG ĐƠN VỊ MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU 836
204. ĐIỀU CHẾ HUYẾT TƯƠNG TƯƠI ĐÔNG LẠNH 839
205. ĐIỀU CHẾ HUYẾT TƯƠNG ĐÔNG LẠNH 843
206. ĐIỀU CHẾ HUYẾT TƯƠNG CÔ ĐẶC ĐÔNG LẠNH 846
207. ĐIỀU CHẾ KHỐI BẠCH CẦU HẠT POOL 849
208. ĐIỀU CHẾ KHỐI HỒNG CẦU CÓ DUNG DỊCH BẢO QUẢN TỪ MÁU TOÀN PHẦN 852
209. RỬA HỒNG CẦU, TIỂU CẦU BẰNG MÁY LY TÂM 857
210. RỬA HỒNG CẦU, TIỂU CẦU BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG 860
211. LỌC BẠCH CẦU TRONG KHỐI HỒNG CẦU, KHỐI TIỂU CẦU 863
212. ĐIỀU CHẾ KHỐI HỒNG CẦU ĐÔNG LẠNH 866
213. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU ĐƠN 870
214. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU POOL 873
215. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU POOL LỌC BẠCH CẦU 876
216. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU LỌC BẠCH CẦU CÓ BỔ SUNG DUNG DỊCH BẢO QUẢN TIỂU CẦU 879
217. ĐIỀU CHẾ TỦA LẠNH 882
218. HOÀN NGUYÊN MÁU TOÀN PHẦN 885
219. ĐIỀU CHẾ MÁU TOÀN PHẦN LỌC BẠCH CẦU 890
220. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU ĐÔNG LẠNH 893

221. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC ANTI-HBc ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HOÁ PHÁT QUANG 896
222. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC GIANG MAI ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT RPR 900
223. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC GIANG MAI ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT HỒNG CẦU/VI HẠT THỤ ĐỘNG 904
224. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HBV ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG 908
225. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HCV ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG 912
226. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG 916
227. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HUYẾT THANH HỌC CMV-IGM ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG 920
228. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE 924
229. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC PHỐI HỢP HIV, HBV, HCV BẰNG KỸ THUẬT NAT ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU 928
230. XÉT NGHIỆM TRƯỚC HIẾN MÁU 934
231. LẤY MÁU TOÀN PHẦN TỪ NGƯỜI HIẾN MÁU 937
232. CHIẾU XẠ MÁU TOÀN PHẦN VÀ CÁC THÀNH PHẦN MÁU 941
233. GẠN TÁCH THÀNH PHẦN MÁU TỪ MỘT NGƯỜI HIẾN MÁU BẰNG MÁY TÁCH TẾ BÀO TỰ ĐỘNG 945

PHỤ LỤC

DANH MỤC KỸ THUẬT

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
7936	3	22.51	Định lượng anti Xa với thuốc kháng Xa trực tiếp	Định lượng Anti Xa
7937	4	22.23	Định lượng D-Dimer bằng kỹ thuật miễn dịch đo độ đục	Định lượng D-Dimer
7938	5	22.570	Định lượng D-Dimer bằng kỹ thuật miễn dịch hóa phát quang	Định lượng D-Dimer bằng kỹ thuật miễn dịch hóa phát quang
7939	6	22.43	Định lượng FDP	Định lượng FDP
7940	7	22.13; 22.14	Định lượng Fibrinogen phương pháp trực tiếp bằng máy (Clauss)	Định lượng Fibrinogen (tên khác: Định lượng yếu tố I), phương pháp Clauss- phương pháp trực tiếp, bằng máy tự động; Định lượng Fibrinogen (tên khác: Định lượng yếu tố I), phương pháp Clauss- phương pháp trực tiếp, bằng máy bán tự động
7941	8	22.59; 22.566	Định lượng hoạt tính antithrombin (AT activity)	Định lượng chất ức chế hoạt hóa Plasmin (PAI: Plasmin Activated Inhibitor); Định lượng hoạt tính antithrombin/antithrombinIII (AT activity/ATIII activity)
7942	9	22.59; 22.568	Định lượng hoạt tính chất ức chế hoạt hóa Plasminogen 1 (PAI-1)	Định lượng chất ức chế hoạt hóa Plasmin (PAI: Plasmin Activated Inhibitor); Định lượng chất ức chế hoạt hóa Plasmin 2 (PAI-2)
7943	10	22.72; 22.599	Định lượng hoạt tính enzyme ADAM TS 13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSprondin1 Member 13 Activity)	Định lượng men ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin1 member 13); Định lượng hoạt tính men ADAM TS 13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombo Sprondin1 Member 13 Activity)
7944	11	22.58	Định lượng hoạt tính Plasminogen	Định lượng Plasminogen
7945	12	22.47	Định lượng hoạt tính Protein C (Protein C Activity)	Định lượng hoạt tính Protein C (Protein Activity)
7946	13	22.48; 22.582	Định lượng hoạt tính Protein S tự do (free PS activity)	Định lượng Protein S tự do; Định lượng hoạt tính Protein S (PS activity)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
7947	14	22.66	Định lượng hoạt tính t-pA (tissue - Plasminogen Activator)	Định lượng t-pA (tissue - Plasminogen Activator)
7948	15	22.581	Định lượng hoạt tính yếu tố von Willebrand bằng kỹ thuật miễn dịch hóa phát quang	Định lượng hoạt tính yếu tố von Willebrand (đồng yếu tố Ristocetin) bằng kỹ thuật hóa miễn dịch phát quang
7949	16	22.32	Định lượng hoạt tính yếu tố von Willebrand (VWF Activity) bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục	Định lượng hoạt tính yếu tố Von Willebrand (VWF Activity) (tên khác: định lượng hoạt tính đồng yếu tố Ristocetin: VIII: R co)
7952	19	22.72; 22.598	Định lượng kháng nguyên enzyme ADAM TS 13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSprondin1 Member 13 Antigen) bằng phương pháp ELISA	Định lượng men ADAMTS13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin1 member 13); Định lượng kháng nguyên men ADAM TS 13 (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombo Sprondin1 Member 13 Antigen)
7953	20	22.58	Định lượng kháng nguyên Plasminogen	Định lượng Plasminogen
7954	21	22.31	Định lượng kháng nguyên yếu tố von Willebrand (VWF Antigen) bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục	Định lượng kháng nguyên yếu tố Von Willebrand (VWF Antigen)
7955	22	22.569	Định lượng kháng nguyên yếu tố von Willebrand (vWF:Ag) bằng kỹ thuật miễn dịch hóa phát quang	Định lượng kháng nguyên yếu tố Von Willerbrand (vWf:Ag) bằng kỹ thuật miễn dịch hóa phát quang
7956	23	22.34	Định lượng kháng nguyên yếu tố XIII	Định lượng yếu tố XIII (tên khác: Định lượng yếu tố ổn định sợi huyết)
7957	24	22.38	Định lượng nồng độ chất ức chế yếu tố IX	Định lượng ức chế yếu tố IX
7958	25	22.37	Định lượng nồng độ chất ức chế yếu tố VIIIc	Định lượng ức chế yếu tố VIIIc
7959	26	22.40	Định lượng phức hệ fibrin monomer hoà tan (Soluble Fibrin monomer complex test: SFMc test)	Định lượng phức hệ fibrin monome hoà tan (Fibrin Soluble Test), (tên khác: FS Test; FSM Test)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
7961	28	22.30	Định lượng yếu tố đông máu ngoại sinh (V hoặc VII hoặc X)	Định lượng yếu tố đông máu ngoại sinh II, V,VII, X
7962	29	22.29	Định lượng yếu tố đông máu nội sinh (VIIIc hoặc IX hoặc XI)	Định lượng yếu tố đông máu nội sinh VIIIc, IX, XI
7964	31	22.33	Định lượng yếu tố XII	Định lượng yếu tố XII
7965	32	22.67	Định lượng α2 antiplasmin	Định lượng α2 antiplasmin
7966	33	22.35	Định tính yếu tố XIII	Định tính yếu tố XIII (tên khác: Định tính yếu tố ổn định sợi huyết)
7967	34	22.54; 22.590; 22.591; 22.592	Đo độ đàn hồi cục máu (TEG: Thrombo Elasto Graphy) thông thường hoặc trung hòa heparin (TEG-heparinase) hoặc ức chế tiểu cầu (TEG-Platelet blocker) hoặc ức chế tiêu sợi huyết (TEG-Antifibrinolytic drug)	Đàn hồi đồ cục máu (TEG: Thrombo Elasto Graphy); Đo độ đàn hồi cục máu (TEG: ThromboElastoGraph) trung hòa heparin (TEG- Heparinase); Đàn hồi đồ cục máu (TEG: ThromboElastoGraph) ức chế tiểu cầu (TEG- Platelet blocker); Đàn hồi đồ cục máu (TEG: ThromboElastoGraph) ức chế tiêu sợi huyết (TEG- Antifibrinolytic drug)
7968	35	22.41	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với chất kích tập ADP hoặc Collagen bằng phương pháp quang học	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với ADP/Collagen/Acid Arachidonic/Thrombin/Epinephrin
7969	36	22.42	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với chất kích tập Ristocetin hoặc Thrombin hoặc A.Arachidonic hoặc Epinephrine bằng phương pháp quang học	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với Ristocetin
7970	37	22.596; 22.597	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với chất kích tập ADP hoặc Collagen bằng phương pháp trở kháng	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với ADP bằng phương pháp trở kháng; Đo độ ngưng tập tiểu cầu với Collagen bằng phương pháp trở kháng
7971	38	22.593; 22.594; 22.595	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với chất kích tập Ristocetin hoặc Thrombin hoặc A.Arachidonic hoặc	Đo độ ngưng tập tiểu cầu với Ristocetin bằng phương pháp trở kháng; Đo độ ngưng tập tiểu cầu với Thrombin bằng phương pháp trở kháng; Đo độ ngưng tập tiểu

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
			Epinephrine bằng phương pháp trở kháng	cầu với Acid Arachidonic bằng phương pháp trở kháng
7972	39	22.39; 22.78	Đo độ quánh máu toàn phần hoặc huyết tương hoặc dịch khác	Đo độ nhớt (độ quánh) máu toàn phần/huyết tương/dịch khác; Đo độ quánh máu toàn phần, huyết tương
7973	40	22.15	Nghiệm pháp rượu (Ethanol test)	Nghiệm pháp rượu (Ethanol test)
7974	41	22.585; 22.586	Phân tích động học cục đông (ROTEM- Rotation ThromboElastoMetry) nội sinh (INTEM) hoặc ngoại sinh (EXTEM) hoặc đường chung (NATEM)	Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM: Rotation ThromboElastoMetry) nội sinh (ROTEM-INTEM); Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM: Rotation ThromboElastoMetry) ngoại sinh (ROTEM-EXTEM)
7975	42	22.587	Phân tích động học cục đông (ROTEM- Rotation ThromboElastoMetry) ức chế tiểu cầu (FIBTEM)	Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM: Rotation ThromboElastoMetry) ức chế tiểu cầu (ROTEM-FIBTEM)
7976	43	22.588	Phân tích động học cục đông (ROTEM- Rotation ThromboElastoMetry) ức chế tiêu sợi huyết (APTEM)	Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM: Rotation ThromboElastoMetry) ức chế tiêu sợi huyết (ROTEM-APTEM)
7977	44	22.589	Phân tích động học cục đông (ROTEM - Rotation ThromboElastoMetry) ức chế heparin (HEPTEM)	Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM: Rotation ThromboElastoMetry) trung hòa heparin (ROTEM-HEPTEM)
7978	45	22.28; 22.571; 22.572	Phát hiện chất ức chế đông máu đường chung	Phát hiện kháng đông đường chung; Phát hiện chất ức chế phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu chung; Phát hiện chất ức chế không phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu chung
7979	46	22.27; 22.573; 22.574	Phát hiện chất ức chế đông máu ngoại sinh	Phát hiện kháng đông ngoại sinh; Phát hiện chất ức chế phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu ngoại sinh; Phát hiện chất ức chế không phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu ngoại sinh
7980	47	22.26; 22.576	Phát hiện chất ức chế đông máu nội sinh không	Phát hiện kháng đông nội sinh (tên khác: Mix test); Phát hiện chất ức chế không phụ thuộc thời

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
			phụ thuộc thời gian và nhiệt độ	gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh
7981	48	22.74; 22.575	Phát hiện chất ức chế đông máu nội sinh phụ thuộc thời gian và nhiệt độ	Phát hiện chất ức chế đông máu có phụ thuộc thời gian, nhiệt độ; Phát hiện chất ức chế phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh
7982	49	22.21	Xét nghiệm co cục máu đông (co cục máu)	Co cục máu đông (tên khác: Co cục máu)
7985	52	22.603	Xét nghiệm kháng Protein C hoạt hóa	Xét nghiệm kháng Protein C hoạt hóa
7986	53	22.60	Xét nghiệm PFA (Platelet Funtion Analyzer) với collagen/ Epinephrine trên máy tự động	Xét nghiệm PFA (Platelet Funtion Analyzer) bằng Collagen/Epinephrine trên máy tự động (tên khác: PFA bằng Col/Epi)
7987	54	22.61	Xét nghiệm PFA (Platelet Funtion Analyzer) với collagen/ADP trên máy tự động	Xét nghiệm PFA (Platelet Funtion Analyzer) bằng Collagen/ADP trên máy tự động (tên khác: PFA bằng Col/ADP)
7988	55	22.62	Xét nghiệm PFA (Platelet Funtion Analyzer) với P2Y trên máy tự động	Xét nghiệm PFA (Platelet Funtion Analyzer) bằng P2Y trên máy tự động (tên khác: PFA bằng P2Y)
7989	56	22.63; 22.64	Phát hiện giảm tiểu cầu do Heparin Ab hoặc IgG (Heparin Induced Thrombocytopenia - HIT) bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang	Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia) - Ab; Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia)- IgG
7990	57	22.63; 22.64	Phát hiện giảm tiểu cầu do Heparin Ab hoặc IgG (Heparin Induced Thrombocytopenia - HIT) bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục	Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia) - Ab; Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia)- IgG
7991	58	22.63; 22.64	Phát hiện kháng thể kháng PF4 tiểu cầu bằng phương pháp sắc ký miễn dịch	Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia) - Ab; Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia)- IgG
7993	60	22.19	Xét nghiệm thời gian máu chảy bằng phương pháp Duke	Thời gian máu chảy phương pháp Duke

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
7994	61	22.20	Xét nghiệm thời gian máu chảy bằng phương pháp Ivy	Thời gian máu chảy phương pháp Ivy
7995	62	22.1; 22.2	Xét nghiệm thời gian prothrombin (PT: Prothrombin Time hoặc thời gian Quick) bằng máy	Thời gian prothrombin (PT: Prothrombin Time), (Các tên khác: TQ; Tỷ lệ Prothrombin) bằng máy tự động; Thời gian prothrombin (PT: Prothrombin Time), (Các tên khác: TQ; Tỷ lệ Prothrombin) bằng máy bán tự động
7996	63	22.8; 22.9	Xét nghiệm thời gian thrombin (TT: Thrombin Time) bằng máy	Thời gian thrombin (TT: Thrombin Time) bằng máy tự động; Thời gian thrombin (TT: Thrombin Time) bằng máy bán tự động
7997	64	22.5; 22.6	Xét nghiệm thời gian thromboplastin một phần hoạt hoá (APTT: Activated Partial Thromboplastin Time) bằng máy	Thời gian thromboplastin một phần hoạt hóa (APTT: Activated Partial Thromboplastin Time), (tên khác: TCK) bằng máy tự động; Thời gian thromboplastin một phần hoạt hóa (APTT: Activated Partial Thromboplastin Time) (tên khác: TCK) bằng máy bán tự động
7998	65	22.17	Xét nghiệm Von-Kaulla	Nghiệm pháp Von-Kaulla
7999	66	22.157; 22.158	Chụp ảnh màu tế bào qua kính hiển vi	Chụp ảnh màu tế bào qua kính hiển vi; Chụp ảnh màu tế bào qua kính hiển vi in trên đĩa CD
8001	68	22.118	Phân tich tế báo máu/tủy trên tiêu bản nhuộm Giemsa bằng phương pháp thủ công	Dàn tiêu bản máu ngoại vi (Phết máu ngoại vi)
8002	69	22.122	Đếm tế bào máu ngoại vi bằng hệ thống máy kết nối nhuộm tự động	Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi bằng hệ thống tự động hoàn toàn (có nhuộm tiêu bản tự động)
8003	70	22.121	Đếm tế bào máu ngoại vi bằng máy laser từ 32 thông số trở lên	Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi (bằng máy đếm laser)
8004	71	22.121	Đếm tế bào máu ngoại vi bằng máy laser dưới 32 thông số	Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi (bằng máy đếm laser)
8005	72	22.120	Đếm tế bào máu ngoại vi bằng máy tổng trở	Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi (bằng máy đếm tổng trở)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8006	73	22.141	Tập trung bạch cầu	Tập trung bạch cầu
8007	74	22.137	Tìm hồng cầu có chấm ưa bazơ	Tìm hồng cầu có chấm ưa bazơ
8008	75	22.136	Tìm mảnh vỡ hồng cầu	Tìm mảnh vỡ hồng cầu
8009	76	22.144	Tìm tế bào Hargraves	Tìm tế bào Hargraves
8011	78	22.151	Xét nghiệm cặn Addis	Cặn Addis
8013	80	22.147; 22.615	Xét nghiệm hóa mô miễn dịch tủy xương trên máy nhuộm tự động	Nhuộm hóa mô miễn dịch tủy xương; Xét nghiệm và chẩn đoán hóa mô miễn dịch tủy xương cho một dấu ấn (Marker) trên máy nhuộm tự động
8015	82	22.148; 22.607; 22.608; 22.609; 22.610; 22.611; 22.612; 22.613; 22.614; 22.693	Xét nghiệm hóa học tế bào tủy xương	Nhuộm hóa học tế bào tủy xương (gồm nhiều phương pháp); Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm hồng cầu sắt (Nhuộm Perls); Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Peroxydase (MPO: Myeloperoxydase); Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Sudan đen; Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Periodic Acide Schiff (PAS); Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Esterase không đặc hiệu; Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Esterase đặc hiệu; Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Phosphatase acid; Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Phosphatase kiềm bạch cầu; Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp nhuộm Esterase không đặc hiệu có ức chế bằng NaF
8016	83	22.135	Xét nghiệm hồng cầu lưới bằng máy	Xét nghiệm hồng cầu lưới (bằng máy đếm laser)
8017	84	22.134	Xét nghiệm hồng cầu lưới thủ công	Xét nghiệm hồng cầu lưới (bằng phương pháp thủ công)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8018	85	22.605	Xét nghiệm huyết đồ bằng hệ thống máy kết nối nhuộm tự động	Huyết đồ (bằng hệ thống tự động hoàn toàn)
8019	86	22.125	Xét nghiệm huyết đồ bằng máy từ 32 thông số trở lên	Huyết đồ (bằng máy đếm laser)
8020	87	22.125	Xét nghiệm huyết đồ bằng máy dưới 32 thông số	Huyết đồ (bằng máy đếm laser)
8021	88	22.124	Xét nghiệm huyết đồ bằng máy tổng trở	Huyết đồ (bằng máy đếm tổng trở)
8022	89	22.143	Xét nghiệm máu lắng bằng máy bán tự động (giờ 1, giờ 2)	Máu lắng (bằng máy tự động)
8023	90	22.143	Xét nghiệm máu lắng bằng máy tự động (giờ 1)	Máu lắng (bằng máy tự động)
8025	92	22.133; 22.616	Xét nghiệm mô bệnh học tủy xương bằng phương pháp Hematoxylin Eosin	Xét nghiệm mô bệnh học tủy xương (không bao gồm thủ thuật sinh thiết tủy xương); Xét nghiệm và chẩn đoán mô bệnh học tủy xương trên máy nhuộm tự động
8026	93	22.150	Xét nghiệm tế bào nước tiểu bằng máy	Xét nghiệm tế bào trong nước tiểu (bằng máy tự động)
8028	95	22.153; 22.154	Xét nghiệm tế bào trong nước dịch (não tủy, màng tim, màng phổi, màng bụng, dịch khớp, rửa phế quản…) bằng máy	Xét nghiệm tế bào trong nước dịch chẩn đoán tế bào học (não tủy, màng tim, màng phổi, màng bụng, dịch khớp, rửa phế quản…) bằng máy phân tích huyết học tự động; Xét nghiệm các loại dịch, nhuộm và chẩn đoán tế bào học
8029	96	22.129	Xét nghiệm tế bào tủy xương	Xét nghiệm tế bào học tủy xương (không bao gồm thủ thuật chọc hút tủy)
8033	100	22.331; 22.345	Đếm số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+ bằng kỹ thuật flow cytometry	Đếm số lượng tế bào gốc (stem cell, CD34); Đếm số lượng tế bào gốc tạo máu trên máy Flow-cytometry
8035	102	22.636	Định danh kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA	Định danh kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA
8038	105	22.635	Định danh kháng thể kháng HLA với panel phản ứng (PRA) bằng kỹ thuật Luminex	Định danh kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật luminex

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8039	106	22.631	Định lượng CD25 (IL-2R) hòa tan trong huyết thanh	Định lượng CD25 (IL-2R) hòa tan trong huyết thanh bằng kỹ thuật ELISA
8040	107	22.333; 22.334; 22.336; 22.337; 22.340; 22.627; 22.628	Phân tích dấu ấn/CD/Marker miễn dịch máu ngoại vi bằng kỹ thuật Flow Cytometry (làm cho một dấu ấn /CD/Marker)	Phân loại miễn dịch bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm chẩn đoán bệnh Bạch cầu cấp bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm chẩn đoán bệnh tăng sinh ác tính dòng lympho bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm chẩn đoán bệnh lý Plasmocyte bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Đánh giá tiên lượng bệnh rối loạn sinh tủy bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Phân tích dấu ấn/CD/marker miễn dịch máu ngoại vi, hoặc dịch khác bằng kỹ thuật flow cytometry; Phân tích dấu ấn/CD/marker miễn dịch mẫu tủy xương, hoặc mẫu hạch, hoặc mẫu tổ chức khác bằng kỹ thuật flow cytometry
8041	108	22.333; 22.334; 22.336; 22.337; 22.340; 22.627; 22.628	Phân tích dấu ấn/CD/Marker miễn dịch tuỷ xương, dịch khác, mô và tổ chức bằng kỹ thuật Flow Cytometry (làm cho một dấu ấn /CD/Marker)	Phân loại miễn dịch bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm chẩn đoán bệnh Bạch cầu cấp bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm chẩn đoán bệnh tăng sinh ác tính dòng lympho bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm chẩn đoán bệnh lý Plasmocyte bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Đánh giá tiên lượng bệnh rối loạn sinh tủy bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Phân tích dấu ấn/CD/marker miễn dịch máu ngoại vi, hoặc dịch khác bằng kỹ thuật flow cytometry; Phân tích dấu ấn/CD/marker miễn dịch mẫu tủy xương, hoặc mẫu hạch, hoặc mẫu tổ chức khác bằng kỹ thuật flow cytometry
8042	109	22.338	Xác định các tế bào miễn dịch Lympho T, Lympho B, NK bằng kỹ thuật Flow cytometry	Phân tích quần thể lympho bằng kỹ thuật dấu ấn miễn dịch (DAMD)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8043	110	22.343; 22.346	Xác định dấu ấn miễn dịch trên bạch cầu để chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm bằng kỹ thuật Flow cytometry (CD55,CD59,CD14…)	Xét nghiệm CD55/59 bạch cầu (chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố niệu kịch phát ban đêm); Xét nghiệm FLAER (chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố niệu kịch phát ban đêm)
8044	111	22.344; 22.346	Xác định dấu ấn miễn dịch trên hồng cầu để chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm bằng kỹ thuật Flow cytometry (CD55,CD59,CD14…)	Xét nghiệm CD55/59 hồng cầu (chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố niệu kịch phát ban đêm); Xét nghiệm FLAER (chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố niệu kịch phát ban đêm)
8045	112	22.355	Đếm số lượng tế bào NK bằng kỹ thuật Flow cytometry	Đếm số lượng tế bào NK (Nature killer)
8046	113	22.335; 22.632	Xác định tồn dư tối thiểu (MRD) bằng dấu ấn miễn dịch tế bào, kỹ thuật Flow cytometry	Đánh giá tồn lưu tế bào ác tính bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm tồn dư tối thiểu của bệnh máu ác tính bằng phương pháp Flow-cytometry
8047	114	22.329; 22.358; 22.359	Phát hiện kháng thể kháng tiểu cầu (trực tiếp và gián tiếp) bằng kỹ thuật Flow cytometry	Phát hiện kháng thể kháng tiểu cầu bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm xác định kháng thể kháng tiểu cầu trực tiếp; Xét nghiệm xác định kháng thể kháng tiểu cầu gián tiếp
8048	115	22.333	Định lượng glycoprotein tiểu cầu (CD tiểu cầu: CD41, CD61, CD42a, CD42b...)	Phân loại miễn dịch bằng kỹ thuật Flow-cytometry
8049	116	22.329; 22.358; 22.359	Phát hiện kháng thể kháng bạch cầu bằng kỹ thuật Flow cytometry	Phát hiện kháng thể kháng tiểu cầu bằng kỹ thuật Flow-cytometry; Xét nghiệm xác định kháng thể kháng tiểu cầu trực tiếp; Xét nghiệm xác định kháng thể kháng tiểu cầu gián tiếp
8050	117	22.356	Sàng lọc kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA	Xét nghiệm PRA (panel reactive anti-body) bằng kỹ thuật ELISA
8051	118	22.635	Sàng lọc kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật Luminex	Định danh kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật luminex

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8052	119	22.351	Xét nghiệm điện di cố định miễn dịch huyết thanh phương pháp điện di gel thạch/màng cellulose acetate	Điện di miễn dịch huyết thanh
8053	120	22.351	Xét nghiệm điện di miễn dịch huyết thanh phương pháp điện di mao quản	Điện di miễn dịch huyết thanh
8054	121	22.353	Xét nghiệm điện di protein huyết thanh phương pháp điện di điện di mao quản	Điện di protein huyết thanh
8055	122	22.353	Xét nghiệm điện di cố định protein huyết thanh phương pháp điện di gel thạch/màng cellulose acetate	Điện di protein huyết thanh
8056	123	22.330	Xét nghiệm HLA-B27 bằng kỹ thuật Flow cytometry	Xét nghiệm HLA-B27 bằng kỹ thuật Flow-cytometry
8057	124	22.332	Xét nghiệm hòa hợp chéo (cross-match) tế bào lympho bằng kỹ thuật Flow cytometry	Lympho cross match bằng kỹ thuật Flow-cytometry
8059	126	22.352	Xét nghiệm phân tích thành phần huyết sắc tố phương pháp điện di mao quản	Điện di huyết sắc tố
8060	127	22.352	Xét nghiệm phân tích thành phần huyết sắc tố phương pháp HPLC	Điện di huyết sắc tố
8061	128	22.257; 22.258	Định danh kháng thể bất thường bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Định danh kháng thể bất thường (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Định danh kháng thể bất thường (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8062	129	22.256	Định danh kháng thể bất thường bằng kỹ thuật ống nghiệm	Định danh kháng thể bất thường (kỹ thuật ống nghiệm)
8063	130	22.293	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) bằng kỹ thuật hồng cầu gắn từ	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) bằng công nghệ hồng cầu gắn từ

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8064	131	22.260; 22.261	Sàng lọc kháng thể bất thường bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Sàng lọc kháng thể bất thường (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Sàng lọc kháng thể bất thường (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8065	132	22.259	Sàng lọc kháng thể bất thường bằng kỹ thuật ống nghiệm	Sàng lọc kháng thể bất thường (kỹ thuật ống nghiệm)
8066	133	22.301	Xác định bản chất kháng thể kháng hồng cầu bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định bản chất kháng thể đặc hiệu (IgG, IgA, IgM, C3d, C3c (kỹ thuật ống nghiệm khi nghiệm pháp Coombs trực tiếp/gián tiếp dương tính)
8067	134	22.299; 22.300	Xác định bản chất kháng thể kháng hồng cầu bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định bản chất kháng thể đặc hiệu (IgG, IgA, IgM, C3d, C3c (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động khi nghiệm pháp Coombs trực tiếp/gián tiếp dương tính); Xác định bản chất kháng thể đặc hiệu (IgG, IgA, IgM, C3d, C3c (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động khi nghiệm pháp Coombs trực tiếp/gián tiếp dương tính)
8068	135	22.265	Xác định hiệu giá kháng thể miễn dịch chống kháng nguyên hồng cầu bằng kỹ thuật ống nghiệm	Hiệu giá kháng thể miễn dịch (kỹ thuật ống nghiệm)
8069	136	22.264	Xác định hiệu giá kháng thể miễn dịch chống kháng nguyên hồng cầu bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Hiệu giá kháng thể miễn dịch (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động)
8070	137	22.267	Xác định hiệu giá kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B bằng kỹ thuật ống nghiệm	Hiệu giá kháng thể tự nhiên chống A, B (kỹ thuật ống nghiệm)
8071	138	22.266	Xác định hiệu giá kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Hiệu giá kháng thể tự nhiên chống A, B (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động)
8072	139	22.314	Xác định kháng nguyên nhóm máu hồng cầu bằng	Xác định kháng nguyên nhóm máu hệ hồng cầu bằng phương

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
			phương pháp sinh học phân tử	pháp sinh học phân tử (giá cho một loại kháng nguyên)
8073	140	22.311	Xác định kháng nguyên H bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên H (kỹ thuật Scangel/Gelcard)
8074	141	22.310	Xác định kháng nguyên H bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên H (kỹ thuật ống nghiệm)
8075	142	22.296	Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard)
8076	143	22.295	Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh (kỹ thuật ống nghiệm)
8077	144	22.313	Xác định kháng nguyên A1 bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định nhóm máu A_1 (kỹ thuật Scangel/Gelcard)
8078	145	22.312	Xác định kháng nguyên A1 bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định nhóm máu A_1 (kỹ thuật ống nghiệm)
8080	147	22.277; 22.278	Định nhóm máu hệ ABO bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Định nhóm máu hệ ABO (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Định nhóm máu hệ ABO (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động)
8081	148	22.279	Định nhóm máu hệ ABO bằng kỹ thuật ống nghiệm	Định nhóm máu hệ ABO (kỹ thuật ống nghiệm)
8082	149	22.280	Định nhóm máu hệ ABO bằng kỹ thuật phiến đá hoặc giấy tại phòng xét nghiệm	Định nhóm máu hệ ABO (kỹ thuật phiến đá)
8083	150	22.284	Định nhóm máu hệ ABO bằng thẻ định nhóm máu tại phòng xét nghiệm	Định nhóm máu hệ ABO (kỹ thuật trên thẻ)
8093	160	22.289	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8094	161	22.294	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) trên hệ thống máy tự động hoàn toàn	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) trên hệ thống máy tự động hoàn toàn
8095	162	22.285; 22.502	Định nhóm máu hệ ABO tại giường bệnh bằng giấy hoặc phiến đá trước khi	Định nhóm máu hệ ABO bằng giấy định nhóm máu để truyền máu toàn phần, khối hồng cầu,

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
			truyền khối hồng cầu/máu toàn phần/khối bạch cầu	khối bạch cầu; Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu
8096	163	22.286; 22.502	Định nhóm máu hệ ABO tại giường bệnh bằng giấy hoặc phiến đá trước khi truyền tiểu cầu/huyết tương/tủa lạnh	Định nhóm máu hệ ABO bằng giấy định nhóm máu để truyền chế phẩm tiểu cầu hoặc huyết tương; Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu
8097	164	22.287; 22.502	Định nhóm máu hệ ABO tại giường bệnh trên thẻ (đã có sẵn huyết thanh mẫu) trước khi truyền máu toàn phần/ khối hồng cầu/khối bạch cầu	Định nhóm máu hệ ABO trên thẻ định nhóm máu (đã có sẵn huyết thanh mẫu) để truyền máu toàn phần, khối hồng cầu, khối bạch cầu; Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu
8098	165	22.288; 22.502	Định nhóm máu hệ ABO tại giường bệnh trên thẻ (đã có sẵn huyết thanh mẫu) trước khi truyền tiểu cầu/huyết tương/tủa lạnh	Định nhóm máu hệ ABO trên thẻ định nhóm máu (đã có sẵn huyết thanh mẫu) để truyền chế phẩm tiểu cầu hoặc huyết tương; Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu
8100	167	22.291	Định nhóm máu hệ Rh(D) bằng kỹ thuật ống nghiệm	Định nhóm máu hệ Rh(D) (kỹ thuật ống nghiệm)
8101	168	22.292	Định nhóm máu hệ Rh(D) bằng kỹ thuật phiến đá hoặc giấy	Định nhóm máu hệ Rh(D) (kỹ thuật phiến đá)
8102	169	22.281; 22.282	Định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường	Định nhóm máu khó hệ ABO (kỹ thuật ống nghiệm); Định nhóm máu khó hệ ABO (kỹ thuật Scangel/Gelcard)
8103	170	22.262	Xét nghiệm lựa chọn đơn vị máu phù hợp bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel trong trường hợp không cấp phát được bằng quy trình thông thường	Xét nghiệm lựa chọn đơn vị máu phù hợp (10 đơn vị máu trong 3 điều kiện 22ºC, 37ºC, kháng globulin người) bằng phương pháp Scangel/Gelcard
8104	171	22.263	Xét nghiệm lựa chọn đơn vị máu phù hợp bằng kỹ thuật ống nghiệm trong trường hợp không cấp phát được bằng quy trình thông thường	Xét nghiệm lựa chọn đơn vị máu phù hợp (10 đơn vị máu trong 3 điều kiện 22ºC, 37ºC, kháng globulin người) bằng phương pháp ống nghiệm

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8105	172	22.306; 22.307	Xét nghiệm Coombs gián tiếp bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Nghiệm pháp Coombs gián tiếp (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Nghiệm pháp Coombs gián tiếp (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8106	173	22.308	Xét nghiệm Coombs gián tiếp bằng kỹ thuật ống nghiệm	Nghiệm pháp Coombs gián tiếp (kỹ thuật ống nghiệm)
8107	174	22.302; 22.303	Xét nghiệm Coombs trực tiếp bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Nghiệm pháp Coombs trực tiếp (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Nghiệm pháp Coombs trực tiếp (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8108	175	22.304	Xét nghiệm Coombs trực tiếp bằng kỹ thuật ống nghiệm	Nghiệm pháp Coombs trực tiếp (kỹ thuật ống nghiệm)
8109	176	22.268	Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch ở môi trường nước muối sinh lý, nhiệt độ dưới 10°C bằng kỹ thuật ống nghiệm	Phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22ºC (kỹ thuật ống nghiệm)
8110	177	22.268	Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch ở môi trường nước muối sinh lý, nhiệt độ phòng bằng kỹ thuật ống nghiệm	Phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22ºC (kỹ thuật ống nghiệm)
8111	178	22.269; 22.270	Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch ở môi trường nước muối sinh lý, nhiệt độ phòng bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22ºC (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22ºC (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8112	179	22.271; 22.274	Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch ở nhiệt độ 37°C và có sử dụng kháng globulin người bằng kỹ thuật ống nghiệm	Phản ứng hòa hợp ở điều kiện 37ºC (kỹ thuật ống nghiệm); Phản ứng hoà hợp có sử dụng kháng globulin người (kỹ thuật ống nghiệm)
8113	180	22.272; 22.273; 22.275; 22.276	Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch ở nhiệt độ 37°C và có sử dụng kháng globulin	Phản ứng hòa hợp ở điều kiện 37ºC (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Phản ứng hòa hợp ở điều kiện 37ºC (kỹ

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
			người bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Phản ứng hoà hợp có sử dụng kháng globulin người (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Phản ứng hoà hợp có sử dụng kháng globulin người (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8114	181	22.624	Xét nghiệm hòa hợp tiểu cầu bằng kỹ thuật ELISA	Phản ứng hòa hợp tiểu cầu (kỹ thuật pha rắn)
8115	182	22.37	Định lượng nồng độ chất ức chế yếu tố V	Định lượng ức chế yếu tố VIIIc
8116	183	22.63; 22.64	Phát hiện kháng thể kháng PF4 tiểu cầu bằng phương pháp ELISA	Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia) - Ab; Xét nghiệm HIT (Heparin Induced Thrombocytopenia)- IgG
8117	184	22.30	Định lượng yếu tố đông máu ngoại sinh (II)	Định lượng yếu tố đông máu ngoại sinh II, V,VII, X
8118	185	22.227; 22.228	Xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên C của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên C của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8119	186	22.230; 22.231	Xác định kháng nguyên c của hệ Rh bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên c của hệ của nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên c của hệ của nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8120	187	22.233; 22.234	Xác định kháng nguyên E của hệ Rh bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên E của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên E của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8121	188	22.236; 22.237	Xác định kháng nguyên e của hệ Rh bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên e của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên e của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8122	189	22.180; 22.182	Xác định kháng nguyên Fya của hệ Duffy bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Fy^a của hệ nhóm máu Duffy (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Fy^a của hệ nhóm máu Duffy (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8123	190	22.181; 22.183	Xác định kháng nguyên Fyb của hệ Duffy bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Fy^b của hệ nhóm máu Duffy (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Fy^b của hệ nhóm máu Duffy (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8124	191	22.204; 22.206	Xác định kháng nguyên Jka của hệ Kidd bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Jk^a của hệ nhóm máu Kidd (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Jk^a của hệ nhóm máu Kidd (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8125	192	22.205; 22.207	Xác định kháng nguyên Jkb của hệ Kidd bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Jk^b của hệ nhóm máu Kidd (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Jk^b của hệ nhóm máu Kidd (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8126	193	22.186; 22.188	Xác định kháng nguyên K của hệ Kell bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên K của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên K của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8127	194	22.187; 22.189	Xác định kháng nguyên k của hệ Kell bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên k của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên k của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8128	195	22.619; 22.620	Xác định kháng nguyên Lea của hệ Lewis bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Le^a của hệ nhóm máu Lewis (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
				Le^{a} của hệ nhóm máu Lewis (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8129	196	22.622; 22.623	Xác định kháng nguyên Leb của hệ Lewis bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Le^{b} của hệ nhóm máu Lewis (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Le^{b} của hệ nhóm máu Lewis (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8130	197	22.174; 22.176	Xác định kháng nguyên Lua của hệ Lutheran bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Lu^{a} của hệ nhóm máu Lutheran (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Lu^{a} của hệ nhóm máu Lutheran (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8131	198	22.175; 22.177	Xác định kháng nguyên Lub của hệ Lutheran bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Lu^{b} của hệ nhóm máu Lutheran (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Lu^{b} của hệ nhóm máu Lutheran (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8132	199	22.221; 22.222	Xác định kháng nguyên Mia của hệ MNS bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên Mi^{a} của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Mi^{a} của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8133	200	22.210; 22.212	Xác định kháng nguyên M của hệ MNS bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên M của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên M của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8134	201	22.211; 22.213	Xác định kháng nguyên N của hệ MNS bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên N của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên N của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8135	202	22.216; 22.218	Xác định kháng nguyên S của hệ MNS bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên S của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên S của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8136	203	22.217; 22.219	Xác định kháng nguyên s của hệ MNS bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên s của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên s của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8137	204	22.224; 22.225	Xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel	Xác định kháng nguyên P_1 của hệ nhóm máu P_1Pk (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên P_1 của hệ nhóm máu P_1Pk (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8138	205	22.192; 22.193; 22.194; 22.195; 22.198; 22.199; 22.200; 22.201; 22.239; 22.240; 22.243; 22.244; 22.245; 22.246; 22.249; 22.250; 22.251; 22.252; 22.254; 22.255	Xác định các kháng nguyên khác ngoài hệ ABO, Rh(D) (Cw/Dia/Dib/Kpa/Kpb/U/ Xga…) bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel (giá tính cho một kháng nguyên)	Xác định kháng nguyên Kp^a của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Kp^b của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Kp^a của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Kp^b của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Js^a của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Js^b của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Js^a của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Js^b của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
				động); Xác định kháng nguyên C^w của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên C^w của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Di^a của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Di^b của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Di^a của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Di^b của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Wr^a của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Wr^b của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Wr^a của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Wr^b của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động); Xác định kháng nguyên Xg^a của hệ nhóm máu Xg (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy bán tự động); Xác định kháng nguyên Xg^a của hệ nhóm máu Xg (kỹ thuật Scangel/Gelcard trên máy tự động)
8139	206	22.226	Xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên C của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật ống nghiệm)
8140	207	22.229	Xác định kháng nguyên c của hệ Rh bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên c của hệ của nhóm máu Rh (kỹ thuật ống nghiệm)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8141	208	22.232	Xác định kháng nguyên E của hệ Rh bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên E của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật ống nghiệm)
8142	209	22.235	Xác định kháng nguyên e của hệ Rh bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên e của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật ống nghiệm)
8143	210	22.178	Xác định kháng nguyên Fya của hệ Duffy bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Fy^a của hệ nhóm máu Duffy (kỹ thuật ống nghiệm)
8144	211	22.179	Xác định kháng nguyên Fyb của hệ Duffy bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Fy^b của hệ nhóm máu Duffy (kỹ thuật ống nghiệm)
8145	212	22.202	Xác định kháng nguyên Jka của hệ Kidd bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Jk^a của hệ nhóm máu Kidd (kỹ thuật ống nghiệm)
8146	213	22.203	Xác định kháng nguyên Jkb của hệ Kidd bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Jk^b của hệ nhóm máu Kidd (kỹ thuật ống nghiệm)
8147	214	22.184	Xác định kháng nguyên K của hệ Kell bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên K của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật ống nghiệm)
8148	215	22.185	Xác định kháng nguyên k của hệ Kell bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên k của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật ống nghiệm)
8149	216	22.618	Xác định kháng nguyên Lea của hệ Lewis bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Le^a của hệ nhóm máu Lewis (kỹ thuật ống nghiệm)
8150	217	22.621	Xác định kháng nguyên Leb của hệ Lewis bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Le^b của hệ nhóm máu Lewis (kỹ thuật ống nghiệm)
8151	218	22.172	Xác định kháng nguyên Lua của hệ Lutheran bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Lu^a của hệ nhóm máu Lutheran (kỹ thuật ống nghiệm)
8152	219	22.173	Xác định kháng nguyên Lub của hệ Lutheran bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Lu^b của hệ nhóm máu Lutheran (kỹ thuật ống nghiệm)
8153	220	22.208	Xác định kháng nguyên M của hệ MNS bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên M của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật ống nghiệm)
8154	221	22.220	Xác định kháng nguyên Mia của hệ MNS bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên Mi^a của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật ống nghiệm)

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8155	222	22.209	Xác định kháng nguyên N của hệ MNS bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên N của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật ống nghiệm)
8156	223	22.214	Xác định kháng nguyên S của hệ MNS bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên S của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật ống nghiệm)
8157	224	22.215	Xác định kháng nguyên s của hệ MNS bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên s của hệ nhóm máu MNS (kỹ thuật ống nghiệm)
8158	225	22.223	Xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK bằng kỹ thuật ống nghiệm	Xác định kháng nguyên P_1 của hệ nhóm máu P_1Pk (kỹ thuật ống nghiệm)
8159	226	22.190; 22.191; 22.196; 22.197; 22.238; 22.241; 22.242; 22.247; 22.248; 22.253	Xác định các kháng nguyên khác ngoài hệ ABO, Rh(D) (Cw/Dia/Dib/Kpa/Kpb/U/ Xga…) bằng kỹ thuật ống nghiệm (giá tính cho một kháng nguyên)	Xác định kháng nguyên Kp^a của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Kp^b của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Js^a của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Js^b của hệ nhóm máu Kell (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên C^w của hệ nhóm máu Rh (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Di^a của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Di^b của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Wr^a của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Wr^b của hệ nhóm máu Diago (kỹ thuật ống nghiệm); Xác định kháng nguyên Xg^a của hệ nhóm máu Xg (kỹ thuật ống nghiệm)
8164	231	22.49; 22.50	Xét nghiệm kháng đông lupus (LA: Lupus Anticoagulant)	Phát hiện kháng đông Lupus (LAC/LA screen: Lupus Anticoagulant screen); Khẳng định kháng đông Lupus (LAC/LA confirm: Lupus Anticoagulant confirm)
8165	232	22.51	Định lượng anti Xa với Heparin	Định lượng Anti Xa
8166	233	22.24	Bán định lượng D-Dimer	Bán định lượng D-Dimer

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8167	234	22.44	Bán định lượng FDP	Bán định lượng FDP
8172	239	22.565	Định lượng kháng nguyên antithrombin (AT antigen)	Định lượng kháng nguyên antithrombin/antithrombinIII (AT antigen/ATIII antigen)
8175	242	22.48	Định lượng kháng nguyên Protein S tự do (free PS antigen)	Định lượng Protein S tự do
8176	243	22.66	Định lượng kháng nguyên t - pA (tissue - Plasminogen Activator)	Định lượng t-pA (tissue - Plasminogen Activator)
8189	256	22.16	Nghiệm pháp protamin sulfate	Nghiệm pháp Protamin sulfat
8197	264	22.53	Xét nghiệm thời gian Reptilase	Thời gian Reptilase
8200	267	22.18	Xét nghiệm thời gian tiêu Euglobulin	Thời gian tiêu Euglobulin
8201	268	22.33	Định lượng hoạt tính yếu tố XIII	Định lượng yếu tố XII
8218	285	22.663; 22.664; 22.665; 22.480	Gạn tách thành phần máu từ một người hiến máu bằng máy tách tế bào tự động	Điều chế khối bạch cầu gạn tách bằng máy tách tế bào tự động từ một người hiến máu; Điều chế khối hồng cầu gạn tách bằng máy tách tế bào tự động từ một người hiến máu; Điều chế huyết tương gạn tách bằng máy tách tế bào tự động từ một người hiến máu; Điều chế khối tiểu cầu gạn tách từ một người cho
8220	287	22.456	Xét nghiệm trước hiến máu	Xét nghiệm nhanh HBsAg trước hiến máu đối với người hiến máu
8221	288	22.457	Lấy máu toàn phần từ người hiến máu	Lấy máu toàn phần từ người hiến máu
8222	289	22.667	Xét nghiệm sàng lọc anti-HBc đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang	Xét nghiệm sàng lọc anti-HBc đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật ELISA, kỹ thuật hóa phát quang
8225	292	22.462	Xét nghiệm sàng lọc giang mai đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật RPR	Xét nghiệm sàng lọc giang mai đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật RPR

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8228	295	22.463	Xét nghiệm sàng lọc giang mai đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật ngưng kết hồng cầu/vi hạt thụ động	Xét nghiệm sàng lọc giang mai đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật ngưng kết hồng cầu/vi hạt thụ động
8230	297	22.459	Xét nghiệm sàng lọc HBV đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang	Xét nghiệm sàng lọc HIV, Viêm gan B, Viêm gan C đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang
8232	299	22.459	Xét nghiệm sàng lọc HCV đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang	Xét nghiệm sàng lọc HIV, Viêm gan B, Viêm gan C đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang
8237	304	22.459	Xét nghiệm sàng lọc HIV đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang	Xét nghiệm sàng lọc HIV, Viêm gan B, Viêm gan C đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang
8241	308	22.468	Xét nghiệm sàng lọc huyết thanh học CMV IgM đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật hoá phát quang	Xét nghiệm sàng lọc cmV đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật hóa phát quang
8244	311	22.470	Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật microplate	Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu (kỹ thuật men tiêu protein/antiglobulin thực hiện thủ công hoặc trên máy bán tự động, máy tự động)
8248	315	22.460	Xét nghiệm sàng lọc phối hợp HIV, HBV, HCV bằng kỹ thuật NAT đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu	Xét nghiệm sàng lọc HIV, Viêm gan B, Viêm gan C đối với đơn vị máu toàn phần và thành phần máu bằng kỹ thuật NAT
8250	317	22.496, 22.497, 22.472	Bất hoạt virus trong đơn vị máu và chế phẩm máu	Bất hoạt virus trong chế phẩm huyết tương bằng hóa chất; Bất hoạt virus trong chế phẩm huyết tương bằng nhiệt; Chiếu xạ máu toàn phần và các thành phần máu

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
8251	318	22.472	Chiếu xạ máu toàn phần và các thành phần máu	Chiếu xạ máu toàn phần và các thành phần máu
8252	319	22.484, 22.485, 22.484, 22.486	Điều chế huyết tương	Điều chế huyết tương tươi; Điều chế huyết tương tươi đông lạnh; Điều chế huyết tương tươi; Điều chế tủa lạnh
8253	320	22.483	Điều chế khối bạch cầu	Điều chế khối bạch cầu
8254	321	22.474, 22.473, 22.475, 22.477, 22.476 22.492, 22.493	Điều chế khối hồng cầu	Điều chế khối hồng cầu có dung dịch bảo quản; Điều chế khối hồng cầu đậm đặc; Điều chế khối hồng cầu giảm bạch cầu; Điều chế khối hồng cầu lọc bạch cầu; Điều chế khối hồng cầu rửa; Đông lạnh hồng cầu, tiểu cầu ở quầy lạnh; Đông lạnh hồng cầu, tiểu cầu trong nitơ lỏng
8255	322	22.479, 22.481, 22.491, 22.492, 22.493, 22.487	Điều chế khối tiểu cầu	Điều chế khối tiểu cầu pool; Điều chế khối tiểu cầu giảm bạch cầu; Lọc bạch cầu trong khối tiểu cầu; Đông lạnh hồng cầu, tiểu cầu ở quầy lạnh; Đông lạnh hồng cầu, tiểu cầu trong nitơ lỏng; Rửa hồng cầu/tiểu cầu bằng máy ly tâm lạnh
8256	323	22.486	Điều chế tủa lạnh	Điều chế tủa lạnh
8257	324	22.498	Hoàn nguyên máu toàn phần từ các thành phần máu để thay máu	Điều chế chế phẩm máu (khối hồng cầu) để thay máu cho người bệnh sơ sinh tan máu do bị bất đồng nhóm máu mẹ con
8258	325	22.489	Máu toàn phần lọc bạch cầu	Lọc bạch cầu trong máu toàn phần

1. ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY TỔNG TRỞ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định số lượng, thành phần của các chỉ số tế bào máu được phân tích trên máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Là xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu đơn giản, cho kết quả một cách tổng quát về chỉ số tế bào máu cơ bản

Máy đếm hoạt động theo nguyên lý tổng trở: đếm và phân loại thành phần dựa vào kích thước của từng loại tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Hóa chất, vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hoá chất chạy máy phân tích tế bào máu;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Gạc, barcode;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Tủ ấm 37 độ;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 0.75 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.
- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- In, ký và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.

+ Mẫu huyết tương đục: thực hiện kỹ thuật thay thế huyết tương bằng dung dịch đẳng trương theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Máy đếm tế bào, nguyên tắc hoạt động và phương pháp sử dụng, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 28-32.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Gulati G., Uppal G., và Gong J. (2022). Unreliable Automated Complete Blood Count Results: Causes, Recognition, and Resolution. Ann Lab Med, 42(5), 515–530.
4. Zhao XC, Ju B, Wei N, Ding J, Men FJ, Zhao HG (2020). Severe hyperlipemiainduced pseudoerythrocytosis - implication for misdiagnosis and blood transfusion: A case report and literature review. World J Clin Cases 2020; 8:4595-602.
5. Schuff-Werner P, Mansour J, Gropp A (2020). Pseudo-thrombocytopenia (PTCP). A challenge in the daily laboratory routine? J Lab Med 2020; 44:295-304.
6. Pipitone S, Buonocore R, Gennari D, Lippi G (2015). Comparison of nucleated red blood cell count with four commercial hematological analyzers. Clin Chem Lab Med 2015;53:e315-8.

2. ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY LASER

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định số lượng, thành phần của các chỉ số tế bào máu được phân tích trên máy đếm tế bào tự động. Thiết bị cho ra nhiều thông số quan trọng, ngoài các thông số chính liên quan đến tế bào hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu, thiết bị còn cung cấp các thông số khác như tế bào chưa trưởng thành, tế bào bất thường, chỉ số cảnh báo nhiễm khuẩn…tùy theo từng hãng thiết bị, giúp định hướng sớm cho chẩn đoán, theo dõi điều trị một số bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở, đo quang kết hợp sử dụng nguồn sáng laser (hoặc công nghệ tương đương) với kỹ thuật cao, tín hiệu thu nhận được từ nhiều góc tán xạ khác nhau giúp phân tích chính xác các loại tế bào máu và thành phần công thức bạch cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hoá chất chạy máy phân tích tế bào máu;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Gạc, barcode;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Tủ ấm 37 độ;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 0.75 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình làm việc trên máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.
- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- In, ký và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.

+ Mẫu huyết tương đục: thực hiện kỹ thuật thay thế huyết tương bằng dung dịch đẳng trương theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Máy đếm tế bào, nguyên tắc hoạt động và phương pháp sử dụng, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 28-32.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Gulati G., Uppal G., và Gong J. (2022). Unreliable Automated Complete Blood Count Results: Causes, Recognition, and Resolution. Ann Lab Med, 42(5), 515–530.
4. Zhao XC, Ju B, Wei N, Ding J, Men FJ, Zhao HG (2020). Severe hyperlipemiainduced pseudoerythrocytosis - implication for misdiagnosis and blood transfusion: A case report and literature review. World J Clin Cases 2020; 8:4595-602.
5. Schuff-Werner P, Mansour J, Gropp A (2020). Pseudo-thrombocytopenia (PTCP). A challenge in the daily laboratory routine? J Lab Med 2020; 44:295-304.
6. Pipitone S, Buonocore R, Gennari D, Lippi G (2015). Comparison of nucleated red blood cell count with four commercial hematological analyzers. Clin Chem Lab Med 2015;53:e315-8.

3. ĐẾM TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG HỆ THỐNG MÁY KẾT NỐI NHUỘM TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định số lượng, thành phần và các chỉ số tế bào máu được phân tích bằng máy đếm tế bào tự động kết hợp với quan sát trên tiêu bản nhuộm Giêmsa chất lượng cao; giúp thực hiện xét nghiệm cho người bệnh cần đánh giá kĩ hình ảnh tế bào máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở, đo quang kết hợp sử dụng nguồn sáng laser (hoặc công nghệ tương đương) với kỹ thuật cao, tín hiệu thu nhận được từ nhiều góc tán xạ khác nhau giúp đếm và phân loại chính xác các loại tế bào máu.

Mẫu sau khi được phân tích trên máy đếm tế bào sẽ được chuyển sang hệ thống nhuộm tự động. Tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng máy có chất lượng cao, cho hình ảnh tế bào rõ nét, không bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật của người nhuộm, do đó giảm thiểu được sai sót và tăng độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hoá chất chạy máy phân tích tế bào máu;
- Hóa chất nhuộm tiêu bản tự động;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính cho máy kéo lam tự động;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Máy kéo nhuộm tiêu bản tự động;
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.

- Nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 1,5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như : nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình làm việc trên máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.

- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

- Sau đó mẫu sẽ tự động chuyển sang máy kéo và nhuộm tiêu bản.

- Tiêu bản nhuộm xong đặt vào giá đựng và sấy khô.

- Phân tích kết quả trên tiêu bản nhuộm Giêmsa dưới Kính hiển vi và đối chiếu với các thông số của máy đếm tế bào. Tiến hành lập lại công thức bạch cầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- In và ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp : Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.

+ Mẫu huyết tương đục: thực hiện kỹ thuật thay thế huyết tương bằng dung dịch đẳng trương theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp : Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: sử dụng công nghệ thông tin quản lý người bệnh

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Máy đếm tế bào, nguyên tắc hoạt động và phương pháp sử dụng, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 28-32.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Gulati G., Uppal G., và Gong J. (2022). Unreliable Automated Complete Blood Count Results: Causes, Recognition, and Resolution. Ann Lab Med, 42(5), 515–530.
4. Zhao XC, Ju B, Wei N, Ding J, Men FJ, Zhao HG (2020). Severe hyperlipemiainduced pseudoerythrocytosis - implication for misdiagnosis and blood transfusion: A case report and literature review. World J Clin Cases 2020; 8:4595-602.
5. Schuff-Werner P, Mansour J, Gropp A (2020). Pseudo-thrombocytopenia (PTCP). A challenge in the daily laboratory routine? J Lab Med 2020; 44:295-304.
6. Pipitone S, Buonocore R, Gennari D, Lippi G (2015). Comparison of nucleated red blood cell count with four commercial hematological analyzers. Clin Chem Lab Med 2015;53:e315-8.

4. XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm xác định tỉ lệ % tế bào hồng cầu lưới giúp đánh giá gián tiếp tình trạng sinh hồng cầu của tủy xương.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hồng cầu lưới là giai đoạn trung gian giữa hồng cầu có nhân và hồng cầu trưởng thành, được đặc trưng bởi ARN còn lại trong bào tương. Người ta có thể nhận biết đặc điểm này nhờ các thuốc nhuộm làm tủa ARN trong hồng cầu. Số lượng hồng cầu lưới được phân tích bằng máy tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất chạy hồng cầu lưới trên máy đếm tế bào;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Gạc, barcode;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Tủ ấm;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần/ dịch hút tủy xương chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu bệnh phẩm không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 0.75 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình làm việc trên máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.
- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Ý nghĩa lâm sàng của chỉ số hồng cầu lưới: Định hướng tìm nguyên nhân thiếu máu.
- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), "Đếm hồng cầu lưới", *Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, nhà xuất bản Y học, trang 20.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Piva E., Brugnara C., Chiandetti L. và cộng sự. (2010). Automated reticulocyte counting: state of the art and clinical applications in the evaluation of erythropoiesis. Clin Chem Lab Med, 48(10), 1369–1380.97.

5. XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI THỦ CÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm xác định tỉ lệ % tế bào hồng cầu lưới giúp đánh giá gián tiếp tình trạng sinh hồng cầu của tủy xương.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hồng cầu lưới là giai đoạn trung gian giữa hồng cầu có nhân và hồng cầu trưởng thành, được đặc trưng bởi ARN còn lại trong bào tương. Người ta có thể nhận biết đặc điểm này nhờ các thuốc nhuộm làm tủa ARN trong hồng cầu bằng phương pháp thủ công.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch xanh crésyl hoặc xanh Methylen;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính, lam kéo;
- Đồng hồ bấm giờ;
- Pipet;
- Cốc đong, lọ đựng hóa chất;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần/ dịch hút tủy xương chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu bệnh phẩm không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 1,5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Cho vào ống nghiệm hai giọt máu xét nghiệm và 2 giọt xanh crésyl/xanh Methylen, lắc đều, đậy kín bằng màng bọc.
- Ủ 37 độ/20 phút.
- Lắc đều, làm tiêu bản máu đàn, để khô tự nhiên.
- Đọc kết quả trên kính hiển vi với vật kính dầu.
- Tính tỷ lệ % hồng cầu lưới trong 1000 hồng cầu trưởng thành.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Ý nghĩa lâm sàng của chỉ số hồng cầu lưới: Định hướng tìm nguyên nhân thiếu máu.
- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), "Đếm hồng cầu lưới", *Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, nhà xuất bản Y học, trang 20.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.

6. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG MÁY TỔNG TRỞ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định kèm theo phân tích, nhận xét về số lượng, tỉ lệ và hình thái, các chỉ số tế bào máu ngoại vi được phân tích bằng máy đếm tế bào kết hợp với quan sát tiêu bản nhuộm Giêmsa theo phương pháp thủ công.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Là xét nghiệm phân tích, nhận xét tế bào máu dựa trên kết quả đếm bằng máy tổng trở, kết hợp với quan sát tiêu bản nhuộm Giêmsa theo phương pháp thủ công.

Máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở, dựa vào kích thước của từng loại tế bào giúp phân tích sơ bộ các thành phần tế bào máu và công thức bạch cầu. Mẫu sau khi được phân tích trên máy đếm, sẽ được làm tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng phương pháp thủ công giúp xác định đặc điểm và hình thái của các loại tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất chạy máy đếm tế bào;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Giêmsa, dung dịch cố định;
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính, lam kéo;
- Đồng hồ bấm giây;
- Pipet;
- Cốc đong, lọ đựng hóa chất;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chương trình làm việc trên máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.
- Làm tiêu bản máu đàn và nhuộm Giêmsa bằng phương pháp thủ công

+ Kéo tiêu bản giọt đàn, để khô tự nhiên.

+ Ghi ký hiệu tiêu bản.

+ Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.

+ Nhuộm Giêmsa: Thời gian nhuộm được điều chỉnh theo phòng xét nghiệm

+ Rửa tiêu bản bằng nước sạch, xếp tiêu bản lên giá đựng và sấy khô.

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.
- Phân tích kết quả trên tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng Kính hiển vi và đối chiếu với các thông số của máy đếm tế bào.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Phân tích kết quả: nhận xét số lượng, thành phần và hình thái của các loại tế bào hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu. Mô tả các bất thường khác (nếu có). Có thể đưa ra kết luận và đề nghị (nếu có).

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.

+ Mẫu huyết tương đục: thực hiện kỹ thuật thay thế huyết tương bằng dung dịch đẳng trương theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Huyết đồ, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 33-34.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái hồng cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 69-72.
4. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái bạch cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 73-79.
5. Vũ Minh Phương (2018), *Hình thái tiểu cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 80-82.
6. Clodfelter R.L. (1986). The peripheral smear. *Emerg Med Clin North Am*, **4**(**1**), 59–74.
7. Adewoyin A.S. và Nwogoh B. (2014). Peripheral blood film - a review. *Ann Ib Postgrad Med*, **12**(**2**), 71–79.

7. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG MÁY LASER

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định kèm theo phân tích, nhận xét về số lượng, tỉ lệ và hình thái, các chỉ số tế bào máu ngoại vi được phân tích bằng máy đếm tế bào tự động kết hợp với quan sát tiêu bản nhuộm Giêmsa theo phương pháp thủ công.

Thiết bị máy đếm tế bào cho ra nhiều thông số quan trọng, ngoài các thông số chính liên quan đến tế bào hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu, thiết bị còn cung cấp các thông số khác như tế bào chưa trưởng thành, tế bào bất thường, chỉ số cảnh báo nhiễm khuẩn…tùy theo từng hãng thiết bị, giúp gợi ý sớm chẩn đoán, theo dõi điều trị một số bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở, đo quang kết hợp sử dụng nguồn sáng laser (hoặc công nghệ tương đương) với kỹ thuật cao, tín hiệu thu nhận được từ nhiều góc tán xạ khác nhau giúp phân tích chính xác các loại tế bào máu và thành phần công thức bạch cầu. Mẫu sau khi được phân tích trên máy đếm, sẽ được làm tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng phương pháp thủ công giúp xác định đặc điểm và hình thái của các loại tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất chạy máy đếm tế bào;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Giêmsa, dung dịch cố định;
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính, lam kéo;
- Đồng hồ bấm giây;
- Pipet;
- Cốc đong, lọ đựng hóa chất;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;

- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình làm việc trên máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.
- Làm tiêu bản máu đàn và nhuộm Giêmsa bằng phương pháp thủ công

+ Kéo tiêu bản giọt đàn, để khô tự nhiên.

+ Ghi ký hiệu tiêu bản.

+ Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.

+ Nhuộm Giêmsa tiêu bản: Thời gian nhuộm được điều chỉnh tùy từng lô, từng loại Giêmsa.

+ Rửa tiêu bản bằng nước sạch, xếp tiêu bản lên giá đựng và sấy khô.

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.
- Phân tích kết quả trên tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng Kính hiển vi và đối chiếu với các thông số của máy đếm tế bào.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Phân tích kết quả: nhận xét số lượng, thành phần và hình thái của các loại tế bào hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu. Mô tả các bất thường khác (nếu có). Có thể đưa ra kết luận và đề nghị (nếu có).

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.

+ Mẫu huyết tương đục: thực hiện kỹ thuật thay thế huyết tương bằng dung dịch đẳng trương theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Huyết đồ, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 33-34.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái hồng cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 69-72.

4. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái bạch cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 73-79.
5. Vũ Minh Phương (2018), *Hình thái tiểu cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 80-82.
6. Clodfelter R.L. (1986). The peripheral smear. *Emerg Med Clin North Am*, **4**(**1**), 59–74.
7. Adewoyin A.S. và Nwogoh B. (2014). Peripheral blood film - a review. *Ann Ib Postgrad Med*, **12**(**2**), 71–79.

8. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG HỆ THỐNG MÁY KẾT NỐI NHUỘM TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định kèm theo phân tích, nhận xét về số lượng, tỉ lệ và hình thái, các chỉ số tế bào máu được phân tích bằng máy đếm tế bào tự động kết hợp với quan sát trên tiêu bản nhuộm Giêmsa chất lượng cao; giúp định hướng chẩn đoán và theo dõi điều trị một số bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở, đo quang kết hợp sử dụng nguồn sáng laser (hoặc công nghệ tương đương) với kỹ thuật cao, tín hiệu thu nhận được từ nhiều góc tán xạ khác nhau giúp đếm và phân loại chính xác các loại tế bào máu.

Mẫu sau khi được phân tích trên máy đếm tế bào sẽ được chuyển sang hệ thống nhuộm tự động. Tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng máy có chất lượng cao, cho hình ảnh tế bào rõ nét, không bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật của người nhuộm, do đó giảm thiểu được sai sót và tăng độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất chạy máy đếm tế bào;
- Hóa chất nhuộm tiêu bản tự động;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính cho máy kéo lam tự động;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Máy kéo nhuộm tiêu bản tự động;
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình làm việc trên máy đếm tế bào tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.
- Sau khi phân tích mẫu xong, mẫu sẽ được chuyển sang máy kéo và nhuộm tiêu bản tự động.
- Tiêu bản nhuộm xong đặt vào giá đựng và sấy khô.
- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.
- Phân tích kết quả trên tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng Kính hiển vi và đối chiếu với các thông số của máy đếm tế bào.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau (nếu có) để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Phân tích kết quả: nhận xét số lượng, thành phần và hình thái của các loại tế bào hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu. Mô tả các bất thường khác (nếu có). Có thể đưa ra kết luận và đề nghị (nếu có).
- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.

+ Mẫu huyết tương đục: thực hiện kỹ thuật thay thế huyết tương bằng dung dịch đẳng trương theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Huyết đồ, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 33-34.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái hồng cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 69-72.
4. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái bạch cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 73-79.
5. Vũ Minh Phương (2018), *Hình thái tiểu cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 80-82.
6. Adewoyin A.S. và Nwogoh B. (2014). Peripheral blood film - a review. *Ann Ib Postgrad Med*, **12**(**2**), 71–79.
7. Clodfelter R.L. (1986). The peripheral smear. *Emerg Med Clin North Am*, **4**(**1**), 59–74.

9. TẬP TRUNG BẠCH CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá hình thái và xác định thành phần của các loại bạch cầu trong máu ngoại vi trong các trường hợp người bệnh có số lượng bạch cầu quá thấp, không thể phát hiện được các tế bào bất thường bằng tiêu bản máu đàn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

-Tập trung bạch cầu là kỹ thuật tập trung các tế bào có nhân trong máu rồi lấy làm tiêu bản Giêmsa để phân tích thành phần bạch cầu.

- Bạch cầu trong máu chống đông để lắng tự nhiên hay được li tâm sẽ tách thành lớp riêng do có tỉ trọng khác với các thành phần khác của máu vì vậy có thể lấy phần này làm tiêu bản để tăng mật độ tế bào có nhân trên tiêu bản Giêmsa.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Giêmsa, dung dịch cố định;
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Ống tan máu;
- Lam kính, lam kéo;
- Cốc đong, lọ đựng hóa chất;
- Khay quả đậu, pipet;
- Đồng hồ bấm giây;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm;
- Kính hiển vi;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.

- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Đánh số barcode của mẫu lên ống nghiệm.
- Cắm ống máu lên giá để ở nhiệt độ phòng 30 phút, hút bỏ phần huyết tương ở trên, phần huyết tương còn lại cách khối hồng cầu khoảng 5mm.
- Hút lớp huyết tương còn lại (gồm bạch cầu, tiểu cầu và ít hồng cầu) cho vào ống nghiệm đã đánh số barcode.
- Ly tâm 1000 vòng/phút trong 15 phút, hút bỏ phần huyết tương ở trên, chỉ để lại 0,5ml cặn.
- Lắc đều phần cặn, kéo tiêu bản máu đàn, để khô.
- Ghi ký hiệu tiêu bản.
- Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.
- Nhuộm Giêmsa tiêu bản: Thời gian nhuộm được điều chỉnh tùy từng lô, từng loại Giêmsa.
- Rửa tiêu bản bằng nước sạch, xếp tiêu bản lên giá đựng và sấy khô.
- Xác định tỷ lệ thành phần và hình thái các loại bạch cầu trong máu ngoại vi trên tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng Kính hiển vi.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- In và ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *"Kỹ thuật tập trung bạch cầu",* Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, trang 27-28.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91

10. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TỦY XƯƠNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định và phân tích, đưa ra nhận xét về số lượng, thành phần, hình thái của các dòng tế bào trong tủy xương giúp đánh giá khả năng sinh máu của tủy và phát hiện các bất thường (nếu có).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Máy đếm tế bào hoạt động theo nguyên lý tổng trở, đo quang kết hợp sử dụng nguồn sáng laser (hoặc công nghệ tương đương) giúp đếm chính xác số lượng tế bào tủy xương.

Mẫu sau khi được phân tích trên máy đếm tế bào tự động, sẽ được làm tiêu bản nhuộm Giêmsa, dựa vào khả năng bắt màu thuốc nhuộm của từng loại tế bào giúp xác định đặc điểm, hình thái của các dòng tế bào trong tủy xương cũng như phát hiện các bất thường khác (nếu có).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hoá chất chạy máy đếm tế bào;
- Hóa chất nhuộm tiêu bản;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Lam kính, lam kéo;
- Giá đựng tiêu bản, gạc;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào tự động;
- Máy nhuộm tiêu bản (nếu có);
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu dịch hút tủy xương chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu bệnh phẩm đảm bảo đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.

- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- *Chạy máy*

+ Chọn chế độ và chương trình làm việc trên máy đếm tế bào.

+ Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

- *Làm và nhuộm tiêu bản:*

+ Kéo 2 tiêu bản dịch hút tủy xương (kéo thêm 2 tiêu bản để lưu mẫu).

+ Đưa tiêu bản vào máy nhuộm tự động. Trong trường hợp không có máy nhuộm tiến hành thực hiện bằng phương pháp thủ công như sau:

- Xếp tiêu bản lên giá đựng.
- Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.
- Nhuộm Giêmsa tiêu bản: Thời gian nhuộm được điều chỉnh tùy từng lô, từng loại Giêmsa.
- Rửa tiêu bản bằng nước sạch.

+ Tiêu bản sau khi nhuộm xong xếp vào giá đựng và sấy khô.

- Phân tích kết quả xét nghiệm trên Kính hiển vi.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy đếm tế bào phân tích.

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử của người bệnh, thông tin lâm sàng.

- Bản trả lời kết quả gồm có:

+ Điền đầy đủ thông số sau:

- Số lượng tế bào tủy xương (G/L)

+ Nhận xét:

- Mức độ giàu – nghèo của tế bào dịch hút tủy xương
- Số lượng, hình thái, sự biệt hóa của các dòng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu.
- Các bất thường như: tế bào blast, ký sinh trùng sốt rét, K di căn..(nếu có).

+ Kết luận và đề nghị (nếu có).

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *Tủy đồ*, Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, trang 34 -37.
2. Bộ y tế (2022), Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý Huyết học.
3. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe (2017), WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Chapter 2, 44-46.
4. B.J. Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, Bone Marrow Pathology, Fourth Edition, chapter 1, 2010.

5. Kuter D.J., Bain B., Mufti G. và cộng sự. (2007). Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol*, 139(3), 351–362.

11. XÉT NGHIỆM HÓA HỌC TẾ BÀO TỦY XƯƠNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định mức độ một số phản ứng hóa học của thành phần tế bào; hỗ trợ phương pháp hình thái học để xác định bản chất dòng, mức độ biệt hoá và phân tích một số bất thường trong bào tương tế bào tủy.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Nguyên lý

Khảo sát một số thành phần có chứa trong bào tương của tế bào ở tủy xương dưới Kính hiển vi sau khi làm hiện màu bằng các thuốc nhuộm hoặc các cơ chất thích hợp.

1.2.2. Nguyên tắc chung

Tất cả các phương pháp nhuộm hoá học tế bào đều bao gồm ba giai đoạn:

- Cố định: giúp bảo tồn tối đa thành phần cần khảo sát.
- Nhuộm: Dùng các thuốc nhuộm hay các cơ chất để trực tiếp hoặc gián tiếp làm hiện màu các thành phần cần khảo sát.
- Tạo nền: Dùng một thuốc nhuộm làm hiện màu hình thái tế bào (nhân và bào tương) trên tiêu bản.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Các hóa chất nhuộm hóa học tế bào tùy theo từng phương pháp nhuộm:
  + Nhuộm Peroxydase: Formol 10%, Benzidin 0,1%, Giêmsa;
  + Nhuộm PAS (Periodic acid schiff): Formol 10%, acid Periodic 1%, Schiff, Hematoxylin;
  + Nhuộm Sudan đen: Formol 37-40%, Sudan đen, Giêmsa, cồn etylic 70º
  + Nhuộm hồng cầu sắt:
  - Dung dịch Ferocyanua Kali 2%, acid HCL 1N, dung dịch Nuclear Fast Red, cồn tuyệt đối, nước cất.
  - Pha dung dịch nhuộm ủ: Trộn Ferocyanua Kali 10% và acid HCL 20% theo tỉ lệ 1:1.
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính, lam kéo;
- Cốc thủy tinh các loại;
- Lọ đựng hóa chất các loại;
- Đũa thủy tinh;

- Lọ nút mài;
- Đồng hồ bấm giây;
- Pipet;
- Giá đựng tiêu bản, gạc mét;
- Mũ giấy, khẩu trang than hoạt tính, mặt nạ chống độc, kính bảo vệ mắt, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Tủ hút độc;
- Cân hóa chất;
- Máy khuấy hóa chất;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Tủ ấm;
- Kính hiển vi;
- Bàn đếm công thức bạch cầu;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Dịch hút tủy xương được chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu bệnh phẩm đảm bảo đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành: thao tác kỹ thuật phải được thực hiện trong tủ hút khí độc, đeo khẩu trang than hoạt tính trong quá trình nhuộm;
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Kéo tiêu bản giọt đàn, để khô.

- Ghi thông tin người bệnh lên tiêu bản: tên, năm sinh người bệnh, mã xét nghiệm.

- Ghi ký hiệu lên tiêu bản phương pháp cần nhuộm, ví dụ: PAS (Periodic acid schiff), Peroxydase (Pe), Sudan đen (Su), hồng cầu sắt (HCS)…

a. Nhuộm Peroxydase

+ Cố định tiêu bản bằng cồn formol 10% trong 10 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Benzidin 0,1% trong 10-15 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 1 phút, sấy khô.
+ Nhuộm Giêmsa.
+ Rửa sạch, sấy khô.

b. Nhuộm PAS (Periodic acid schiff)

+ Cố định tiêu bản bằng cồn formol 10% trong 10 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Periodic 1% trong 5-15 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Schiff trong 10-20 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Hematoxylin trong 20 phút.
+ Rửa sạch, sấy khô.

a. Nhuộm Sudan đen

+ Cố định tiêu bản bằng hơi formol 37-40% trong 10 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Sudan đen trong 25 phút.
+ Xịt rửa bằng cồn 70º trong 30 giây.
+ Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Giêmsa.
+ Rửa sạch, sấy khô.

b. Nhuộm hồng cầu sắt

+ Cố định tiêu bản bằng cồn tuyệt đối trong 10 phút.
+ Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây, sấy khô.
+ Phủ dung dịch nhuộm lên tiêu bản, để vào bình cách thủy 37ºC trong 60 phút.
+ Rửa tiêu bản dưới vòi nước chảy, tráng lại bằng nước cất và sấy khô.
+ Nhuộm nhân bằng dung dịch Nuclear Fast Red trong 15 phút.
+ Rửa sạch tiêu bản, tráng lại nước cất và sấy khô.

- Phân tích kết quả xét nghiệm trên Kính hiển vi.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Phương pháp nhuộm Peroxydase, PAS, Sudan đen:

+ Phương pháp nhuộm Peroxydase: Các tế bào dương tính bắt màu vàng xỉn (gỉ sắt) trong bào tương tế bào.

+ Phương pháp nhuộm PAS: Các tế bào dương tính có các hạt bắt màu hồng tươi trong bào tương.

+ Phương pháp nhuộm Sudan đen: Các tế bào dương tính chứa các hạt, cục màu đen trong bào tương.

- **Ý nghĩa:**

Các phương pháp	Dòng hạt	Dòng mono	Dòng lympho	Dòng hồng cầu
Peroxydase	+ → 4+	+ → 2+	-	-
Sudan đen	+ → 4+	+ → 2+	-	-
PAS	+/- → 3+	+ → 3+	+ dạng cục	Thay đổi

- **Đánh giá mức độ dương tính**
  + Độ 0: Không có hạt bắt màu hóa học tế bào là (–).
  + Độ 1: Các hạt bắt màu chiếm khoảng ≤ 1/3 bào tương tế bào là (+).
  + Độ 2: Các hạt bắt màu chiếm khoảng >1/3 đến < 3/4 bào tương tế bào là (2+).
  + Độ 3: Các hạt bắt màu chiếm hết bào tương tế bào là (3+).
  + Độ 4: Các hạt bắt màu chiếm hết bào tương và đè lên cả nhân tế bào là (4+).
- **Tính điểm (score)**

Đánh giá mức độ dương tính hóa học tế bào của 100 tế bào cần nghiên cứu. Giả sử tỷ lệ phần trăm tế bào ở các độ 0, 1, 2, 3, 4 tương ứng với a, b, c, d, e thì công thức tính điểm như sau:

$$\text{Score} = (a \times 0) + (b \times 1) + (c \times 2) + (d \times 3) + (e \times 4)$$

4.2.2 Phương pháp nhuộm hồng cầu sắt:

- Ý nghĩa: phát hiện bất thường chuyển hóa và dự trữ sắt trong tế bào nguyên hồng cầu.
- Nhận định kết quả:

+ Nguyên hồng cầu sắt dương tính có hạt hoặc cục màu xanh phổ trong bào tương. Nguyên hồng cầu sắt vòng: có từ 5 hạt trở lên và bao quanh ít nhất 1/3 chu vi hạt nhân.

+ Tính tỷ lệ % tế bào nguyên hồng cầu sắt/nguyên hồng cầu sắt vòng dương tính trong quần thể nguyên hồng cầu.

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), "Hóa học tế bào", *Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, nhà xuất bản Y học, trang 37.
2. Paessler M.E., Helfrich M., và Wertheim G.B.W. (2017). Cytochemical Staining. *Methods Mol Biol*, **1633**, 19–32.
3. Sideroblastic Anemias: Anemias Caused by Deficient Erythropoiesis at *Merck Manual of Diagnosis and Therapy* Professional Edition
4. "Ring sideroblasts". *Blood*. ***107*** *(5):1746.2006-03-01*. Doi: 10.1182/blood. V107.5.1746. ISSN 0006-4971.
5. Perls Prussian Blue Staining Protocol", Roy Ellis, IMVS Division of Pathology The Queen Elizabeth Hospital, Woodville Road, Woodville,

12. PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU/ TUỶ TRÊN TIÊU BẢN NHUỘM GIÊMSA BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phân tích thành phần tế bào máu hoặc tủy xương trên tiêu bản nhuộm Giêmsa chất lượng cao và nhận xét về các thông số tế bào khi xét nghiệm tủy.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Mẫu được đưa vào hệ thống nhuộm tiêu bản tự động theo phương pháp nhuộm Giêmsa. Dựa vào khả năng bắt màu thuốc nhuộm giúp xác định đặc điểm, hình thái các loại tế bào máu/tủy và tỷ lệ phần trăm của mỗi loại. Tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng máy có chất lượng cao, cho hình ảnh tế bào rõ nét, không bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật của người nhuộm, do đó giảm thiểu được sai sót và tăng độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất nhuộm tiêu bản;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi;
- Cồn tuyệt đối;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm được chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy kéo nhuộm tiêu bản;
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần/ dịch hút tủy xương chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu bệnh phẩm không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

- Xét nghiệm tế bào máu: khoảng 1 giờ.
- Xét nghiệm tế bào tủy: khoảng 2.5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, thiết bị, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Kéo 2 tiêu bản máu/dịch hút tủy xương (kéo thêm 2 tiêu bản để lưu mẫu).
- Đưa tiêu bản vào máy nhuộm tự động.
- Tiêu bản sau khi nhuộm xong xếp vào giá đựng tiêu bản và sấy khô.
- Phân tích tiêu bản trên Kính hiển vi.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử của người bệnh, thông tin lâm sàng.
- Phân tích kết quả:

+ Đối với bệnh phẩm là máu toàn phần: phân tích thành phần tế bào máu, lập công thức bạch cầu.

+ Đối với bệnh phẩm là dịch hút tủy xương: phân tích thành phần, hình thái, sự biệt hóa của các tế bào dòng hồng cầu, bạch cầu, mẫu tiểu cầu. Mô tả các bất thường khác (nếu có). Có thể đưa ra kết luận và đề nghị (nếu có).

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), *Tủy đồ*, Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, trang 34 -37.
2. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Các thông số tế bào máu ngoại vi*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 84-91.
3. Bộ y tế (2022), Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý Huyết học.
4. Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe (2017), WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Chapter 2, 44-46.
5. B.J. Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, Bone Marrow Pathology, Fourth Edition, chapter 1, 2010.
6. Kuter D.J., Bain B., Mufti G. và cộng sự. (2007). Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol*, 139(3), 351–362.

13. XÉT NGHIỆM MÔ BỆNH HỌC TỦY XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HEMATOXYLIN EOSIN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá cấu trúc và thành phần các dòng tế bào tạo máu trong mô tủy xương giúp đánh giá khả năng sinh máu của tủy và phát hiện các bất thường (nếu có).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Bằng kỹ thuật cắt lát, cố định và nhuộm tổ chức học tủy xương bằng các phương pháp nhuộm Hematoxylin Eosin cho phép đánh giá cấu trúc mô bệnh học của tủy. Hematoxylin Eosin là phương pháp nhuộm hai màu liên tiếp, Hematoxylin có khả năng nhuộm các thành phần về nhân tế bào, trong khi Eosin nhuộm các thành phần của bào tương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Toluen;
- Hóa chất khử Canxi;
- Parafin nóng chảy;
- Cồn Etylic tuyệt đối, cồn Etylic 90^{o}, cồn Etylic 80^{o};
- Hematoxylin solution
- Eosin Y solution 1%
- Ammonia solution 25%
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch Albumin 1%;
- Keo gắn lamen;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Cốc thủy tinh các loại;
- Lọ đựng hóa chất các loại;
- Đũa thủy tinh;
- Cassette;
- Dao cắt tiêu bản;
- Phiến lạnh;
- Lam kính chuyên dụng;
- Lamen;
- Giá đựng tiêu bản, gạc mét;
- Hộp đựng lưu tiêu bản;
- Mũ giấy, khẩu trang than hoạt tính, mặt nạ chống độc, kính bảo vệ mắt, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy nhuộm tiêu bản tự động (nếu có);
- Thiết bị chuyển, đúc bệnh phẩm;
- Máy cắt tiêu bản;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Thiết bị giữ lạnh block;
- Thiết bị giãn mảnh sinh thiết;
- Cân hóa chất, máy khuấy hóa chất;
- Tủ hút độc;
- Tủ ấm;
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mảnh sinh thiết tủy xương được ngâm trong dung dịch cố định (formol đệm trung tính 10%), thể tích dung dịch lớn hơn thể tích bệnh phẩm 10 – 20 lần.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 36 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành: thao tác kỹ thuật phải được thực hiện trong tủ hút khí độc, đeo khẩu trang than hoạt tính trong quá trình nhuộm;
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện bàn giao, nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

a. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Để bệnh phẩm trong dung dịch cố định trong khoảng 24 giờ.
- Khử Canxi trong khoảng 12 giờ.
- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ trong khoảng 1 giờ.

- Thực hiện chuyển bệnh phẩm qua các dung dịch toluen, Cồn Etylic tuyệt đối, cồn Etylic 90^o, cồn Etylic 80^o, parafin nóng chảy.

- Đúc khuôn mảnh sinh thiết bằng parafin.

b. Chuẩn bị tiêu bản

- Cắt tiêu bản mẫu bệnh phẩm (độ dày 1,5 – 2 μm), gắn lên lam kính đã nhỏ dung dịch albumin.

- Sấy khô tiêu bản.

c. Tiến hành nhuộm

- Đưa tiêu bản lên máy nhuộm tự động, chọn chương trình nhuộm theo yêu cầu. Trong trường hợp không có máy nhuộm tiêu bản, tiến hành nhuộm bằng phương pháp thủ công.

- Các bước nhuộm tiêu bản:

+ Loại paraffin: Nhúng tiêu bản lần lượt qua 3 bể toluen, mỗi bể 5 phút.

+ Loại toluen: Nhúng tiêu bản lần lượt qua 3 bể cồn: 100^o, 90°, 80^o, mỗi bể trong 5 phút.

+ Rửa trong nước chảy nhẹ: 5 phút

+ Nhuộm Hematoxylin: 2 phút

+ Rửa trong nước chảy nhẹ: 5 phút

+ Nhúng trong Ammonia solution: 20 giây

+ Rửa trong nước chảy nhẹ: 5 phút

+ Nhúng trong cồn etylic tuyệt đối: 1 phút

+ Nhuộm Eosin Y 1%: 2 phút

+ Rửa trong nước chảy nhẹ: 5 phút

+ Loại nước: Nhúng tiêu bản lần lượt qua bể cồn etylic 90° và cồn etylic tuyệt đối để loại nước.

+ Loại cồn: Nhúng tiêu bản qua 3 bể Toluen để loại cồn.

- Kết thúc nhuộm: gắn lamen và sấy khô tiêu bản.

- Phân tích kết quả xét nghiệm trên Kính hiển vi.

4.2. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả:

+ Kích thước và đặc điểm của bè xương: có thể bị rỗng đi (rỗ xương) hoặc dày lên. Bình thường tạo cốt bào nằm trong các bè xương, hầu như không gặp hủy cốt bào.

+ Mật độ và phân bố tế bào: Tỷ lệ tế bào tạo máu và tế bào đệm (xơ, mỡ) trên toàn bộ tế bào tủy. Thông thường, tỷ lệ này thay đổi theo tuổi và theo hướng ngày càng giảm do càng lớn tuổi tổ chức mỡ càng phát triển.

+ Tỷ lệ dòng hạt/ dòng hồng cầu: bình thường 2/1-4/1.

+ Mức độ trưởng thành của dòng hạt và dòng hồng cầu: tỷ lệ trưởng thành của dòng hạt và dòng hồng cầu bình thường khoảng 1/4.

+ Dòng mẫu tiểu cầu: bình thường có 1-4 mẫu tiểu cầu/vi trường x40.

+ Lymphocyte: bình thường chiếm khoảng 5% tế bào tủy, nằm rải rác trong khoang tạo máu không theo quy luật. Ở người trên 40 tuổi, lymphocyte chiếm khoảng 10-15%.

+ Plasmocyte: dưới 5% tế bào tủy, thường nằm cạnh thành mạch máu.

+ Đại thực bào: tỷ lệ rất ít, bào tương mờ nên khó phát hiện trên các tiêu bản sinh thiết. Khi quan sát thấy đại thực bào chứng tỏ tăng đại thực bào.

+ Xâm nhập của các tế bào ngoài tủy xương (lành tính hoặc ác tính).

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo, bệnh phẩm sinh thiết lấy ra không được cố định theo đúng quy định.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016), Sinh thiết tủy xương, "Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng", Nhà xuất bản y học.
2. B.J.Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, *Bone Marrow Pathology*, Fourth Edition, chapter 2, 2010.
3. Rindy L.J. và Chambers A.R. (2024). Bone Marrow Aspiration and Biopsy. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

14. XÉT NGHIỆM HÓA MÔ MIỄN DỊCH TỦY XƯƠNG TRÊN MÁY NHUỘM TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt của các dấu ấn miễn dịch trên bề mặt tế bào.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nhuộm hóa mô miễn dịch (HMMD) mảnh sinh thiết tủy xương là phương pháp nhuộm sử dụng các kháng thể đã biết để xác định kháng nguyên có trong mô tủy xương. Đây là kỹ thuật kết hợp phản ứng miễn dịch và hóa chất trên máy nhuộm chuyên dụng để làm hiện rõ các kháng nguyên hiện diện trong tế bào (bào tương, màng tế bào, nhân tế bào). Tiêu bản nhuộm bằng máy có chất lượng cao, cho hình ảnh mô tế bào rõ nét, không bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật của người nhuộm, do đó giảm thiểu được sai sót và tăng độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Toluen;
- Hóa chất khử Canxi;
- Parafin;
- Cồn Etylic các nồng độ;
- Nước cất;
- Bộ hóa chất nhuộm hóa mô miễn dịch trên máy tự động;
- Kháng thể nhuộm (Marker);
- Keo gắn lamen;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Cốc thủy tinh các loại;
- Lọ đựng hóa chất các loại;
- Đũa thủy tinh;
- Cassette;
- Dao cắt tiêu bản;
- Phiến lạnh;
- Lam kính chuyên dụng cho nhuộm hóa mô miễn dịch;
- Lamen;
- Giấy in code, băng mực;
- Giá đựng tiêu bản, gạc mét;
- Hộp đựng lưu tiêu bản;
- Mũ giấy, khẩu trang than hoạt tính, mặt nạ chống độc, kính bảo vệ mắt, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy nhuộm tiêu bản hóa mô miễn dịch tự động;
- Thiết bị chuyển, đúc bệnh phẩm;
- Máy cắt tiêu bản;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Thiết bị giữ lạnh block;
- Thiết bị giãn mảnh sinh thiết;
- Cân hóa chất, máy khuấy hóa chất;
- Tủ hút độc, Tủ ấm, Tủ lạnh;
- Kính hiển vi;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mảnh sinh thiết tủy xương được ngâm trong dung dịch cố định.
- Mẫu chứng: là mảnh sinh thiết mô được đựng trong dung dịch cố định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 38,5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành: thao tác kỹ thuật phải được thực hiện trong tủ hút khí độc, đeo khẩu trang than hoạt tính trong quá trình nhuộm;
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, thiết bị, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện bàn giao, nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

c. Xử lý mẫu bệnh phẩm và mẫu chứng

- Cố định trong 24 giờ đối với mảnh sinh thiết tủy xương, 4 –12 giờ đối với sinh thiết mô chứng.
- Khử Canxi trong 12 giờ (đối với mảnh sinh thiết tủy xương).
- Rửa dưới vòi nước chảy trong 1 giờ (đối với mảnh sinh thiết tủy xương).
- Thực hiện chuyển bệnh phẩm qua các dung dịch Toluen, cồn 3 nồng độ, Parafin.

- Đúc khuôn mảnh sinh thiết bằng Parafin.

d. Chuẩn bị tiêu bản

- Cắt tiêu bản mẫu bệnh phẩm và mẫu chứng (độ dày 1,5 – 2µm) dán trên lam kính chuyên dụng cho nhuộm hóa mô miễn dịch.
- Sấy khô tiêu bản.

c. Tiến hành nhuộm

- In code mã xét nghiệm và dán lên tiêu bản theo đúng chỉ định.
- Tiến hành nhuộm cho từng tiêu bản với loại kháng thể phù hợp theo chương trình đã cài đặt trên máy.

Kết thúc nhuộm: Tháo khay, lấy tiêu bản, gắn lamen và sấy khô.

- Phân tích kết quả xét nghiệm trên Kính hiển vi.

4.2. Nhận định kết quả

- Phân tích tiêu bản chứng để đảm bảo loại trừ các khả năng dương tính giả và âm tính giả.
- Nhận định kết quả:

+ Dương tính: Có sự hiện diện của phức hợp kháng nguyên – kháng thể trên tế bào và mô, được hiển thị bằng màu vàng nâu khi nhuộm DAB Chromogen.

+ Âm tính: Không có sự hiện diện của phức hợp kháng nguyên – kháng thể trên tế bào và mô, không được hiển thị bằng màu vàng nâu khi nhuộm DAB Chromogen.

+ Nhân tế bào bắt màu xanh tím của thuốc nhuộm Hematoxylin.

+ Kết luận và đề nghị (nếu có).

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo, bệnh phẩm sinh thiết lấy ra không được cố định theo đúng quy định.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Hóa mô miễn dịch mảnh sinh thiết tủy xương, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, trang 49-53.
2. B.J.Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, Bone Marrow Pathology, Fourth Edition, chapter 1, 2010.
3. Pileri S.A., Roncador G., Ceccarelli C. và cộng sự. (1997). Immunohistochemistry of bone-marrow biopsy. Leuk Lymphoma, 26 Suppl 1, 69–75.
4. Torlakovic E.E., Brynes R.K., Hyjek E. và cộng sự. (2015). ICSH guidelines for the standardization of bone marrow immunohistochemistry. International Journal of Laboratory Hematology, 37(4), 431–449.

15. TÌM HỒNG CẦU CÓ CHẤM ƯA BAZƠ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Tìm hồng cầu có chấm ưa bazơ trong máu ngoại vi giúp định hướng chẩn đoán một số bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Trong bệnh Thalassemia, thiếu máu do rượu, thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ, nhiễm độc chì hoặc arsenic có sự ngưng tập của ribosome mịn, bắt màu xanh thẫm hoặc tím, kích thước không đều trong hồng cầu trên tiêu bản nhuộm Giêmsa.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất nhuộm tiêu bản;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính, lam kéo;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy nhuộm tiêu bản (nếu có);
- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần đựng trong ống nghiệm được chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu bệnh phẩm đảm bảo đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 01 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

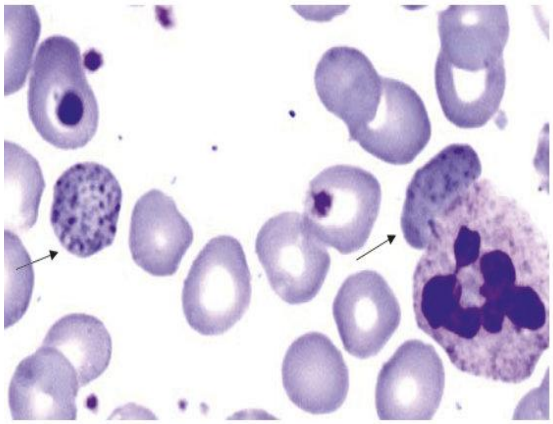
4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

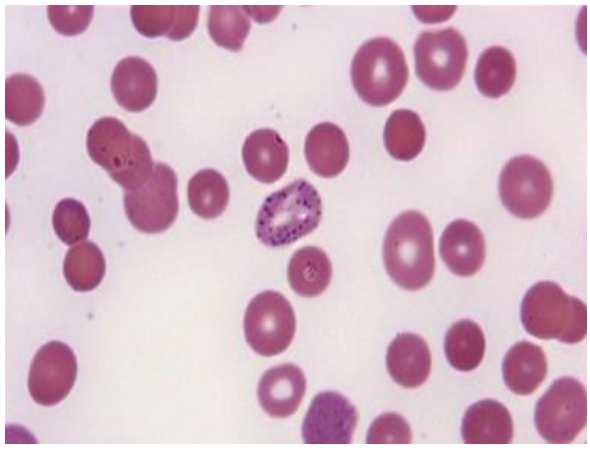
- Đưa bệnh phẩm vào máy nhuộm tiêu bản. Máy sẽ tự động kéo và nhuộm Giêmsa.
- Trong trường hợp không có máy nhuộm tự động, tiến hành làm tiêu bản Giêmsa bằng phương pháp thủ công :
  + Kéo tiêu bản giọt đàn, để khô tự nhiên.
  + Ghi ký hiệu tiêu bản.
  + Xếp tiêu bản lên giá đựng.
  + Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.
  + Nhuộm Giêmsa tiêu bản: Thời gian nhuộm được điều chỉnh tùy từng lô, từng loại Giêmsa.
  + Rửa tiêu bản bằng nước sạch.
- Xếp tiêu bản lên giá đựng và sấy khô.
- Phân tích tiêu bản trên Kính hiển vi bằng vật kính x100

4.2. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả:

+ Chấm ưa bazơ là những chấm nhỏ mịn, bắt màu xanh thẫm hoặc tím, kích thước không đều trong hồng cầu.





+ Ý nghĩa lâm sàng: Gặp hồng cầu có chấm ưa base trong nhiều trường hợp như: Thalassemia, nghiện rượu, nhiễm độc chì/ asenic, thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ,...

- In, ký và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái hồng cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 69-72.
2. Cheson B.D., Rom W.N., và Webber R.C. (1984). Basophilic stippling of red blood cells: a nonspecific finding of multiple etiology. Am J Ind Med, 5(4), 327–334.
3. Sanchez J.R. và Lynch D.T. (2024). Histology, Basophilic Stippling. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

16. TÌM MẢNH VỠ HỒNG CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt mảnh vỡ hồng cầu có trong máu ngoại vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Mảnh vỡ hồng cầu là những mảnh hồng cầu lưu hành trong máu ngoại vi, kết quả của sự phá vỡ tế bào hồng cầu do các nguyên nhân khác nhau như: đông máu nội mạch rải rác (DIC), van tim nhân tạo, bệnh lý vi mạch, bỏng nặng, sau ghép thận, viêm cầu thận…

Tìm mảnh vỡ hồng cầu bằng cách kéo tiêu bản giọt đàn, nhuộm Giêmsa và soi trên Kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất nhuộm tiêu bản;
- Nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Lam kính, lam kéo;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Tủ ấm 37 độ;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Kính hiển vi;
- Tủ lạnh;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 01 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

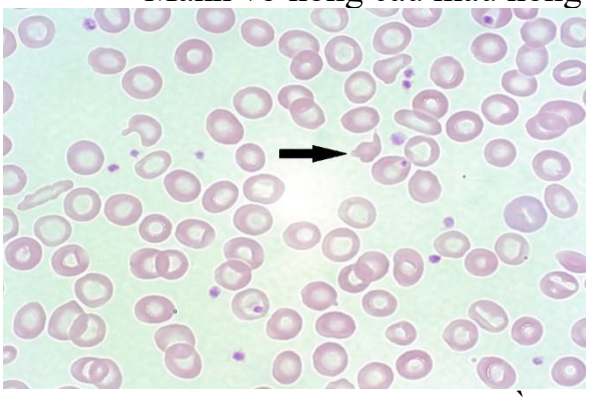
- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

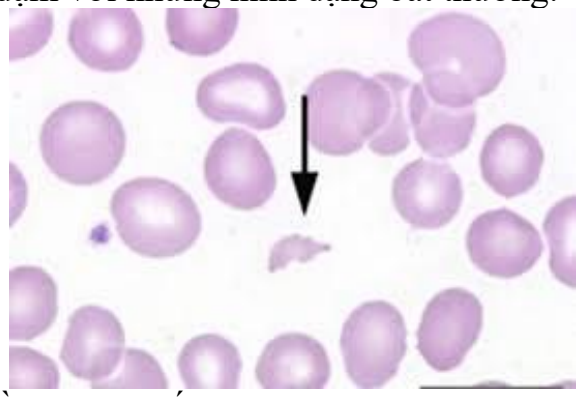
4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Đưa bệnh phẩm vào máy nhuộm tiêu bản. Máy sẽ tự động kéo và nhuộm Giêmsa.
- Trong trường hợp không có máy nhuộm tự động, tiến hành làm tiêu bản Giêmsa bằng phương pháp thủ công :
  + Kéo tiêu bản giọt đàn, để khô tự nhiên.
  + Ghi ký hiệu tiêu bản.
  + Xếp tiêu bản lên giá đựng.
  + Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.
  + Nhuộm Giêmsa tiêu bản: Thời gian nhuộm được điều chỉnh tùy từng lô, từng loại Giêmsa.
  + Rửa tiêu bản bằng nước sạch. Xếp tiêu bản lên giá đựng và sấy khô.
- Phân tích tiêu bản trên Kính hiển vi bằng vật kính x100: đếm và tính tỷ lệ % mảnh vỡ hồng cầu trong 1000 hồng cầu trưởng thành.

4.2. Nhận định kết quả

- Mảnh vỡ hồng cầu màu hồng đậm với những hình dạng bất thường.





- Bình thường mảnh vỡ hồng cầu ≤ 1% (đối với trẻ sơ sinh đủ tháng, người trưởng thành) và ≤ 5% (đối với trẻ sinh non). Nếu mảnh vỡ hồng cầu > 1% (đối với trẻ sơ sinh đủ tháng, người trưởng thành) và > 5% (đối với trẻ sinh non): nghi ngờ nhóm bệnh lý tan máu vi mạch (TMA - thrombotic microangiopathy).

- Ý nghĩa lâm sàng: Gặp mảnh vỡ hồng cầu trong nhiều bệnh lý như đông máu rải rác trong lòng mạch, người bệnh thay van tim nhân tạo, xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối, bỏng nặng, sau ghép thận, viêm cầu thận…

- In, ký và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Mẫu ngưng kết. Giải pháp: ủ 37 độ.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Quang Tùng (2018), *Hình thái hồng cầu bình thường và một số bất thường*, Huyết học – Truyền máu cơ bản, Nhà xuất bản Y học, trang 69-72.
2. Zini G., d'ONOFRIO G., Briggs C. và cộng sự. (2012). ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematology*, **34(2)**, 107–116.
3. Lesesve J.-F., Salignac S., Alla F. và cộng sự. (2004). Comparative evaluation of schistocyte counting by an automated method and by microscopic determination. Am J Clin Pathol, 121(5), 739–745.
4. Zini, Gina, et al. "2021 update of the 2012 ICSH Recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes: Impact and revisions." *International Journal of Laboratory Hematology* 43.6 (2021): 1264-1271.

17. TÌM TẾ BÀO HARGRAVES

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt của tế bào Hargraves (còn gọi là Lupus Erythematosus - LE) trong máu ngoại vi giúp định hướng chẩn đoán các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể tự sinh trong huyết thanh kết hợp với kháng nguyên tương ứng của màng nhân tế bào, dưới tác động của bổ thể, làm tổn thương màng nhân, tạo thành khối thuần nhất. Bạch cầu đoạn trung tính thực bào phức hợp này tạo ra "tế bào Hargrave".

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Heparin;
- Giêmsa, dung dịch cố định;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dầu soi, hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Bơm kim tiêm;
- Ống nghiệm;
- Bi chuyên dụng;
- Pipet;
- Lam kính, lam kéo;
- Đồng hồ bấm giây;
- Cốc đong, lọ đựng hóa chất;
- Giá đựng tiêu bản, gạc, barcode;
- Dụng cụ đếm thành phần tế bào;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm;
- Tủ ấm 37 độ;
- Kính hiển vi;
- Thiết bị làm khô tiêu bản (nếu sử dụng);
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 3 ml máu tĩnh mạch đựng trong bơm kim tiêm được tráng chất chống đông Heparin. Mẫu bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 03 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Ghi kí hiệu lên 3 ống nghiệm khô và sạch.
- Trộn đều bệnh phẩm, để bơm tiêm thẳng đứng quay kim lên trên trong 60 phút.
- Bẻ cong kim, bơm nhẹ nhàng một nửa phần huyết tương ra một ống nghiệm khô và sạch (ống 1). Phần lắng giữa khối hồng cầu và huyết tương được bơm ra một ống nghiệm khác, trộn đều và được chia làm hai phần: một nửa để nguyên (ống 2), còn một nửa đem lắc bi trong 15 phút (ống 3).
- Hòa lẫn ống 1, ống 2, ống 3. Lắc trộn nhẹ nhàng, ủ 37oC trong 60 phút. Lắc đều, ly tâm 1500 vòng/5 phút lấy cặn.
- Lấy phần cặn thu được sau khi ly tâm:

+ Kéo 4 tiêu bản giọt đàn, để khô tự nhiên.

+ Ghi ký hiệu tiêu bản.

+ Xếp tiêu bản lên giá đựng.

+ Cố định tiêu bản: Nhỏ dung dịch cố định dàn đều trên tiêu bản, để khô tự nhiên.

+ Nhuộm Giêmsa tiêu bản: Thời gian nhuộm được điều chỉnh tùy từng lô, từng loại Giêmsa.

+ Rửa tiêu bản bằng nước sạch, xếp tiêu bản lên giá đựng và sấy khô.

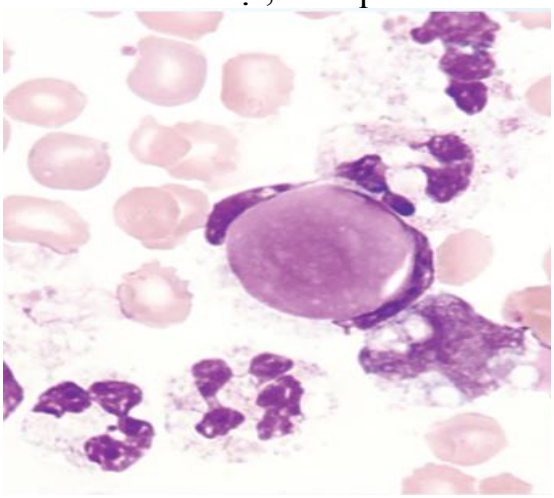
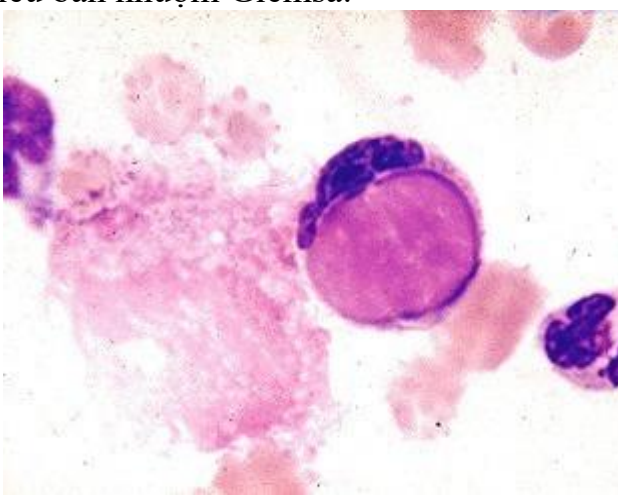
- Phân tích tiêu bản trên Kính hiển vi bằng vật kính x100

4.2. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả:

+ Hình thái tế bào Hargraves: "Tế bào Hargraves" được tạo ra do một bạch cầu đoạn trung tính thực bào một nhân đang thoái hóa. Nhân thoái hóa là một khối thuần nhất tròn, to, màu gạch non trên tiêu bản nhuộm Giêmsa.

Các đoạn nhân (2-4 đoạn) của bạch cầu thực bào bị đẩy dạt ra xung quanh khối thuần nhất tạo nên hình "hoa hồng". Bào tương của bạch cầu đoạn trung tính rất mờ nhạt, khó quan sát trên tiêu bản nhuộm Giêmsa.

+ Ý nghĩa lâm sàng: tế bào Hargraves thường xuất hiện trong những bệnh tự miễn (đặc biệt là Lupus ban đỏ hệ thống).

- Nhập kết quả trên phần mềm quản lý xét nghiệm.
- Valid, in và ký duyệt kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.

- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Xét nghiệm tìm tế bào Hargrave, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 52-53.
2. D'Andréa A., L. Peillet D., Serratrice C. và cộng sự. (2018). Diagnosis of systemic lupus erythematosus by presence of Hargraves cells in eosinophilic pleural effusion. *Medicine (Baltimore)*, **97**(**42**), e12871.
3. Justiz Vaillant A.A., Goyal A., và Varacallo M. (2024). Systemic Lupus Erythematosus. *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
4. https://askhematologist.com/lupus-erythematosus-le-cells/

18. CHỤP ẢNH MÀU TẾ BÀO QUA KÍNH HIỂN VI

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

- Giúp minh họa một cách sinh động và rõ ràng cho những nhận xét, kết luận về kết quả xét nghiệm, làm tài liệu so sánh cho lần xét nghiệm sau.
- Làm công cụ hữu ích cho công tác nghiên cứu khoa học và giảng dạy.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Chụp ảnh màu tiêu bản tế bào máu, tủy xương, mô bệnh học tủy xương, hạch, các dịch sinh học khác... bằng phần mềm chụp ảnh có kết nối Kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1.Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Dầu soi; hóa chất vệ sinh Kính hiển vi;
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Giấy in ảnh, mực in màu, barcode;
- Giá đựng tiêu bản, gạc;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi có kết nối phần mềm chụp ảnh.
- Máy tính, máy in màu, đầu đọc barcode.
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Tiêu bản bệnh phẩm (máu, dịch hút tủy xương, sinh thiết tủy xương, hạch, mô và các dịch sinh học khác…) đã được nhuộm.
- Tiêu bản đảm bảo không bong, rách, xước tế bào. Tế bào bắt màu đẹp, đạt tiêu chuẩn.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 0,5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Kiểm tra đầy đủ thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.3. Kiểm tra bệnh phẩm

- Kiểm tra chất lượng tiêu bản
- Tiêu bản nhuộm đạt tiêu chuẩn, màu sắc đẹp.

4.1.4. Thực hiện kỹ thuật

- Đưa tiêu bản lên Kính hiển vi, lấy vi trường, điều chỉnh độ nét và chọn vi trường tế bào cần chụp ảnh.
- Chỉnh nét ảnh tế bào trên phần mềm.
- Chụp ảnh tế bào bằng phần mềm chụp ảnh.

4.2. Nhận định kết quả

Xem xét kết quả ảnh đảm bảo:

+ Chụp được đúng loại tế bào.
+ Ảnh đẹp, rõ nét, đúng màu sắc tế bào.

- In ảnh và kẹp cùng phiếu chỉ định. Lưu ảnh trên phần mềm.
- Ký duyệt và trả kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả, lưu mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Nhầm mẫu bệnh phẩm, chất lượng bệnh phẩm không đạt.

Giải pháp: Đề nghị gửi lại bệnh phẩm khác đạt yêu cầu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng đúng quy định dẫn đến chất lượng ảnh không rõ nét…

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Chụp không đúng loại tế bào, ảnh mờ, màu sắc không đẹp.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Thiết bị được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn sử dụng Kính hiển vi của nhà sản xuất.
2. Hướng dẫn sử dụng phần mềm chụp ảnh của nhà sản xuất.

19. XÉT NGHIỆM MÁU LẮNG BẰNG MÁY BÁN TỰ ĐỘNG (GIỜ 1, GIỜ 2)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định tốc độ tự lắng của hồng cầu, giúp đánh giá tình trạng viêm ở người bệnh có liên quan đến những bệnh tự miễn, viêm khớp, bị nhiễm trùng và một số bệnh ung thư…; cũng như một số rối loạn protein huyết tương khác.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khi máu toàn phần chống đông được để trong một ống hẹp thẳng đứng trong một khoảng thời gian, các hồng cầu - dưới tác động của trọng lực - lắng và tách ra khỏi huyết tương. Tốc độ lắng đọng của hồng cầu được đo bằng chiều cao cột huyết tương tính bằng mm xuất hiện sau 1 giờ và sau 2 giờ. Tốc độ máu lắng được đọc bằng máy, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2/K3;
- Ống nghiệm đi kèm máy xét nghiệm;
- Giấy in nhiệt;
- Gạc, barcode;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm máu lắng bán tự động;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Bệnh phẩm đủ thể tích, không bị đông, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 1,5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Lắc đều ống bệnh phẩm → chuyển mẫu vào ống nghiệm chuyên dụng cho máy máu lắng.
- Lắc đều mẫu bệnh phẩm. Đưa ống mẫu vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả phân tích từ máy xét nghiệm.
- Tiến hành đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Nhận định kết quả:

+ Tốc độ máu lắng được tính theo đơn vị là mm/giờ.

+ Giá trị bình thường của tốc độ máu lắng:

- Nam: giờ thứ nhất: 3,05 ± 2,26 mm/giờ, giờ thứ hai: 15,41 ± 9,33 mm/giờ
- Nữ: giờ thứ nhất: 6,12 ± 5,25 mm/giờ, giờ thứ hai: 19,51 ± 14,67 mm/giờ

- Ý nghĩa lâm sàng:

+ Tốc độ máu lắng tăng: có thể sinh lý (trẻ mới sinh, sau ăn no, phụ nữ đang có kinh nguyệt,…) hoặc bệnh lý (thiếu máu, tình trạng viêm, tự miễn, đa u tủy xương,…).

+ Tốc độ máu lắng giảm: gặp trong tăng hồng cầu, dị ứng, tăng natri máu, người có hồng cầu đa hình thái,...

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: Mẫu máu bị đông, có dị vật, thể tích không đúng.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.
- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Đo tốc độ Máu lắng, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 24-25.
2. Tishkowski K, Gupta V. Erythrocyte Sedimentation Rate. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2023. PMID: 32491417.
3. Đỗ Trung Phấn. Các giá trị sinh học người Việt Nam bình thường , thập kỷ 90- thế kỷ XX. Nhà xuất bản Y Học: Hà nội; 2003.

20. XÉT NGHIỆM MÁU LẮNG BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG (GIỜ 1)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Nhằm khảo sát tốc độ lắng hồng cầu giúp cho theo dõi, điều trị các tình trạng viêm nhiễm trong cơ thể.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa:

Là kỹ thuật sử dụng thiết bị tự động để đo lường độ lắng hoặc kết tụ của hồng cầu bằng nguyên lý quang học, giúp xác định chỉ số ESR nhanh chóng, khách quan.

1.2.2. Nguyên lý:

Dựa trên nguyên lý quang học, máy tự động theo dõi động học lắng hoặc kết tụ của hồng cầu để tính toán chính xác, khách quan chỉ số tốc độ máu lắng (ESR).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư:

2.2.1. Vật tư

- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Ống EDTA K2/K3.
- Khay quả đậu.
- Bút đánh dấu, bút chì.
- Gạc sạch.

2.2.2. Hóa chất:

Các loại hóa chất phù hợp cho các máy đo tốc độ máu lắng tự động. Tất cả các loại hóa chất bao gồm cả chất chuẩn chạy máy bảo quản ở nhiệt độ 18 – 30^{o}C.

2.2.3. Khác

- Dung dịch sát khuẩn.
- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng rác thải y tế, rác thải thông thường và rác thải tái chế.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy đo tốc máu lắng tự động.
- Tủ lạnh lưu chất chuẩn, hóa chất; tủ lưu bệnh phẩm sau xét nghiệm.
- Hệ thống máy tính có kết nối mạng LAN, máy in, máy in code, đầu đọc code.
- Hệ thống vận chuyển, phân loại, lưu trữ mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 1,8 – 2,2 ml máu tĩnh mạch hoặc động mạch trong ống chống đông bằng EDTA K2/K3; (tiếp nhận hay lấy tại phòng xét nghiệm theo quy trình lấy mẫu)

- Mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng và tiến hành xét nghiệm trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm:

- Xét nghiệm máu lắng bằng máy tự động (giờ 1)
- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,0 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm
- Nguyên tắc an toàn:

+ Luôn mặc áo công tác trong quá trình thực hiện công việc.
+ Luôn đeo găng khi tiếp xúc và làm việc trực tiếp với mẫu bệnh phẩm.
+ Thực hiện quy định bảo quản, sử dụng hóa chất độc hại
+ Khử khuẩn mặt bàn làm việc trước, trong và sau quá trình xét nghiệm.
+ Thiết bị phòng xét nghiệm phải có dây nối đất; có nguồn điện dự phòng
+ Trang bị, đào tạo nhân viên về phòng, chữa cháy
+ Thực hiện đúng quy định về xử lí rác thải bệnh viện.
+ Thực hiện rửa tay theo quy trình rửa tay thường quy.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Khởi động, kiểm tra chất lượng máy đo tốc độ lắng máu

Bước 2.. Nhận và đánh giá ống máu:

+ Nhận mẫu, kiểm tra chất lượng, đối chiếu thông tin mẫu theo quy định.

+ Phân phối hóa chất phù hợp và vận hành máy đo tốc độ máu lắng tự động.

+ Ống máu được đưa vào vận hành trên các máy đo tốc độ máu lắng tự động.

Bước 3. Vận hành máy đo tốc độ máu lắng tự động: Theo các qui trình hướng dẫn sử dụng máy đo tốc độ máu lắng tự động.

Bước 4. Kiểm tra và xác nhận kết quả: Kiểm tra và xác nhận các kết quả do máy đưa ra (có chỉnh sửa nếu cần thiết).

Bước 5. Xử lý mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm:

+ Bảo quản bệnh phẩm đã xét nghiệm 2-4 ngày theo quy định lưu mẫu
+ Xử lý mẫu hết hạn lưu theo quy trình xử lý chất thải sau xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra kết quả, nếu đạt: in và kí xác nhận kết quả, trên giấy hoặc ký số
- Nếu máy báo lỗi → tìm lại mẫu, tìm nguyên nhân và xử lý.
- Nhận định kết quả: dựa theo khoảng tham chiếu

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả xét nghiệm được trả và lưu trữ trên phần mềm quản lý.

5. SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Đọc/ nhập sai yêu cầu chỉ định, nhận dạng sai người bệnh/ bệnh phẩm.
- Lấy bệnh phẩm sai, bảo quản/ vận chuyển mẫu không đúng

- Phòng: áp dụng công nghệ thông tin, tập huấn cho nhân viên, (Nếu có thể, sử dụng hệ thống vận chuyển, phân loại mẫu tự động).

5.2. Trong quá trình thực hiện xét nghiệm:

- Thiết bị gặp sự cố, sai kĩ thuật; hóa chất, sinh phẩm hỏng
- Phòng: Tuân thủ quy trình (SOP), theo quản lý chất lượng phòng xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

- Trả kết quả không đúng người bệnh, chậm (khi trả kết quả bản giấy).
- Lưu mẫu không đúng quy định.

Xử trí: Thực hiện quy trình, có kiểm tra và trả kết quả online.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm và đánh giá kết quả nội kiểm theo quy định.
- Tham gia, thực hiện và đánh giá kết quả ngoại kiểm/so sánh liên phòng
- Bảo dưỡng máy định kỳ hàng ngày, hàng tuần và hàng tháng theo quy định.
- Hóa chất, vật tư trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra/đánh giá theo quy định, đảm bảo chất lượng và đủ cơ số hóa chất, vật tư để thực hiện xét nghiệm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn sử dụng máy máu lắng tự động .

2. Grzybowski A, Sak J. Edmund Biernacki (1866 – 1911): Discoverer of the erythrocyte sedimentation rate. On 100th anniversary of his death. Clin Dermatol. 2011; 29(6): 697 – 703. doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.08.033.

3. Robbin & Cotran – Pathologic basis of disease – 10th edition.

21. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm giúp xác định thành phần các tế bào, trụ hình, tinh thể… trong nước tiểu bằng máy tự động.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Mẫu nước tiểu được chụp ảnh và phân tích chi tiết các đặc điểm về kích thước, hình dạng, cấu trúc trên máy tự động giúp xác định chính xác các thành phần tế bào, trụ hình, tinh thể… có trong nước tiểu. Các tế bào nước tiểu được phân tích bằng máy tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Hoá chất chạy máy, rửa máy;
- Mẫu nội kiểm, ngoại kiểm, hiệu chuẩn (nếu có);
- Dung dịch khử khuẩn.

2.2.2. Dụng cụ, vật tư

- Ống đựng bệnh phẩm, barcode;
- Giá inox;
- Gạc;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đếm tế bào nước tiểu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy tính, máy in, đầu đọc barcode;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu nước tiểu đựng trong ống có nắp đậy kín: đủ thể tích, không có dị vật.
- Trên nhãn bệnh phẩm có đầy đủ thông tin người bệnh theo quy định.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 0,75 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

4.1.1. Chuẩn bị thiết bị, hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

4.1.2. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện giao – nhận mẫu xét nghiệm theo quy định.

4.1.3. Thực hiện kỹ thuật

- Chọn chế độ và chương trình làm việc tương ứng với chỉ định.
- Đưa bệnh phẩm vào máy xét nghiệm, máy sẽ tự động phân tích kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và xem xét kết quả tất cả các chỉ số máy phân tích.
- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh (nếu có).
- Biện luận kết quả:

+ Kết quả xét nghiệm tế bào nước tiểu được được đánh giá bằng các mức độ (+), (++), (+++), (++++).

+ Nước tiểu bình thường: gặp một số tế bào biểu mô, tinh thể. Bệnh lý: xuất hiện nhiều hồng cầu, bạch cầu, trụ niệu.

- In, ký duyệt và lưu kết quả xét nghiệm theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm, lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng mẫu không đảm bảo: không đủ thể tích, có dị vật.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

Thiết bị không được bảo dưỡng, hiệu chuẩn đúng quy định.

- Hóa chất: hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn thiết bị theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có) theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thuỷ (2016), Xét nghiệm tế bào trong nước tiểu, "*Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng"*, Nhà xuất bản Y học, 68-71.
2. Oyaert M. và Delanghe J. (2019). Progress in Automated Urinalysis. Ann Lab Med, 39(1), 15–22.
3. Fogazzi GB, Garigali G. The different ways to obtain digital images of urine microscopy findings: their advantages and limitations. Clin Chim Acta. 2017;466:160–161.

22. XÉT NGHIỆM CẶN ADDIS

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Nhằm định lượng tế bào (hồng cầu và bạch cầu) tiểu ra trong một phút.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa:

Là xét nghiệm đếm số lượng hồng cầu, bạch cầu trong cặn nước tiểu được thu thập trong 3 giờ rồi tính ra lượng tế bào được tiểu ra trong một phút.

1.2.2. Nguyên lý:

Đếm tế bào trong 1 đơn vị thể tích nước tiểu, đo thể tích nước tiểu trong một khoảng thời gian rồi tính ra số lượng tế bào tiểu ra trong 1 đơn vị thời gian.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Vật tư:

- Ống nghiệm 16x100mm có nắp.
- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Bô khô, sạch.
- Giá cắm ống mẫu.
- Khay quả đậu.
- Pipet Paster.
- Gạc sạch.

2.2.2. Khác:

- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng rác thải y tế, rác thải thông thường và rác thải tái chế.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.
- Buồng đếm Nageotte.
- Kính hiển vi quang học.
- Tủ mát lưu bệnh phẩm sau xét nghiệm.
- Hệ thống máy tính có kết nối mạng LAN, máy in, máy in code, đầu đọc code.
- Hệ thống vận chuyển, phân loại, lưu trữ mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.4.1. Lấy mẫu bệnh phẩm

- Đối chiếu, kiểm tra thông tin trên phiếu xét nghiệm với người bệnh; hướng dẫn người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về cách lấy bệnh phẩm
- Định danh mẫu bệnh phẩm lên bô chứa bệnh phẩm
- Hướng dẫn cách lấy mẫu nước tiểu

+ Sáng sớm, ngay sau khi ngủ dậy, người bệnh đi tiểu, đi hết lượng nước

tiểu

+ Tiếp đó, cho người bệnh uống 300ml nước sôi để ng uội. Lưu ý, giữ tâm lý thoải mái. Sau khi uống nước có thể nằm nghỉ ngơi.

+ Trong vòng 3 giờ từ khi uống nước, người bệnh đi tiểu và thu thập toàn bộ nước tiểu vào bô bệnh phẩm.

+ 3 giờ sau khi uống nước, người bệnh đi tiểu lần cuối vào bô bệnh phẩm. Sau đó, đo và ghi lại tổng thể tích nước tiểu. Lắc đều bô và lấy 10ml nước tiểu vào ống nghiệm đã được định danh, ghi thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

- Chuyển ống nghiệm đến PXN (phòng xét nghiệm) kèm thông tin tổng thể tích nước tiểu của người bệnh trong 3 giờ.

2.4.2. Bảo quản bệnh phẩm:

Bảo quản ở nhiệt độ phòng và xét nghiệm trong vòng 1 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Xét nghiệm tế bào cặn Addis.
- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,0 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm
- Nguyên tắc an toàn:

+ Luôn mặc áo công tác trong quá trình thực hiện công việc.

+ Luôn đeo găng khi tiếp xúc và làm việc trực tiếp với mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện quy định bảo quản, sử dụng hóa chất độc hại

+ Khử khuẩn mặt bàn làm việc trước, trong và sau quá trình xét nghiệm.

+ Thiết bị phòng xét nghiệm phải có dây nối đất; có nguồn điện dự phòng

+ Trang bị, đào tạo nhân viên về phòng, chữa cháy

+ Thực hiện đúng quy định về xử lí rác thải, chống nhiễm khuẩn bệnh viện.

+ Thực hiện rửa tay theo quy trình rửa tay thường quy.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Nhận và kiểm tra bệnh phẩm: đủ 10ml nước tiểu, rõ định danh người bệnh, có thông tin thời gian, người lấy mẫu, tổng thể tích nước tiểu trong 3 giờ.

Bước 2: Li tâm: li tâm ống bệnh phẩm 1500 - 2000 vòng/phút trong 5 phút.

Bước 3: Bỏ 9 ml nước tiểu ở phần trên.

Bước 4: Lấy 1 ml cặn, lắc đều và nhỏ lên buồng đếm tế bào

Bước 5: Đếm số lượng tế bào ở các ô qui định (tùy loại buồng đếm), để được số lượng tế bào trong 1mm^3 nước tiểu.

Bước 6: Tính số lượng hồng cầu, bạch cầu tiểu ra trong 1 phút theo công thức:

+ N x a x 1000/10 hay N x a x 100. Trong đó:

+ N là số lượng tế bào đếm được trong 1 mm3

+ a = V/180 (V là tổng nước tiểu theo ml thu được trong 3 giờ - 180 phút)

+ 10 là 10ml nước tiểu đem ly tâm

+ 1000 là 1000mm^3 = 1ml.

Bước 7: Trả kết quả: trả lời kết quả vào phần mềm.

Bước 8: Xử lý mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm:

+ Bảo quản bệnh phẩm đã xét nghiệm theo quy trình lưu mẫu

+ Cuối giờ làm việc, xử lý các mẫu hết thời gian lưu theo quy trình xử lý chất thải sau xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra và nhận định hình thái tế bào trên kính hiển vi và sau tính toán theo công thức ở bước 5, 6 mục 4.1, nhập vào phần mềm.
- Khoảng tham chiếu: không áp dụng.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả xét nghiệm được trả và lưu trữ trên phần mềm quản lý PXN.

5. SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Đọc, nhập sai thông tin xét nghiệm, thông tin người bệnh; nhận dạng sai bệnh phẩm; vận chuyển, bảo quản sai
- Để tránh sai cần tin học hóa, có quy trình và kiểm tra đúng quy định

5.2. Trong quá trình thực hiện xét nghiệm

- Lỗi thiết bị, lỗi kĩ thuật, hóa chất
- Để tránh cần thực hiện theo quy trình quản lý chất lượng phòng xét nghiệm

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

- Trả sai kết quả, sai thông tin; lưu mẫu, kết quả sai, nhầm lẫn, không bảo mật
- Để tránh sai cần có và thực hiện quy trình chuẩn theo quản lý chất lượng

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm và đánh giá kết quả nội kiểm theo quy định.
- Tham gia, thực hiện và đánh giá kết quả ngoại kiểm/ so sánh liên phòng
- Bảo dưỡng thiết bị định kỳ hàng ngày, tuần và hàng tháng theo quy định.
- Hóa chất, vật tư trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra/ đánh giá theo quy định, đảm bảo chất lượng và đủ cơ số hóa chất, vật tư để thực hiện xét nghiệm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy (2016). Cặn Addis. Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng. Nhà xuất bản Y học.

23. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC DỊCH (NÃO TỦY, MÀNG TIM, MÀNG PHỔI, MÀNG BỤNG, DỊCH KHỚP, RỬA PHẾ QUẢN…) BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đếm và phân tích, đánh giá tính chất các tế bào có trong các loại nước dịch (não tủy, màng tim, màng phổi, màng bụng, dịch khớp, rửa phế quản...) bằng máy phân tích huyết học tự động.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Xét nghiệm tế bào trong nước dịch bằng máy phân tích huyết học tự động là sử dụng máy phân tích huyết học tự động (ở chế độ phân tích nước dịch Body Fluid) để đếm và phân tích, đánh giá thành phần tế bào của các loại dịch gồm: não tủy, màng phổi, màng tim, màng bụng, dịch khớp, dịch rửa phế quản và các loại dịch khác.

1.2.2. Nguyên lý

- Đếm hồng cầu (RBC): Dịch được pha loãng sau đó đưa vào hệ thống đếm tế bào tự động, đếm số lượng hồng cầu theo nguyên tắc đếm hạt dựa trên nguyên lý kháng trở kết hợp nguyên lý quang học với lượng dịch đã được pha loãng biết trước từ đó tính ra số lượng hồng cầu trên 1 đơn vị thể tích dịch cơ thể.

- Nguyên lý đếm bạch cầu (WBC): Pha loãng dịch với dung dịch phá vỡ hồng cầu sau đó đưa vào hệ thống đếm tế bào tự động, đếm số lượng bạch cầu theo nguyên tắc đếm hạt theo nguyên lý kháng trở kết hợp quang học với lượng dịch đã được pha loãng biết trước từ đó tính ra số lượng bạch cầu trên 1 đơn vị thể tích dịch cơ thể.

Phân loại bạch cầu: Theo nguyên lý tế bào dòng chảy (flowcytometry) trên công nghệ laser, các bạch cầu được đưa qua một khe hẹp có chiếu tia laser, nhờ vào khúc xạ ánh sáng thu được máy sẽ phân loại ra các loại bạch cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Vật tư:

- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Ống EDTA K2/K3.
- Giá cắm ống mẫu.
- Lam kính.
- Lam kính cho máy kéo lam tự động.
- Gạc sạch.

2.2.2. Hóa chất:

- Các loại hóa chất phù hợp cho các hệ thống máy phân tích tế bào máu tự động. Tất cả các loại hóa chất chạy máy được bảo quản ở nhiệt độ 15 - 25^{o}C.

- Các chất chuẩn của máy đếm tế bào tự động bảo quản ở nhiệt độ 2 - 8^{o}C.
- Mẫu ngoại kiểm bảo quản ở nhiệt độ 2 – 8^{o}C.
- Cồn tuyệt đối, bảo quản ở nhiệt độ ≤ 25^{o}C.
- Thuốc nhuộm Giemsa, bảo quản ở nhiệt độ ≤ 25^{o}C.
- Dầu soi.

2.2.3. Khác:

- Dung dịch sát khuẩn
- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng rác thải y tế, rác thải thông thường và rác thải tái chế.

2.3. Trang thiết bị

- Các hệ thống máy phân tích tế bào máu tự động.
- Máy ly tâm.
- Máy nhuộm tiêu bản bán tự động.
- Kính hiển vi quang học
- Tủ lạnh lưu hóa chất, chất chuẩn; tủ lưu bệnh phẩm sau xét nghiệm.
- Hệ thống máy tính có kết nối mạng LAN, máy in, máy in code, đầu đọc code.
- Hệ thống vận chuyển, phân loại, lưu trữ mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 1,8 – 2,2 ml dịch cơ thể trong ống chống đông bằng EDTA K2/K3
- Bảo quản bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng (20 – 25^{o}C) và tiến hành xét nghiệm trong vòng 1 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Xét nghiệm tế bào trong nước dịch (não tủy, màng tim, màng phổi, màng bụng, dịch khớp, rửa phế quản...) bằng máy.
- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm
- Nguyên tắc an toàn:

+ Luôn mặc áo công tác trong quá trình thực hiện công việc.
+ Luôn đeo găng khi tiếp xúc và làm việc trực tiếp với mẫu bệnh phẩm.
+ Thực hiện quy định bảo quản, sử dụng hóa chất độc hại
+ Khử khuẩn mặt bàn làm việc trước, trong và sau quá trình xét nghiệm.
+ Thiết bị phòng xét nghiệm phải có dây nối đất; có nguồn điện dự phòng
+ Trang bị, đào tạo nhân viên về phòng, chữa cháy
+ Thực hiện đúng quy định về xử lí rác thải bệnh viện.
+ Thực hiện rửa tay theo quy trình rửa tay thường quy.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Khởi động, kiểm tra chất lượng máy phân tích huyết học; máy nhuộm tiêu bản bán tự động theo quy định.

Bước 2. Nhận và đánh giá ống bệnh phẩm:

- Nhận mẫu và đánh giá chất lượng mẫu theo quy định.

- Phân phối hóa chất phù hợp và vận hành máy phân tích huyết học tự động.

- Ống bệnh phẩm được đưa vào vận hành trên các máy phân tích huyết học tự động theo đúng chế độ phân tích dịch cơ thể (Body Fluid).

Bước 3. Vận hành máy phân tích huyết học tự động: Theo các qui trình hướng dẫn sử dụng máy phân tích huyết học tự động.

Bước 4. Tiến hành kỹ thuật làm tiêu bản nước dịch:

- Để ống nghiệm dịch lắng tự nhiên hoặc ly tâm lấy cặn.

- Nhỏ 1 giọt cặn lên lam kính sạch.

- Dùng đầu nhẵn của lam kéo hoặc đáy nhẵn của ống nghiệm khô sạch di giọt bệnh phẩm nhẹ nhàng theo hình tròn đồng tâm, đường kính 2 – 2,5 cm.

- Để tiêu bản lên bàn sấy hoặc để khô tự nhiên.

- Đánh dấu lên đầu tiêu bản bằng bút đánh dấu.

- Cố định tiêu bản bằng cồn tuyệt đối.

- Để tiêu bản lên bàn sấy hoặc để khô tự nhiên.

Bước 5. Vận hành máy nhuộm tiêu bản bán tự động: Theo quy trình hướng dẫn sử dụng trên máy nhuộm tiêu bản bán tự động.

(Nhuộm Giêmsa, đọc hiển vi thủ công nếu không có máy nhuộm tự động)

Bước 6. Kiểm tra tiêu bản và xác nhận kết quả: Kiểm tra và xác nhận các kết quả do máy đưa ra (có chỉnh sửa nếu cần thiết). Nhận định về số lượng hồng cầu; số lượng, công thức bạch cầu và các loại tế bào khác trong nước dịch.

4.1.2. Xử lý mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm:

+ Lưu bệnh phẩm đã xét nghiệm 2-4 ngày ở 2-8 ^{o}C theo quy định lưu mẫu

+ Xử lý mẫu hết hạn lưu theo quy trình xử lý chất thải sau xét nghiệm

4.2. Nhận định kết quả

- Kiểm tra kết quả, nếu đạt: in và kí xác nhận kết quả, trên giấy hoặc ký số

- Nếu máy báo lỗi: tìm lại mẫu, tìm nguyên nhân và xử lý.

- Nhận định kết quả: dựa theo khoảng tham chiếu

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả xét nghiệm được trả và lưu trữ trên phần mềm quản lý của PXN.

5. SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Đọc/ nhập sai yêu cầu chỉ định, nhận dạng sai người bệnh/ bệnh phẩm.

- Lấy bệnh phẩm sai, bảo quản/ vận chuyển mẫu không đúng.

- Phòng: áp dụng công nghệ thông tin, tập huấn cho nhân viên (nếu có thể, sử dụng hệ thống vận chuyển, phân loại mẫu tự động).

5.2. Trong quá trình thực hiện xét nghiệm:

- Thiết bị gặp sự cố, sai kĩ thuật; hóa chất, sinh phẩm hỏng.

- Phòng: Tuân thủ quy trình (SOP), theo quản lý chất lượng phòng xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

- Trả kết quả không đúng người bệnh, chậm (khi trả kết quả bản giấy).

- Lưu mẫu không đúng quy định:

Xử trí: Thực hiện quy trình, có kiểm tra và trả kết quả online.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm và đánh giá kết quả nội kiểm theo quy định.
- Tham gia, thực hiện và đánh giá kết quả ngoại kiểm/so sánh liên phòng
- Bảo dưỡng máy định kỳ hàng ngày, hàng tuần và hàng tháng theo quy định.
- Hóa chất, vật tư trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra/đánh giá theo quy định, đảm bảo chất lượng và đủ cơ số hóa chất, vật tư để thực hiện xét nghiệm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy. Xét nghiệm tế bào trong dịch não tủy. Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, chủ biên: Đỗ Trung Phấn. Nhà xuất bản Y học, 2016, trang 63 - 65.

2. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy. Xét nghiệm tế bào trong dịch màng phổi. Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, chủ biên: Đỗ Trung Phấn. Nhà xuất bản Y học, 2016, trang 65 – 66.

3. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy. Xét nghiệm tế bào trong dịch màng bụng. Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, chủ biên: Đỗ Trung Phấn. Nhà xuất bản Y học, 2016, trang 66 – 67.

4. Trương Công Duẩn, Trần Thị Hồng Thủy. Xét nghiệm tế bào trong dịch khớp và bao khớp. Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, chủ biên: Đỗ Trung Phấn. Nhà xuất bản Y học, 2016, trang 67 – 68.

5. Hướng dẫn sử dụng máy phân tích huyết học tự động.

24. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU CHẢY BẰNG PHƯƠNG PHÁP DUKE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá sơ bộ giai đoạn cầm máu kì đầu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo thời gian từ lúc tạo một vết thương chuẩn ở vùng giữa dái tai đến khi máu ngừng chảy. Đây là xét nghiệm đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y/ Điều dưỡng.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Đồng hồ bấm giây.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch sát trùng (ether, cồn).
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Kim chích (Blood lancet).
- Đồng hồ bấm giây.
- Giấy thấm.
- Bông thấm.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị người bệnh:

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 30 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thủ thuật.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ , hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Người thực hiện đội mũ, đeo khẩu trang, găng tay.
- Chuẩn bị hóa chất, vật tư đầy đủ.
- Người bệnh ở tư thế nằm hoặc ngồi, thoải mái.

- Sát trùng vùng dái tai bằng cồn hoặc ether.
- Dùng kim chích tạo một vết thương chuẩn theo quy định.
- Khởi động đồng hồ bấm giây.
- Dùng giấy thấm, thấm máu chảy ra từ vết chích 30 giây 1 lần, cho đến khi máu ngừng chảy. Bấm đồng hồ dừng lại.
- Ghi lại kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Thời gian máu chảy (phút) là khoảng thời gian được tính từ khi tạo vết chích đến khi máu ngừng chảy.
- Nếu thời gian máu chảy trên 5 phút, nên kiểm tra bên đối diện hoặc thực hiện bằng phương pháp Ivy.
- Nhập kết quả vào phiếu trả kết quả hoặc hệ thống phần mềm xét nghiệm.
- In kết quả, bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả.
- Biện luận kết quả:

+ Bình thường: thời gian máu chảy dưới 5 phút.

- Thời gian máu chảy kéo dài có thể gặp trong các trường hợp bệnh lý như:

+ Giảm số lượng tiểu cầu.
+ Bất thường chức năng tiểu cầu (bẩm sinh, mắc phải).
+ Bất thường fibrinogen.
+ Bệnh von Willebrand.
+ Giảm sức bền thành mạch.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kích thước vết chích không đạt tiêu chuẩn, quá nông hoặc quá sâu.
- Đâm vào mạch máu.
- Động tác thấm máu từ vết chích quá mạnh, gây bong nút tiểu cầu vừa mới hình thành.
- Cồn tại vị trí sát trùng chưa khô, gây giãn mạch, làm thời gian máu chảy kéo dài.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. PGS.TS. Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ. Thời gian máu chảy. Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng tr.76. NXB Y học (2016)

25. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU CHẢY BẰNG PHƯƠNG PHÁP IVY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá sơ bộ giai đoạn cầm máu kì đầu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu bằng cách đo thời gian từ lúc tạo vết thương chuẩn vùng mặt trong cẳng tay đến khi máu ngừng chảy sau khi tạo áp lực dương ở vùng này.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y/Điều dưỡng.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Máy đo huyết áp.
- Đồng hồ bấm giây.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch sát trùng (ether, cồn).
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Kim chích chuyên dụng.
- Đồng hồ bấm giây.
- Giấy thấm, bông thấm.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.
- Phần mềm HIS, LIS (nếu sử dụng).

2.3. Trang thiết bị

Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

2.4. Chuẩn bị người bệnh:

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 30 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thủ thuật.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Người thực hiện đội mũ, đeo khẩu trang, găng tay.
- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Người bệnh ở tư thế nằm hoặc ngồi, thoải mái.
- Dùng máy đo huyết áp, bơm áp lực 40 mmHg và giữ ổn định.
- Chọn một vùng mặt trước cẳng tay (không có lông, sẹo, không xuất huyết, không phù, không nhìn thấy mạch máu) sát trùng bằng cồn 70^0.
- Đợi 1 – 2 phút cho cồn bay hơi, tạo 3 vết chích có kích thước như nhau, cách nhau khoảng 2 cm và có độ sâu khoảng 3mm.
- Khởi động đồng hồ ngay khi tạo được các vết chích.
- Dùng giấy thấm, thấm máu chảy ra từ vết chích 30 giây 1 lần cho đến khi máu ngừng chảy. Bấm đồng hồ dừng lại.
- Ghi thời gian máu chảy của từng vết chích.

4.2. Nhận định kết quả

- Thời gian máu chảy là thời gian trung bình của 3 vết chích.
- Nhập kết quả vào phiếu trả kết quả/hệ thống phần mềm xét nghiệm.
- In kết quả, bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả.
- Biện luận kết quả:

+ Bình thường: thời gian máu chảy dưới 7 phút.

- Thời gian máu chảy kéo dài có thể gặp trong các trường hợp bệnh lý như:

+ Giảm số lượng tiểu cầu.
+ Bất thường chức năng tiểu cầu (bẩm sinh, mắc phải).
+ Bất thường fibrinogen.
+ Bệnh von Willebrand.
+ Giảm sức bền thành mạch.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kích thước vết chích không đạt tiêu chuẩn, quá nông hoặc quá sâu.
- Đâm vào mạch máu.
- Động tác thấm máu từ vết chích quá mạnh, gây bong nút tiểu cầu vừa mới hình thành.
- Cồn tại vị trí sát trùng chưa khô, gây giãn mạch, làm thời gian máu chảy kéo dài.
- Giữ băng huyết áp không ổn định ở 40 mmHg.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. PGS.TS. Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ. Thời gian máu chảy. Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng tr.76. NXB Y học (2016)

3. Russeau AP, Vall H, Manna B. Bleeding Time. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed September 27, 2023.

26. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN PROTHROMBIN (PT: Prothrombin Time hoặc Thời gian Quick) BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá con đường đông máu ngoại sinh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

PT là một trong những xét nghiệm được sử dụng rộng rãi để đánh giá đường đông máu ngoại sinh. Thời gian prothrombin (PT) được thực hiện bằng cách bổ sung vào huyết tương người bệnh đã được chống đông bằng natri citrate một lượng thuốc thử chứa thromboplastin (bao gồm yếu tố tổ chức và phospholipid) và canxi nhằm kích hoạt con đường đông máu ngoại sinh. Thời gian đông được đo từ khi cho thuốc thử có chứa canxi tới khi màng đông xuất hiện.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm PT gồm thromboplastin và canxi.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm PT trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả PT được báo cáo dưới dạng đơn vị giây, % và INR

+ INR = (PT người bệnh/PT chứng)$^{\wedge ISI}$

INR: International Normalize ratio: Tỷ số chuẩn hóa quốc tế

ISI: Chỉ số độ nhạy

PTc: PT chứng, phòng xét nghiệm cần xây dựng giá trị PT chứng dựa trên thu thập tối thiểu 20 mẫu PT của người bình thường khi có sự thay đổi hóa chất.

+ Ý nghĩa của INR: giảm sự khác biệt về xét nghiệm PT liên quan đến hóa chất và công nghệ đo. Thường được sử dụng trong theo dõi điều trị chống đông nhóm kháng vitamin K.

+ Bình thường: PT 70 – 140%. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ PT kéo dài có thể gặp trong các trường hợp bệnh lý như:

- Thiếu yếu tố đông máu đường ngoại sinh trong các bệnh lý bẩm sinh như thiếu yếu tố VII hoặc mắc phải (bệnh gan, tiêu thụ, thiếu yếu tố đông máu phụ thuộc vitamin K...).
- Người bệnh điều trị thuốc chống đông.
- Có chất ức chế đông máu đường ngoại sinh: trong các bệnh tự miễn.

+ PT ngắn có thể gặp trong trường hợp tăng đông, tăng nồng độ các yếu tố đông máu, điều trị yếu tố VIIa.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. PGS.TS. Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ, Thời gian Prothrombin, Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội (2016), tr. 81 - 82.
3. Nigel Key (2009), *Labolatory tests of hemostasis*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 7 – 16.
4. Nigel Key (2009), *Reference ranges*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 297 – 304.
5. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

27. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN THROMBIN (TT: THROMBIN TIME)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá đường đông máu chung.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Thrombin có tác dụng chuyển fibrinogen thành fibrin, tạo cục máu đông. Sử dụng thrombin nồng độ thích hợp để đo thời gian hình thành fibrin sẽ cho phép đánh giá con đường đông máu chung về khả năng và tốc độ chuyển fibrinogen thành fibrin.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm thrombin time chứa thrombin nồng độ vừa đủ.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm thrombin time trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả xét nghiệm thời gian thrombin được báo cáo dưới dạng đơn vị giây (s) và tỷ lệ TT bệnh/chứng.

+ Bình thường TTr 0,85 – 1,25. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ TT kéo dài trong một số trường trường hợp như:

- Thiếu fibrinogen hoặc bất thường chức năng bẩm sinh hoặc mắc phải.
- Tăng sản phẩm thoái giáng của fibrin/fibrinogen do ức chế trùng hợp.
- Dùng thuốc chống đông như heparin UFH, ức chế IIa trực tiếp.
- Tăng globulin.

+ TT ngắn có thể gặp trong tăng fibrinogen.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
3. Nigel Key (2009), *Labolatory tests of hemostasis*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 7 – 16.
4. Nigel Key (2009), *Reference ranges*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 297 – 304.
5. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

28. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN THROMBOPLASTIN MỘT PHẦN HOẠT HOÁ (APTT: Activated Partial Thromboplastin Time) BẰNG MÁY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá con đường đông máu nội sinh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

APTT là xét nghiệm được sử dụng để đánh giá đường đông máu nội sinh. Bổ sung một lượng hóa chất APTT chứa thành phần phospholipid tổng hợp thay thế cho yếu tố 3 tiểu cầu và chất kích hoạt hệ thống tiếp xúc vào mẫu huyết tương nghèo tiểu cầu đã được chống đông bằng natri citrate, ủ ở 37^0C trong một khoảng thời gian nhất định. Bổ sung thêm canxi để kích hoạt con đường đông máu nội sinh. Thời gian từ lúc cho canxi vào đến khi fibrin hình thành chính là thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm APTT chứa phospholipid tổng hợp và chất điện tích âm hoạt hóa yếu tố tiếp xúc như silica, acid ellagic...
- Canxi.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm APTT trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả APTT được báo cáo dưới dạng đơn vị giây và APTT bệnh/chứng (APTTr).

+ APTTr =APTTNgười bệnh/APTTChứng.

+ Bình thường: APTTr 0,8 – 1,2. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+APTT kéo dài có thể giảm trong các trường hợp bệnh lý như:

- Thiếu yếu tố đông máu đường nội sinh trong các bệnh lý bẩm sinh như hemophilia hoặc mắc phải (tiêu thụ yếu tố đông máu, hemophilia mắc phải..)
- Người bệnh điều trị thuốc chống đông
- Có chất ức chế đông máu đường nội sinh như trong hội chứng antiphospholipid, nhiễm trùng...

+ APTT ngắn có thể gặp trong trường hợp tăng đông, tăng nồng độ các yếu tố đông máu nội sinh.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Đỗ Trung Phấn, Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa, Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội (2016), tr. 83 - 84.

3. Nigel Key (2009), *Labolatory tests of hemostasis*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 7 – 16.

4. Nigel Key (2009), *Reference ranges*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 297 – 304.

5. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

29. XÉT NGHIỆM NGHIỆM PHÁP VON - KAULLA (VON KAULLA TEST)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá mức độ hoạt động của hệ thống tiêu sợi huyết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khi huyết tương được pha loãng và acid hóa sẽ làm tủa fibrinogen và các yếu tố hoạt hóa hệ thống tiêu sợi huyết (plasminogen, t PA), các chất ức chế tiêu sợi huyết và yếu tố VII còn lại rất ít. Do vậy, khi tủa này được làm đông, cục đông sẽ bị tiêu nhanh hơn so với bình thường. Dựa vào tính chất này, người ta tiến hành theo dõi thời gian tan của tủa đã được làm đông để đánh giá hoạt động của hệ thống tiêu sợi huyết.

- Nghiệm pháp Von Kaulla cho phép đánh giá tình trạng tiêu sợi huyết ở người bệnh, đặc biệt trong những trường hợp tiêu sợi huyết cấp tính và ở những cơ sở không thể tiến hành những kỹ thuật xét nghiệm chuyên sâu về đánh giá tình trạng bệnh lý này.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Đũa thủy tinh.
- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Acid acetic 2%.
- Đệm Michaelis pH 7,35.
- NaCl 0,9%.
- CaCl2 M/10.
- Nước cất.
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống nghiệm tan máu.
- Parafilm.
- Đũa thủy tinh.
- Giấy thấm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.

- Bình cách thủy.
- Đồng hồ bấm giây.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng).
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm mẫu máu toàn phần để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Chuẩn bị hóa chất Michaelis pH 7,35 pha loãng trong dung dịch NaCl 0,9%.

- Chuẩn bị máy ống chứng và ống người bệnh:

+ Chứng: phân phối 0,3 ml huyết tương của mẫu chứng.

+ Bệnh + chứng: 0,15 ml huyết tương của mẫu chứng + 0,15 ml huyết tương của người bệnh.

+ Mẫu bệnh: 0,3 ml huyết tương của người bệnh.

- Kiểm soát chất lượng:

+ Thực hiện mẫu chứng ngay khi thực hiện xét nghiệm cho người bệnh. Đánh giá kết quả thu được, nếu thời gian tan của cục đông của mẫu chứng trên 60 phút là đạt yêu cầu thì công nhận kết quả của mẫu người bệnh.

- Thực hiện xét nghiệm:

+ Cho thêm vào mỗi ống chứng, ống bệnh + chứng và ống bệnh mỗi ống 3 ml nước cất

+ Cho thêm vào mỗi ống một giọt acid acetic 2%.

+ Dùng parafilm bịt kín ống nghiệm.

+ Ly tâm 3 ống với tốc độ 1500 g/phút trong 30 phút

+ Loại bỏ dịch nổi, giữ lại phần tủa

+ Dùng giấy thấm làm khô ống nghiệm để loại bỏ hết dịch thừa

+ Cho vào 300µl dung dịch đệm Michaelis pH 7,35 đã pha loãng 1/4 với dung dịch NaCl 0,9%.

+ Dùng đũa thủy tinh đánh tan tủa.

+ Cho thêm vào 1 giọt $CaCl_2$ M/10

+ Đặt ống nghiệm vào bình cách thuỷ 37^oC

+ Bấm đồng hồ theo dõi thời gian tan hoàn toàn kể từ khi đông, 15 phút theo dõi 1 lần, trong 60 phút.

+ Trong trường hợp fibrinogen của mẫu bệnh thấp, không đông được, theo dõi ống bệnh + chứng để đánh giá kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả: Đánh giá kết quả dựa vào mức độ tan của cục đông:

+ Trước 15 phút: Tiêu sợi huyết tối cấp.

+ 15-30 phút: Tiêu sợi huyết cấp.

+ 30-45 phút: Tiêu sợi huyết bán cấp.

+ 45-60 phút: Tiêu sợi huyết tiềm tàng.

+ Trên 60 phút: Bình thường.

- Mẫu huyết tương chứng đạt khi: Thời gian tan của cục đông trên 60 phút. Nếu mẫu huyết tương chứng không đạt điều tra nguyên nhân và thực hiện ngay các hành động khắc phục, thực hiện lại xét nghiệm với mẫu chứng cho đến khi kết quả đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh.

- Mẫu người bệnh: Giá trị bình thường > 60 phút.

- Diễn giải kết quả bất thường: tiêu sợi huyết có thể gặp trong các trường hợp: DIC, rắn độc cắn, thuốc tiêu sợi huyết,...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ống nghiệm không sạch, ...

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: huyết tương đục, vỡ hồng cầu, mẫu đông.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Dụng cụ làm xét nghiệm không sạch.
- Tủ lạnh, bình cách thủy không đảm bảo nhiệt độ.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng theo dõi nhiệt độ tủ lạnh theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện mẫu chứng đồng thời khi thực hiện xét nghiệm cho người bệnh, kết quả đạt.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. GS.TS. Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ *"Nghiệm pháp Von Kaulla*", Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội, Tr 85 – 86.

2. Von Kaulla KN, Von Kaulla E *"Remarks on the Euglobulin lysis time*", Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombosis, Vol 1, Raven Press, Newyork 1975.

3. Von Kaulla KN, Schultz RL "*Method for evaluation of human fibrinolysis*", Am J Clin Pathol 29: 104 – 112, 1958.

30. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN PLASMINOGEN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo nồng độ kháng nguyên của plasminogen trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Plasminogen là dạng tiền chất của plasmin – một chất có vai trò quan trọng trong tiêu sợi huyết. Thiếu plasminogen là một yếu tố nguy cơ huyết khối.

Nồng độ kháng nguyên plasminogen có thể xác định bằng phương pháp ELISA. Plasminogen trong huyết tương người bệnh được cố định với kháng thể trên bề mặt giếng ELISA, sau đó lại được kết hợp với kháng thể kháng plasminogen gắn men xúc tác phản ứng tạo màu. Mật độ quang đo được sau phản ứng tương ứng với nồng độ plasminogen trong huyết tương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng plasminogen.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm ELISA.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng).

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng plasminogen trên hệ thống máy xét nghiệm theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ plasminogen được báo cáo dưới dạng % hoặc tương đương.

+ Bình thường nồng độ plasminogen trong huyết tương nằm khoảng 150 - 250 ng/L. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ plasminogen giảm trong: thiếu plasminogen bẩm sinh, bệnh gan, DIC, điều trị thuốc như tranexamic, L-asparaginase, thuốc tiêu sợi huyết...

+ Nồng độ plasminogen tăng trong nhiễm trùng, phản ứng viêm, phụ nữ có thai, chảy máu, ung thư, suy giáp, điều trị steroid, dùng thuốc tránh thai…

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5 (2008). Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Keragala CB, Medcalf RL (2021). Plasminogen: an enigmatic zymogen. *Blood*;137(21):2881-2889. doi:10.1182/blood.2020008951

3. Plasminogen deficiency - MEHTA - 2008 - Haemophilia - Wiley Online Library. Accessed September 19, 2023. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2516.2008.01825.x

4. Aĭsina RB, Mukhametova LI. [Structure and functions of plasminogen/plasmin system]. *Bioorg Khim*. 2014;40(6):642-657. doi:10.1134/s1068162014060028

5. Tait, R.C., Walker, I.D., Conkie, J.A., Islam, S., McCall, F., Mitchell, R. & Davidson, J.F. (1992) Plasminogen levels in healthy volunteers - Influence of age, sex, smoking and oral contraceptives. Thrombosis and Haemostasis 68, 506-510.

31. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PLASMINOGEN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo nồng độ hoạt tính của plasminogen trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Plasminogen là dạng tiền chất của plasmin – một chất có vai trò quan trọng trong tiêu sợi huyết. Thiếu plasminogen là một yếu tố nguy cơ huyết khối.

- Hoạt tính plasminogen có thể xác định bằng phương pháp so màu: sử dụng streptokinase để hoạt hóa plasminogen có trong huyết tương cần kiểm tra, sau đó phức hợp plasminogen – streptokinase được phát hiện bằng cơ chất tạo màu và tỷ lệ thuận với hoạt tính Plasminogen trong mẫu xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng hoạt tính plasminogen.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng plasminogen trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả plasminogen được báo cáo dưới dạng % hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường hoạt tính plasminogen trong khoảng 80 – 132,5%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ plasminogen giảm trong: thiếu plasminogen bẩm sinh, bệnh gan, DIC, điều trị thuốc như tranexamic, L-asparaginase, thuốc tiêu sợi huyết...

+ Nồng độ plasminogen tăng trong nhiễm trùng, phản ứng viêm, phụ nữ có thai, chảy máu, ung thư, suy giáp, điều trị steroid, dùng thuốc tránh thai…

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Keragala CB, Medcalf RL. Plasminogen: an enigmatic zymogen. *Blood*. 2021;137(21):2881-2889. doi:10.1182/blood.2020008951

3. Plasminogen deficiency - MEHTA - 2008 - Haemophilia - Wiley Online Library. Accessed September 19, 2023. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2516.2008.01825.x

4. Aĭsina RB, Mukhametova LI. [Structure and functions of plasminogen/plasmin system]. *Bioorg Khim*. 2014;40(6):642-657. doi:10.1134/s1068162014060028

32. ĐỊNH LƯỢNG ANTI Xa VỚI THUỐC KHÁNG Xa TRỰC TIẾP

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng kháng yếu tố Xa ở người bệnh dùng thuốc chống đông nhóm kháng Xa trực tiếp.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Thuốc chống đông tác dụng ức chế Xa trực tiếp như rivaroxaban được sử dụng trong dự phòng và điều trị huyết khối. Xác định hoạt tính kháng yếu tố X hoạt hóa (Xa) được dùng để theo dõi điều trị.

- Dựa vào lượng yếu tố Xa bị ức chế bởi thuốc ức chế trực tiếp trong mẫu khi bổ sung một lượng dư thừa yếu tố Xa, từ đó xác định được hoạt tính ức chế Xa trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm anti Xa;
- Hóa chất nội kiểm;
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có);
- Hóa chất hiệu chuẩn;
- Dung dịch rửa;
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate;
- Bơm kim tiêm;
- Cuvette;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu; bảo quản mẫu ở 15-25^{o}C, xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Lưu ý: Thời điểm lấy mẫu cho mục đích xác định nồng độ đỉnh và đáy của thuốc căn cứ vào dược động học của thuốc.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm Anti Xa trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả anti Xa với thuốc kháng Xa trực tiếp được báo cáo dưới dạng đơn vị ng/ml hoặc tương đương.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin sử dụng thuốc kháng Xa và lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Xét nghiệm dùng để theo dõi nồng độ thuốc ức chế Xa trực tiếp như rivaroxaban, để đánh giá đáp ứng với thuốc.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng
- Máy xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Meihandoest T, Studt JD, Mendez A, et al. Accuracy of a Single, Heparin-Calibrated Anti-Xa Assay for the Measurement of Rivaroxaban, Apixaban, and Edoxaban Drug Concentrations: A Prospective Cross-Sectional Study. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:817826. doi:10.3389/fcvm.2022.817826
2. Willekens G, Studt J, Mendez A, et al. A universal anti-Xa assay for rivaroxaban, apixaban, and edoxaban measurements: method đánh giáation, diagnostic accuracy and external đánh giáation. *Br J Haematol*. 2021;193(6):1203-1212. doi:10.1111/bjh.17470
3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition

33. ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ D-dimer.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Định nghĩa: là phương pháp định lượng D-dimer trong máu - một sản phẩm thoái giáng fibrin, dựa trên nguyên lý miễn dịch đo độ đục bằng máy xét nghiệm đông máu.

- Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch bao gồm các hạt latex đã được gắn kháng thể đặc hiệu với kháng kháng nguyên D-dimer, D-dimer trong huyết tương của người bệnh sẽ được gắn kháng thể đặc hiệu ở trên các hạt latex dẫn tới hiện tượng ngưng kết, mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ D-dimer trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm D-dimer chứa hạt latex được phủ bởi kháng thể đơn dòng kháng D-dimer, dung dịch đệm;
- Hóa chất nội kiểm;
- Hóa chất hiệu chuẩn;
- Dung dịch rửa;
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate;
- Bơm kim tiêm;
- Cuvette;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo chất lượng.

+ Thực hiện xét nghiệm D-dimer trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

+ Trường hợp quá ngưỡng đo: Pha loãng huyết tương (thủ công/tự động) hoặc thực hiện trên hệ thống máy có dải đo rộng hơn.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả D-dimer được báo cáo dưới dạng đơn vị với ng/ml hoặc tương đương. Đơn vị D-dimer có thể là FEU hoặc DDU, 1 FEU ≈ 2 DDU.

+ Bình thường: D-dimer < 500ng/ml (Đơn vị FEU)

+ Ngưỡng của D-dimer thay đổi theo tuổi: 10 x tuổi (áp dụng với bệnh nhân trên 50 tuổi)

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm

+ D-Dimer tăng trong các trường hợp DIC, tiêu sợi huyết, huyết khối, có thai, nhiễm trùng...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF), dị kháng thể.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrat theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. Er Eric D. Johnsonic et al, *"The D-dimer assay"* (2019) Am J Hematol.;94:833–839
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Quantitative D-dimer for the exclusion of venous thromboembolic disease; approved guideline*. (2011); CLSI document H59-A:31(6).
4. Favresse J, Lippi G, Roy PM, et al. D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(8):548-577. doi:10.1080/10408363.2018.1529734

5.H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition

34. ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ D-dimer, khi D-dimer vượt quá dải đo thông thường với phương pháp xét nghiệm khác.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Định nghĩa: là phương pháp định lượng nồng độ D-dimer trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang.

- Nguyên lý: Các hạt từ được phủ kháng thể đơn dòng đặc hiệu với kháng nguyên D-dimer khi ủ cùng huyết tương của người bệnh, D-dimer trong huyết tương sẽ gắn với kháng thể đặc hiệu phủ trên hạt từ (pha rắn). Sau đó kháng kháng thể đặc hiệu với D-dimer có gắn chất phát quang được bổ sung vào hỗn hợp trên. Phản ứng giữa *"Kháng thể đặc hiệu D-dimer (có gắn từ tính) - D-dimer - kháng thể đặc hiệu D-dimer (có gắn chất phát quang)"* xảy ra. Phản ứng phát quang được hoạt hóa và mức độ phát quang được đo thông qua hệ thống quang học sẽ tỷ lệ thuận với nồng độ D-dimer trong mẫu huyết tương của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm D-dimer gồm.

+ Dung dịch chứa hạt từ được phủ bởi kháng thể đơn dòng kháng D-Dimer.

+ Dung dịch chứa kháng thể đặc hiệu với D-dimer có gắn chất phát quang.

+ Dung dịch đệm chứa các chất khởi phát phản ứng phát quang.

- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.

- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu hoạt động trên nguyên lý miễn dịch hóa phát quang;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu.
- Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu. Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm..
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm D-dimer trên hệ thống máy xét nghiệm theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả.

+ Kết quả D-dimer được báo cáo dưới dạng đơn vị với ng/ml hoặc tương đương. Đơn vị D-dimer có thể là FEU hoặc DDU, 1 FEU ≈ 2 DDU.

+ Bình thường: D-dimer < 500ng/ml (Đơn vị FEU).

+ Ngưỡng của D-dimer thay đổi theo tuổi: 10 x tuổi (áp dụng với bệnh nhân trên 50 tuổi).

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ D-Dimer tăng trong các trường hợp DIC, tiêu sợi huyết, huyết khối, có thai, nhiễm trùng...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF), dị kháng thể.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.

- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. Er Eric D. Johnsonic et al, *"The D-dimer assay"* (2019) Am J Hematol.;94:833–839
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Quantitative D-dimer for the exclusion of venous thromboembolic disease; approved guideline*. (2011); CLSI document H59-A:31(6).
4. Favresse J, Lippi G, Roy PM, et al. D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2018;55(8):548-577. doi:10.1080/10408363.2018.1529734

5.H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition

35. BÁN ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER BẰNG NGƯNG KẾT LATEX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Bán định lượng nồng độ D-dimer – một sản phẩm thoái giáng của fibrin trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm bán định lượng D-dimer được thực hiện dựa trên nguyên lý ngưng kết hạt latex.

Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch bao gồm các hạt latex đã được gắn kháng thể đặc hiệu với kháng kháng nguyên D-dimer, D-dimer trong huyết tương sẽ được gắn kháng thể đặc hiệu ở trên các hạt latex dẫn tới hiện tượng ngưng kết, các đám ngưng kết có thể quan sát được bằng mắt thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm bán định D-dimer gồm các hạt latex được phủ bởi kháng thể kháng D-dimer, dung dịch đệm.
- Mẫu chứng âm, chứng dương.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Phiến xét nghiệm, thanh khuấy (dùng 1 lần).
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Phân phối lần lượt huyết tương người bệnh, chứng âm, chứng dương vào các vị trí nhỏ mẫu trên phiến xét nghiệm.

- Phân phối dung dịch chứa hạt latex được phủ kháng thể kháng D-dimer vào vị trí nhỏ mẫu trên phiến, trộn đều bằng thanh khuấy.

- Quan sát, so sánh ngưng kết ở mẫu người bệnh, chứng âm và chứng dương.

- Dựa vào hiện tượng ngưng kết để đọc kết quả, nếu có ngưng kết, D-dimer > 500 ng/ml. Tiếp tục pha loãng mẫu bằng dung dịch đệm, và thực hiện quy trình tương tự như trên để xác định mức độ tăng của D-dimer.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả nội kiểm: mẫu chứng âm, chứng dương đạt, chấp nhận kết quả.

- Đọc kết quả và nhận định kết quả: Kết quả D-dimer được báo cáo dưới dạng khoảng nồng độ:

+ Bình thường: D-dimer < 500ng/ml (Đơn vị FEU)

+ Ngưỡng của D-dimer thay đổi theo tuổi: 10 x tuổi (≥50 tuổi)

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ D-Dimer tăng trong các trường hợp: DIC, tiêu sợi huyết, huyết khối, có thai, nhiễm trùng...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Yếu tố thấp (RF), dẫn đến dương tính giả.

Giải pháp: Nếu nghi ngờ, cần khẳng định bằng phương pháp ít bị ảnh hưởng bởi RF.

+ Người bệnh có fibrinogen tăng cao (> 9G/L) có thể ảnh hưởng đến đánh giá mức độ ngưng kết.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt

- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Er Eric D. Johnsonic et al, *"The D-dimer assay"* (2019) Am J Hematol.;94:833–839

3. Schutgens REG, Esseboom EU, Haas FJLM, Nieuwenhuis HK, Biesma DH. Usefulness of a semiquantitative D-dimer test for the exclusion of deep venous thrombosis in outpatients. *Am J Med*. 2002;112(8):617-621. doi:10.1016/s0002-9343(02)01115-4

4. D-Di TEST - Latex agglutination slide test for the quanlitative and semi-quantitative determination of D-dimer, DIAGNOSTICA STAGO

36. BÁN ĐỊNH LƯỢNG FDP BẰNG NGƯNG KẾT LATEX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Bán định lượng nồng độ FDP – sản phẩm thoái giáng của fibrin/fibrinogen trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm bán định lượng FDP được thực hiện dựa trên nguyên lý ngưng kết hạt latex.

Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch bao gồm các hạt latex đã được gắn kháng thể đặc hiệu với kháng kháng nguyên FDP, FDP trong huyết tương của người bệnh sẽ được gắn kháng thể đặc hiệu ở trên các hạt latex dẫn tới hiện tượng ngưng kết, các đám ngưng kết có thể quan sát được bằng mắt thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm bán định FDP gồm các hạt latex được phủ bởi kháng thể kháng FDP, dung dịch đệm.
- Mẫu chứng âm, chứng dương.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Phiến xét nghiệm, thanh khuấy (dùng 1 lần).
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Huyết tương của người bệnh được pha loãng, thường ở 2 tỷ lệ là 1/2 và 1/8

- Phân phối lần lượt huyết tương người bệnh (đã pha loãng), chứng âm, chứng dương vào các vị trí nhỏ mẫu trên phiến xét nghiệm.

- Phân phối dung dịch chứa hạt latex được phủ kháng thể kháng FDP vào vị trí nhỏ mẫu trên phiến, trộn đều bằng thanh khuấy.

- Quan sát, so sánh ngưng kết ở mẫu người bệnh, chứng âm và chứng dương.

- Dựa vào hiện tượng ngưng kết để đọc kết quả, nếu có ngưng kết FDP > 2,5µg/ml. Có thể tiếp tục pha loãng mẫu bằng dung dịch đệm, và thực hiện quy trình tương tự như trên để xác định mức độ tăng của FDP.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả nội kiểm: Mẫu chứng âm, chứng dương đạt, chấp nhận kết quả.
- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả D-dimer được báo cáo dưới dạng khoảng nồng độ.

+ Bình thường: FDP < 5µg /ml.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ FDP tăng trong các trường hợp: DIC, tiêu sợi huyết, huyết khối, có thai, nhiễm trùng...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Yếu tố thấp (RF), dẫn đến dương tính giả.

Giải pháp: Nếu nghi ngờ, cần khẳng định bằng phương pháp ít bị ảnh hưởng bởi RF.

+ Người bệnh có fibrinogen tăng cao (> 9G/L) có thể ảnh hưởng đến đánh giá mức độ ngưng kết. Cần cân nhắc khi đánh giá kết quả người bệnh.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation (DIC) according to four DIC guidelines | Journal of Intensive Care | Full Text. Accessed September 30, 2023. https://jintensivecare.biomedcentral.com/articles/10.1186/2052-0492-2-15

4. Diagnostica Stago - FDP plasma - Qualitative and Semi-quatitative Determination of FDP in plasma by latex agglutination.

37. ĐỊNH LƯỢNG FDP

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ FDP trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Định nghĩa: là phương pháp định lượng nồng độ FDP trong máu - một sản phẩm thoái giáng của fibrin/fibrinogen bằng máy xét nghiệm đông máu.

- FDP (Fibrin and fibrinogen degradation product) là sản phẩm thoái giáng của fibrinogen và fibrin dưới tác dụng của plasmin, đây là 1 dấu ấn để đánh giá tình trạng tiêu sợi huyết. FDP có ý nghĩa trong chẩn đoán và theo dõi điều trị DIC, huyết khối và điều trị thuốc tiêu sợi huyết.

- Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch bao gồm các hạt latex đã được gắn kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên FDP, xảy ra hiện tượng ngưng kết giữa FDP trong huyết tương và các hạt latex, làm thay đổi độ đục. Mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ FDP trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi độ đục.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm FDP chứa hạt latex được phủ bởi kháng thể đơn dòng kháng FDP, dung dịch đệm;
- Hóa chất nội kiểm;
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có);
- Hóa chất hiệu chuẩn;
- Dung dịch rửa;
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate;
- Bơm kim tiêm;
- Cuvette;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o} C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng
- Thực hiện xét nghiệm FDP theo quy trình vận hành máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả.

+ Kết quả FDP được báo cáo dưới dạng đơn vị µg/ml hoặc tương đương.

+ Bình thường: FDP < 5 µg/ml.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm: FDP tăng trong các trường hợp DIC, tiêu sợi huyết, huyết khối, ...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.
3. Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, et al. Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J*. 2016;14(1):1-13. doi:10.1186/s12959-016-0117-x.

38. ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN PHƯƠNG PHÁP TRỰC TIẾP BẰNG MÁY (CLAUSS)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ hoạt tính fibrinogen trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định nghĩa: là phương pháp định lượng nồng độ hoạt tính fibrinogen trong máu bằng máy xét nghiệm đông máu.

Nguyên lý: Thrombin có tác dụng chuyển fibrinogen thành fibrin, tạo cục đông. Dựa vào đó, một lượng thrombin dư thừa được thêm vào huyết tương của người bệnh đã được pha loãng, để chuyển tối đa fibrinogen thành fibrin và đo thời gian đông. Thời gian đông phụ thuộc vào nồng độ hoạt tính fibrinogen trong huyết tương, từ đó tính được nồng độ fibrinogen.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm fibrinogen chứa thrombin nồng độ cao.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate;
- Bơm kim tiêm;
- Cuvette;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm định lượng fibrinogen trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả.

+ Kết quả nồng độ fibrinogen được báo cáo dưới dạng đơn vị g/L hoặc tương đương.

+ Bình thường: nồng độ fibrinogen ở người trưởng thành 2 – 4 g/L. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Hoạt tính fibrinogen có thể giảm trong các trường hợp bệnh lý như:

- Bất thường fibrinogen bẩm sinh hoặc mắc phải.
- Tiêu thụ fibrinogen (DIC, tiêu sợi huyết).
- Bệnh lý gan.
- Dùng thuốc tiêu sợi huyết, thuốc giảm mỡ máu, corticoid, L-asparaginase...

+ Fibrinogen tăng trong ung thư, nhiễm trùng, phụ nữ có thai, dùng thuốc tránh thai...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng
- Máy xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. Nguyễn Thị Nữ, Phương pháp xác định fibrinogen, Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội (2016), tr. 89 - 90.
3. Nigel Key (2009), *Labolatory tests of hemostasis*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 7 – 16.
4. Nigel Key (2009), *Reference ranges*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 297 – 304.
5. Ian J. Mackie,Steven Kitchen (2003), *Guidelines on fibrinogen assays*, British Journal of Haematology, 121, 396–404
6. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

39. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH ANTITHROMBIN (AT ACTIVITY)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ hoạt tính antithrombin III trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định nghĩa: là phương pháp định lượng nồng độ hoạt tính antithrombin trong máu bằng máy xét nghiệm đông máu.

Antithrombin (AT) thuộc nhóm những chất ức chế đông máu sinh lý, ức chế một số yếu tố đông máu đã hoạt hóa, đặc biệt là thrombin, IXa và Xa. Thiếu AT là một trong những yếu tố nguy cơ của huyết khối.

Hoạt tính AT trong huyết tương có thể xác định được bằng phương pháp so màu (chromogenic) dựa vào khả năng AT ức chế yếu tố Xa hoặc IIa. Khi ủ huyết tương có AT với hóa chất có chứa Xa (hoặc IIa) và dư thừa heparin, AT trong huyết tương sẽ ức chế hoạt tính yếu tố Xa (hoặc IIa), hoạt tính yếu tố Xa (hoặc IIa) còn lại được đo dựa vào phản ứng với cơ chất tạo màu, từ đó tính toán được hoạt tính của AT trong huyết tương của mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm antithrombin;
- Hóa chất nội kiểm;
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có);
- Hóa chất hiệu chuẩn;
- Nước cất;
- Dung dịch rửa;
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate;
- Bơm kim tiêm;
- Cuvette;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu;

- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm định lượng antithrombin trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ antithrombin được báo cáo dưới dạng đơn vị % hoặc tương đương.

+ Bình thường: antithrombin ở người trưởng thành trong khoảng 80 - 120 %. Phòng xét nghiệm nên xây dựng khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Antithrombin có thể giảm trong các trường hợp bệnh lý như:

- Giảm antithrombin bẩm sinh
- Giảm antithrombin mắc phải như bệnh lý về gan, tiêu thụ (DIC, huyết khối...), có thai, dùng estrogen, điều trị heparin, L-asparaginase, Crohn's...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Thuốc chống đông ức chế Xa hoặc IIa có thể gây tăng nồng độ AT giả tạo.

Giải pháp: Dùng hóa chất chứa IIa (với người bệnh dùng thuốc ức chế Xa) và ngược lại. Lấy mẫu ở thời điểm trước liều thuốc tiếp theo.

+ Huyết tương đục, tan máu

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. Van Cott EM, Orlando C, Moore GW, et al. Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost JTH*. 2020;18(1):17-22. doi:10.1111/jth.14648
3. Khor B, Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. *Am J Hematol*. 2010;85(12):947-950. doi:10.1002/ajh.21893
4. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

40. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH CHẤT ỨC CHẾ HOẠT HÓA PLASMINOGEN 1 (PAI-1)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính chất ức chế hoạt hóa plasminogen (PAI-1).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Các chất hoạt hóa plasminogen đóng vai trò trung tâm trong điều hòa hệ thống tiêu sợi huyết, được kiểm soát bởi các chất ức chế hoạt hóa plasminogen (plasminogen Activator Inhibitor: PAI). Chất ức chế hoạt hóa plasminogen type 1 được tổng hợp tại tế bào nội mạc và tế bào mỡ, ức chế chủ yếu t-PA và urokinase.

Có thể định lượng hoạt tính PAI-1 trong huyết tương bằng phương pháp so màu. Dựa vào sự phát hiện t-PA dư thừa sau khi ủ huyết tương với hóa chất có chứa một lượng dư thừa t-PA đã biết, từ đó tính toán được hoạt tính của PAI-1 trong huyết tương của mẫu. Có thể thực hiện xét nghiệm bằng phương pháp thủ công hoặc trên máy đông máu tự động.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng hoạt tính PAI-1;
- Hóa chất nội kiểm;
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có);
- Hóa chất hiệu chuẩn;
- Dung dịch pha loãng;
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate;
- Bơm kim tiêm;
- Cuvette;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả;

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 – 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng hoạt tính PAI-1 trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả hoạt tính PAI-1 được báo cáo dưới dạng U/ml hoặc tương đương.

+ Bình thường hoạt tính PAI-1 ở người trưởng thành trong khoảng 2 – 7 U/ml. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ hoạt tính PAI-1 giảm trong: thiếu PAI-1 bẩm sinh hoặc mắc phải.

+ Nồng độ hoạt tính PAI-1 tăng trong huyết khối cấp, có thai, ung thư, nhiễm khuẩn cấp…

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.
2. Cesari M, Pahor M, Incalzi RA. PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR-1 (PAI-1): A KEY FACTOR LINKING FIBRINOLYSIS AND AGE-RELATED SUBCLINICAL AND CLINICAL CONDITIONS. *Cardiovasc Ther*. 2010;28(5):e72-e91. doi:10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x
3. Jung RG, Motazedian P, Ramirez FD, et al. Association between plasminogen activator inhibitor-1 and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Thromb J*. 2018;16(1):12. doi:10.1186/s12959-018-0166-4
4. Heiman M, Gupta S, Lewandowska M, Shapiro AD. Complete Plasminogen Activator Inhibitor 1 Deficiency. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., eds. *GeneReviews*®. University of Washington, Seattle; 1993. Accessed September 29, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK447152/

41. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH MEN ADAMTS13 (A DISINTERIN AND METALLOPROTEINASE WITH THROMBOSPONDIN 1 MEMBER 13)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính của men ADAMTS13 trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Định lượng hoạt tính ADAMTS13 có thể thực hiện bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang

- ADAMTS13 cũng được gọi là protease phân cắt yếu tố von Willebrand, là một loại enzyme giúp phân cắt yếu tố von Willebrand - một protein lớn liên quan đến quá trình đông máu. Thiếu ADAMTS 13 dẫn tới hình thành vi huyết khối, gây 1 số bệnh lý trong đó quan trọng nhất là TTP. Xác định nồng độ ADAMTS13 có vai trò trong chẩn đoán, điều trị và tiên lượng người bệnh TTP. Hiện nay, có một số phương pháp định lượng hoạt tính ADAMTS 13, trong đó có phương pháp miễn dịch hóa phát quang.

- Khi các hạt từ được phủ vWF73 có chứa vị trí cắt của ADAMTS13 được ủ với huyết tương người bệnh, xảy ra hiện tượng phân cắt vWF73. Sau đó kháng thể đặc hiệu với sản phẩm phân cắt của vWF gắn chất phát quang được bổ sung vào hỗn hợp trên, phản ứng phát quang được hoạt hóa. Mức độ phát quang được đo thông qua hệ thống quang học sẽ tỷ lệ với nồng độ ADAMTS13 trong mẫu huyết tương của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm ADAMTS13.
- Dung dịch chứa hạt từ được phủ bởi vWF73.
- Dung dịch chứa kháng thể đặc hiệu với sản phẩm phân cắt của vWF có gắn chất phát quang.
- Dung dịch đệm chứa các chất khởi phát phản ứng phát quang.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu có phương pháp phân tích theo cơ chế hóa miễn dịch phát quang.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm.

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm ADAMTS13 trên hệ thống máy xét nghiệm theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả ADAMTS13 được báo cáo dưới dạng % bình thường hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường nồng độ ADAMTS13 trong khoảng 50 – 160%.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ ADAMTS13 giảm trong TTP (thường <10%).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hội chứng ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối (TTP). In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Một Số Bệnh Lý Huyết Học*. Bộ Y Tế; :121.

2. Beranger N, Benghezal S, Joly BS, et al. Diagnosis and follow-up of thrombotic thrombocytopenic purpura with an automated chemiluminescent ADAMTS13 activity immunoassay. *Res Pract Thromb Haemost*. 2021;5(1):81-93. doi:10.1002/rth2.12461.

3. Blombery P, Scully M. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: current perspectives. *J Blood Med*. 2014;5:15-23. doi:10.2147/JBM.S46458.

4. Mackie I, Mancini I, Muia J, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. *Int J Lab Hematol*. 2020;42(6):685-696. doi:10.1111/ijlh.13295.

42. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN MEN ADAMTS13 (A DISINTERIN AND METALLOPROTEINASE WITH THROMBOSPONDIN 1 MEMBER 13 ANTIGEN) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng kháng nguyên men ADAMTS13 trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

ADAMTS13 là một loại protease giúp phân cắt yếu tố von Willebrand, một loại protein lớn liên quan đến quá trình đông máu. Thiếu ADAMTS 13 dẫn tới hình thành vi huyết khối, gây 1 số bệnh lý trong đó quan trọng nhất là TTP. ADAMTS13 có vai trò trong chẩn đoán, điều trị và tiên lượng người bệnh TTP. Hiện nay, định lượng kháng nguyên ADAMTS 13 có thể thực hiện bằng kỹ thuật ELISA.

Kháng thể đặc hiệu với ADAMTS13 được phủ ở giếng xét nghiệm. Thêm mẫu chứng và mẫu người bệnh vào giếng, ADAMTS13 trong mẫu được cố định vào giếng nhờ hình thành phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Sau khi rửa để loại bỏ kháng thể thừa, kháng thể kháng ADAMTS13 có gắn chất chỉ thị màu được thêm vào giếng, rửa để loại bỏ phần kháng thể không gắn với ADAMTS13, thêm enzyme vào giếng, bổ sung cơ chất để hoạt hóa enzyme, xúc tác phản ứng tạo màu. Mật độ quang đo được tỷ lệ với nồng độ kháng nguyên ADAMTS13 trong huyết tương người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Pipette đa kênh.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm ADAMTS13 ELISA.
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.

- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy rửa ELISA.
- Máy đọc.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Chuẩn bị hóa chất xét nghiệm.
- Thực hiện xét nghiệm định lượng kháng nguyên ADAMTS13 theo quy trình vận hành:

+ Phân phối mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm vào các giếng xét nghiệm theo thứ tự hướng dẫn.

+ Ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng

+ Rửa giếng lần 1 bằng dung dịch rửa đã được pha loãng trên máy rửa. Làm khô phiến.

+ Cố định phức hợp miễn dịch bằng cách bổ sung lần lượt dung dịch chứa kháng thể kháng ADAMTS13 có gắn enzyme.

+ Ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng

+ Rửa phiến lần 2 bằng dung dịch rửa đã được pha loãng trên máy rửa. Làm khô phiến.

+ Bổ sung cơ chất, xúc tác phản ứng sinh màu

+ Đọc kết quả trên máy đọc

+ Lưu kết quả đọc

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Xem xét kết quả mẫu chứng âm, chứng dương.

+ Kết quả ADAMTS13 được báo cáo dưới dạng UI/ml hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường ADAMTS13 trong khoảng 50 - 150 IU/dl. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ ADAMTS13 giảm trong TTP, bệnh gan.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt: Mẫu chứng âm, chứng dương, giếng trắng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hội chứng ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối (TTP). In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Một Số Bệnh Lý Huyết Học*. Bộ Y Tế; :121.

2. Blombery P, Scully M. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: current perspectives. *J Blood Med*. 2014;5:15-23. doi:10.2147/JBM.S46458

3. Mackie I, Mancini I, Muia J, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. *Int J Lab Hematol*. 2020;42(6):685-696. doi:10.1111/ijlh.13295

43. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PROTEIN C (PROTEIN C ACTIVITY)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ hoạt tính của protein C trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Protein C (PC) thuộc nhóm ức chế đông máu sinh lý phụ thuộc vitamin K. Thiếu PC có thể do bẩm sinh hoặc mắc phải và làm tăng nguy cơ huyết khối.

Hoạt tính của protein C có thể xác định bằng phương pháp so màu hoặc dựa vào đo thời gian đông, trong đó phương pháp so màu được ưu tiên khuyến cáo. Hoạt hoá protein C bằng chất hoạt hoá và sau đó đo nồng độ protein C đã được hoạt hoá bằng cơ chất tạo màu, từ đó đo được nồng độ hoạt tính của protein C.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng hoạt tính protein C.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng hoạt tính protein C trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả protein C được báo cáo dưới dạng % hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường hoạt tính protein C ở người trưởng thành trong khoảng 70 – 140%. Protein C thấp hơn ở sơ sinh và trẻ nhỏ, sau đó tăng dần khi trưởng thành. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ protein C giảm trong: thiếu PC bẩm sinh**,** DIC, suy giảm chức năng gan, viêm cấp tính**,** hồng cầu hình liềm, dùng thuốc kháng vitamin K...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Cooper PC, Pavlova A, Moore GW, Hickey KP, Marlar RA. Recommendations for clinical laboratory testing for protein C deficiency, for

the subcommittee on plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2020;18(2):271-277. doi:10.1111/jth.14667

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Robert C. Gosselin, Richard A. Marlar. Preanalytical Variables in Coagulation Testing: Setting the Stage for Accurate Results. *Semin Thromb Hemost*. Published online 2019:433-448.

44. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PROTEIN S TỰ DO (FREE PS ACTIVITY)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính của protein S tự do.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Protein S (PS) là chất ức chế đông máu sinh lý, phụ thuộc vitamin K, là đồng yếu tố của protein C. Trong huyết tương, protein S tồn tại dưới 2 dạng: dạng tự do và dạng liên kết với protein, trong đó chỉ PS ở dạng tự do có tác dụng ức chế đông máu. Thiếu protein S có thể di truyền hoặc mắc phải và là một trong những yếu tố nguy cơ huyết khối.

Xét nghiệm định lượng hoạt tính protein S tự do thường được xác định dựa trên sự thay đổi thời gian đông của một số xét nghiệm như PT, APTT, RVVT. Pha loãng huyết tương của người bệnh bằng huyết tương nghèo protein S và bổ sung thêm protein C hoạt hóa (APC). Quá trình đông máu được khởi phát khi bổ sung yếu tố tổ chức (với phương pháp dựa vào PT) hoặc yếu tố IXa hoặc chất điện tích âm (với phương pháp dựa vào APTT) hoặc yếu tố Xa hoặc RVV (với phương pháp dựa vào yếu tố Xa). Thời gian đông sẽ tỷ lệ với nồng độ hoạt tính protein S trong huyết tương của người bệnh. Ngoài ra, hoạt tính protein S có thể xác định bằng phương pháp so màu (chromogenic).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng hoạt tính protein S.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.

- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng hoạt tính protein S trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả protein S được báo cáo dưới dạng % hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường hoạt tính protein S ở người trưởng thành trong khoảng 60 – 140%. Protein S thấp ở sơ sinh và trẻ nhỏ, sau đó tăng dần khi trưởng thành. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Một số nguyên nhân làm giảm nồng độ protein S như thiếu PS bẩm sinh**,** DIC**,** suy giảm chức năng gan, hồng cầu hình liềm, dùng thuốc kháng vitamin K, thuốc tránh thai có estrogen, phụ nữ có thai, PS có thể giảm ở người bệnh nhiễm HIV, ho gà, viêm cấp tính, ...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Thuốc chống đông như thuốc ức chế Xa, ức chế IIa.

Giải pháp: Không nên thực hiện khi đang dùng thuốc.

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Robert C. Gosselin, Richard A. Marlar. Preanalytical Variables in Coagulation Testing: Setting the Stage for Accurate Results. *Semin Thromb Hemost*. Published online 2019:433-448.

4. Marlar RA, Gausman JN, Tsuda H, Rollins-Raval MA, Brinkman HJM. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2021;19(1):68-74. doi:10.1111/jth.15109

45. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH t-PA (Tissue Plasminogen activator)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ hoạt tính t-PA trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

t-PA (Tissue plasminogen activator: chất hoạt hóa plasminogen tổ chức) là yếu tố quan trọng trong hệ thống tiêu sợi huyết, đóng vai trò chủ yếu trong hoạt hóa plasminogen thành plasmin.

Hoạt tính t-PA có thể được xác định bằng phương pháp so màu (chromogenic) hoặc phương pháp ELISA.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm định lượng hoạt tính t-PA.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao - nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng hoạt tính t-PA trên hệ thống máy xét nghiệm theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả hoạt tính t-PA được báo cáo dưới dạng UI/ml hoặc tương đương.

+ Bình thường hoạt tính t-PA ở người trưởng thành trong khoảng.

+ 0,2 ± 2 UI/ml. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ hoạt tính t-PA giảm là yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

+ Người bệnh đang điều trị thuốc tiêu sợi huyết, heparin.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Jilani TN, Siddiqui AH. Tissue Plasminogen Activator. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed October 3, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507917/

46. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá hoạt tính tương tác với GPIb của yếu tố von Willebrand trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh von Willebrand.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng hoạt tính yếu tố von Willebrand là một trong những xét nghiệm để chẩn đoán bệnh von Willebrand, xét nghiệm dựa trên khả năng tương tác của yếu tố vWF với thụ thể GPIb của tiểu cầu khi có mặt ristocetin.

Khi huyết tương của người bệnh được ủ cùng các hạt từ được phủ một mảnh tái tổ hợp của thụ thể glycoprotein tiểu cầu của vWF (rGP1bα) và dung dịch đệm chứa ristocetin, yếu tố von Willebrand trong huyết tương sẽ gắn với GPIb (pha rắn). Sau đó kháng thể đặc hiệu với vWF gắn chất phát quang được bổ sung vào hỗn hợp trên, hình thành phức hợp *"Hạt từ được phủ GPIb – vWF - kháng thể đặc hiệu vWF (có gắn chất phát quang)",* sau đó phản ứng phát quang được hoạt hóa. Mức độ phát quang được đo thông qua hệ thống quang học sẽ tỷ lệ với nồng độ hoạt tính von Willebrand trong mẫu huyết tương của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm hoạt tính vWF.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu có phương pháp phân tích theo cơ chế hóa miễn dịch phát quang.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng hoạt tính yếu tố von Willebrand trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả hoạt tính vWF được báo cáo dưới dạng % bình thường hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường hoạt tính vWF 50 – 172%. Do nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả, phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng, nhóm máu của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ vWF hoạt tính giảm trong bệnh von Willebrand bẩm sinh hoặc mắc phải.

+ Người nhóm máu O có nồng độ vWF thấp hơn khoảng 25% so với các nhóm máu còn lại.

+ vWF tăng trong các trường hợp như viêm cấp, ung thư, có thai, lupus,... Đây cũng là một yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF).

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bệnh von Willebrand. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. Bộ Y Tế; 2022:98.

2. James PD, Connell NT, Ameer B, et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv*. 2021;5(1):280-300. doi:10.1182/bloodadvances.2020003265

3. Favaloro EJ, Pasalic L, Curnow J. Laboratory tests used to help diagnose von Willebrand disease: an update. *Pathology (Phila)*. 2016;48(4):303-318. doi:10.1016/j.pathol.2016.03.001

4. Plasma levels of von Willebrand factor and future risk of incident venous thromboembolism | Blood Advances | American Society of Hematology. Accessed September 20, 2023.

5. Nigel Key (2009), *Reference ranges*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 297 – 304.

47. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá hoạt tính tương tác với GPIb của yếu tố von Willebrand (vWF) trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh von Willebrand.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng hoạt tính yếu tố von Willebrand là một trong những xét nghiệm để chẩn đoán bệnh von Willebrand, xét nghiệm dựa trên khả năng tương tác của yếu tố vWF với thụ thể GPIb. Hiện nay có một số phương pháp xét nghiệm được thực hiện để đánh giá chức năng gắn GPIb của tiểu cầu trên các máy xét nghiệm đông máu tự động, trong đó có phương pháp dựa vào sự tương tác của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với vị trí gắn của GPIb trên phân tử vWF (domain A1).

Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch chứa các hạt latex đã được phủ kháng thể đặc hiệu với vị trí gắn với GPIb tiểu cầu của yếu tố von Willebrand, sẽ xảy ra hiện tượng ngưng kết giữa von Willebrand trong huyết tương và các hạt latex, làm thay đổi độ đục. Mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ hoạt tính yếu tố von Willebrand trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm hoạt tính vWF.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm hoạt tính yếu tố von Willebrand trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ hoạt tính vWF được báo cáo dưới dạng % bình thường hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường hoạt tính vWF 50 – 172%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng, nhóm máu của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Người nhóm máu O có nồng độ vWF thấp hơn khoảng 25% so với các nhóm máu còn lại.

+ vWF hoạt tính giảm trong bệnh von Willebrand bẩm sinh hoặc mắc phải.

+ vWF tăng trong các trường hợp như viêm cấp, ung thư, có thai, lupus,… Đây cũng là một yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

- Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF)

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bệnh von Willebrand. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. Bộ Y Tế; 2022:98.

2. James PD, Connell NT, Ameer B, et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv*. 2021;5(1):280-300. doi:10.1182/bloodadvances.2020003265

3. Favaloro EJ, Pasalic L, Curnow J. Laboratory tests used to help diagnose von Willebrand disease: an update. *Pathology (Phila)*. 2016;48(4):303-318. doi:10.1016/j.pathol.2016.03.001

4. Plasma levels of von Willebrand factor and future risk of incident venous thromboembolism | Blood Advances | American Society of Hematology. Accessed September 20, 2023.

5. Nigel Key (2009), *Reference ranges*, Practical hemostasis and thrombosis, p. 297 – 304.

48. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ kháng nguyên yếu tố von Willebrand (vWF) trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Là kĩ thuật định lượng kháng nguyên yếu tố von Willebrand bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục, thực hiện với máy xét nghiệm đông máu.

- Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch chứa các hạt latex đã được phủ kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên yếu tố von Willebrand, xảy ra hiện tượng ngưng kết giữa von Willebrand trong huyết tương và các hạt latex, làm thay đổi độ đục. Mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ kháng nguyên yếu tố von Willebrand trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi độ đục.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm kháng nguyên vWF.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu tự động.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm kháng nguyên yếu tố von Willebrand trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ kháng nguyên vWF được báo cáo dưới dạng % bình thường hoặc đơn vị tương đương IU/dl.

+ Bình thường kháng nguyên vWF 50 – 200%. Do nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả, phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng, nhóm máu của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Người nhóm máu O có nồng độ vWF thấp hơn khoảng 25% so với các nhóm máu còn lại.

+ vWF kháng nguyên giảm trong bệnh von Willebrand bẩm sinh hoặc mắc phải.

+ vWF tăng trong các trường hợp như viêm cấp, ung thư, có thai, lupus,... Đây cũng là một yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bệnh von Willebrand. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. Bộ Y Tế; 2022:98.

2. James PD, Connell NT, Ameer B, et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Adv*. 2021;5(1):280-300. doi:10.1182/bloodadvances.2020003265

3. Favaloro EJ, Pasalic L, Curnow J. Laboratory tests used to help diagnose von Willebrand disease: an update. *Pathology (Phila)*. 2016;48(4):303-318. doi:10.1016/j.pathol.2016.03.001

4. Plasma levels of von Willebrand factor and future risk of incident venous thromboembolism | Blood Advances | American Society of Hematology. Accessed September 20, 2023. https://ashpublications.org/bloodadvances/article/5/1/224/474877/Plasma-levels-of-von-Willebrand-factor-and-future

5. Ng C, Motto DG, Di Paola J. Diagnostic approach to von Willebrand disease. *Blood*. 2015;125(13):2029-2037. doi:10.1182/blood-2014-08-528398

49. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN YẾU TỐ VON WILLEBRAND BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá nồng độ kháng nguyên của yếu tố von Willebrand trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh von Willebrand.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng kháng nguyên yếu tố von Willebrand là một trong những xét nghiệm để chẩn đoán bệnh von Willebrand.

Khi huyết tương của người bệnh được ủ cùng các hạt từ được được phủ kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên vWF, yếu tố von Willebrand trong huyết tương sẽ gắn với các kháng thể (pha rắn). Sau đó kháng kháng thể đặc hiệu với vWF gắn chất phát quang được bổ sung vào hỗn hợp trên, hình thành phức hợp *"Hạt từ được phủ kháng thể vWF – vWF - kháng thể đặc hiệu vWF (có gắn chất phát quang)"*, sau đó phản ứng phát quang được hoạt hóa. Mức độ phát quang được đo thông qua hệ thống quang học sẽ tỷ lệ với nồng độ kháng nguyên von Willebrand trong mẫu huyết tương của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm kháng nguyên vWF.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu có phương pháp phân tích theo cơ chế hóa miễn dịch phát quang.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng XN.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm kháng nguyên yếu tố von Willebrand trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả vWF: Ag được báo cáo dưới dạng % bình thường hoặc đơn vị tương đương IU/dl.

+ Bình thường vWF: Ag 50 – 200%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng, nhóm máu của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Người nhóm máu O có nồng độ vWF thấp hơn khoảng 25% so với các nhóm máu còn lại.

+ vWF kháng nguyên giảm trong bệnh von Willebrand bẩm sinh hoặc mắc phải.

+ vWF tăng trong các trường hợp như viêm cấp, ung thư, có thai, lupus,...Đây cũng là một yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF).

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng

- Máy xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bệnh von Willebrand. In: Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học. Bộ Y Tế; 2022:98.

2. James PD, Connell NT, Ameer B, et al. ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. Blood Adv. 2021;5(1):280-300. doi:10.1182/bloodadvances.2020003265

3. Favaloro EJ, Pasalic L, Curnow J. Laboratory tests used to help diagnose von Willebrand disease: an update. Pathology (Phila). 2016;48(4):303-318. doi:10.1016/j.pathol.2016.03.001

4. Plasma levels of von Willebrand factor and future risk of incident venous thromboembolism | Blood Advances | American Society of Hematology. Accessed September 20, 2023. https://ashpublications.org/bloodadvances/article/5/1/224/474877/Plasma-levels-of-von-Willebrand-factor-and-future

5. Ng C, Motto DG, Di Paola J. Diagnostic approach to von Willebrand disease. Blood. 2015;125(13):2029-2037. doi:10.1182/blood-2014-08-528398

50. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN YẾU TỐ XIII

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ kháng nguyên yếu tố XIII – còn được gọi là yếu tố ổn định sợi huyết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Yếu tố XIII giúp hình thành các liên kết chéo giữa các fibrin monomer hòa tan (không bền vững) để hình thành fibrin polymer không hòa tan (bền vững), do đó có tác dụng làm ổn định cục máu đông.

Xét nghiệm định lượng kháng nguyên yếu tố XIII có thể thực hiện dựa trên nguyên lý miễn dịch đo độ đục. Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch chứa các hạt latex đã được phủ kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên yếu tố XIII, xảy ra hiện tượng ngưng kết giữa yếu tố XIII trong huyết tương với các hạt latex, làm thay đổi độ đục mẫu. Mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ kháng nguyên yếu tố XIII trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm kháng nguyên yếu tố XIII.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu tự động.
- Máy ly tâm.

- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm mẫu để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm kháng nguyên yếu tố XIII trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ kháng nguyên yếu tố XIII được báo cáo dưới dạng % bình thường hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường kháng nguyên yếu tố XIII 50 – 220%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Yếu tố XIII giảm trong bệnh thiếu yếu tố XIII bẩm sinh hoặc mắc phải (bệnh gan...).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF).

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Hsieh L, Nugent D. Factor XIII deficiency. *Haemophilia*. 2008;14(6):1190-1200. doi:10.1111/j.1365-2516.2008.01857.x

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Malkhassian D, Sabir S, Sharma S. Physiology, Factor XIII. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed September 20, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538271/

51. ĐỊNH TÍNH YẾU TỐ XIII

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện thiếu yếu tố XIII bằng phương pháp định tính.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Yếu tố XIII hoạt hoá có tác dụng làm ổn định cục fibrin. Khi thiếu hụt yếu tố XIII, cục fibrin hình thành sẽ kém bền vững, hoà tan trong dung dịch Ure 5 mol/l. Kỹ thuật đánh giá yếu tố XIII có bị thiếu hụt hay không dựa trên nguyên lý này.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- CaCl2 1/40M.
- Hóa chất Ure 5 mol/l (300 g/l).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống nghiệm tan máu.
- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu: Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.
- Chuẩn bị 2 ống nghiệm tan máu, kích thước 75 x 9,5mm.
- Cho 200µl huyết tương chứng hoặc bệnh vào mỗi ống.
- Cho thêm 200µl CaCl2 M/40 vào từng ống.
- Ủ ở bình cách thuỷ 37^{o}C trong 30 phút, sau đó cho thêm 3ml dung dich Ure 5 mol/l.
- Lắc cục đông trong dung dịch Ure.
- Để ống nghiệm trong nhiệt độ phòng và kiểm tra cục đông sau 24 giờ.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả dựa vào tình trạng tan của cục đông.
- Đánh giá kết quả: thiếu hụt nặng yếu tố XIII, nếu cục đông tan hết.
- Phương pháp này thường chỉ dùng để chẩn đoán thiếu yếu tố XIII bẩm sinh và yếu tố XIII dưới 1%.
- Nhập kết quả: định tính yếu tố XIII bình thường hay thiếu yếu tố XIII.
- In kết quả và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: giảm hoặc bất thường chức năng fibrinogen có thể dẫn đến dương tính giả. Kiểm tra bằng xét nghiệm hoạt tính fibrinogen, thời gian thrombin để loại trừ.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm: Không áp dụng.
- Ngoại kiểm: Không áp dụng.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ (2016), Định lượng yếu tố XIII, Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (tái bản lần thứ 3), Nhà xuất bản Y học năm 2016
2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.
3. Comparison of 2 Methods of Clot Solubility Testing in Detection of Factor XIII Deficiency | Laboratory Medicine | Oxford Academic. Accessed September 21, 2023. https://academic.oup.com/labmed/article/47/4/283/2949541
4. Dorgalaleh A, Tabibian S, Hosseini MS, et al. Diagnosis of factor XIII deficiency. *Hematology*. 2016;21(7):430-439. doi:10.1080/10245332.2015.1101975

52. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ CHẤT ỨC CHẾ YẾU TỐ IX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ chất ức chế yếu tố đông máu IX – trong chẩn đoán hemophilia B mắc phải hoặc theo dõi hemophilia B có chất ức chế IX.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khi trong huyết tương có mặt chất ức chế yếu tố IX hay còn gọi là kháng thể chống lại yếu tố IX, kháng thể này sẽ kết hợp với yếu tố IX tạo thành phức hợp kháng nguyên - kháng thể, dẫn đến giảm nồng độ yếu tố IX, kháng thể này có đặc điểm tác dụng ngay, không phụ thuộc thời gian và nhiệt độ.

Thực hiện định lượng chất ức chế yếu tố IX theo phương pháp Bethesda hoặc Nijmegen Bethesda. Pha loãng huyết tương của người bệnh ở nhiều nồng độ khác nhau bằng dung dịch pha loãng, trộn với huyết tương bình thường với tỷ lệ 1 : 1 và sau đó định lượng yếu tố IX còn lại. Tỷ lệ pha loãng phù hợp khi nồng độ yếu tố IX còn lại nằm trong khoảng 25% - 75% so với mẫu chứng. Dựa vào lượng IX còn lại và tỷ lệ pha loãng, tính ra nồng độ ức chế yếu tố IX qua bảng Bethesda units.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Ống chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố IX.
- Hóa chất làm xét nghiệm APTT.
- Huyết tương pool bình thường đã biết nồng độ yếu tố IX.
- Hóa chất nội kiểm (yếu tố IX).
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.

- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Pha loãng huyết tương người bệnh bằng dung dịch pha loãng theo tỷ lệ: 1/2, 1/4, 1/8 , 1/16…

- Phân phối lần lượt 200µl huyết tương đã pha loãng vào ống nghiệm (ống bệnh)

- Phân phối 200µl dung dịch pha loãng vào ống 2 (ống chứng)

- Cho lần lượt vào ống bệnh và chứng: 200µl huyết tương bình thường, trộn đều.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng

- Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố IX với các ống bệnh và ống chứng trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành:

- Tính nồng độ IX còn lại trong huyết tương, đạt khi tỷ lệ này trong khoảng - 75% (lựa chọn nồng độ IX ở ống có tỷ lệ IX còn lại gần với 50%).

+ Tỷ lệ IX còn lại (%) = (nồng độ IX ống bệnh/nồng độ IX ống chứng) x 100.

+ Dựa vào tỷ lệ yếu tố IX còn lại sau ủ, tính nồng độ ức chế IX dựa vào bảng log kép (phụ lục 1) hoặc sử dụng công thức:

Ức chế yếu tố IX (bethesda) = [(2-Log (tỷ lệ IX còn lại))/0,301] x tỷ lệ pha loãng.

- Phương pháp Nijmegen Bethesda: dung dịch pha loãng sử dụng huyết tương chuẩn đã làm nghèo yếu tố IX; giúp tăng độ nhạy của phương pháp, đặc biệt những trường hợp hiệu giá thấp.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Đơn vị: Bethesda/ml (BU/ml).

+ 1 đơn vị Bethesda là lượng chất ức chế yếu tố trung hoà 50% yếu tố IX.

+ Bình thường: nồng độ chất ức chế IX < 0,3 BU/ml.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Chất ức chế IX có thể gặp trong hemophilia B mắc phải hoặc người bệnh hemophilia B có chất ức chế trong quá trình điều trị yếu tố IX.

+ Chất ức chế > 5BU/ml: hiệu giá cao.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

+Người bệnh đang điều trị yếu tố IX, có chất ức chế không đặc hiệu như kháng đông lupus (LA).

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng
- Máy xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

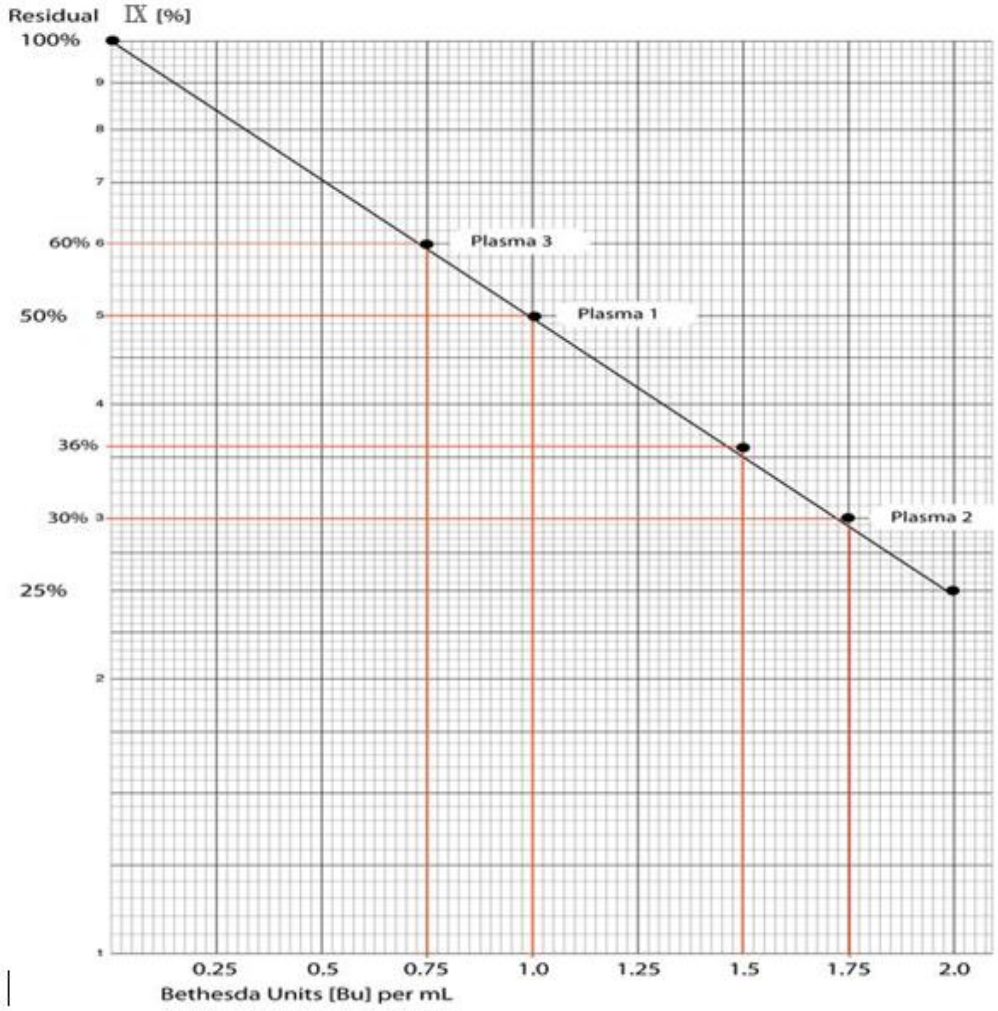
1. Hemophilia mắc phải. In: Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Một Số Bệnh Lý Huyết Học. Bộ Y Tế; :93.

2. Miller CH. Laboratory testing for factor VIII and IX inhibitors in haemophilia: A review. Haemoph Off J World Fed Hemoph. 2018;24(2):186-197. doi:10.1111/hae.13424

3. Nardi MA. Laboratory Monitoring of Factor VIII and Factor IX in Hemophilia Patients. Am Soc Clin Lab Sci. 2019;32(1):27-35. doi:10.29074/ascls.2018001305

4. Batty P, Riddell A, Kitchen S, et al. Factor VIII/IX inhibitor testing practices in the United Kingdom: Results of a UKHCDO and UKNEQAS national survey. Haemophilia. 2021;27(3):501-510. doi:10.1111/hae.14158

Phụ lục 1: Bảng tính Bethesda units



53. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ CHẤT ỨC CHẾ YẾU TỐ VIII

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ chất ức chế yếu tố đông máu VIII – trong chẩn đoán hemophilia A mắc phải hoặc theo dõi hemophilia A có chất ức chế VIII.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khi trong huyết tương có mặt chất ức chế yếu tố VIII hay còn gọi là kháng thể chống lại yếu tố VIII, kháng thể này sẽ kết hợp với yếu tố VIII tạo thành phức hợp kháng nguyên - kháng thể, dẫn đến giảm nồng độ yếu tố VIII trong huyết tương, kháng thể này có đặc điểm phụ thuộc thời gian và nhiệt độ.

Thực hiện định lượng chất ức chế yếu tố VIII theo phương pháp Bethesda hoặc Nijmegen Bethesda. Pha loãng huyết tương của người bệnh ở nhiều nồng độ khác nhau bằng dung dịch pha loãng, trộn với huyết tương bình thường với tỷ lệ 1 : 1 và ủ ở 37 ^{0}C trong 2 giờ sau đó định lượng yếu tố VIII còn lại. Tỷ lệ pha loãng phù hợp khi nồng độ yếu tố VIII còn lại nằm trong khoảng 25% - 75% so với mẫu chứng. Dựa vào lượng VIII còn lại và tỷ lệ pha loãng, tính ra nồng độ ức chế yếu tố VIII.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Ống chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố VIII.
- Hóa chất làm xét nghiệm APTT.
- Huyết tương pool bình thường đã biết nồng độ yếu tố VIII.
- Hóa chất nội kiểm (yếu tố VIII).
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.

- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Trong trường hợp yếu tố VIII trong mẫu cao, ủ mẫu ở 56 ^{o}C trong 30 phút.

- Pha loãng huyết tương người bệnh theo tỷ lệ: 1/2, 1/4, 1/8 , 1/16…

- Phân phối lần lượt 200µl huyết tương đã pha loãng vào ống nghiệm (ống bệnh)

- Phân phối 200µl dung dịch pha loãng vào ống 2 (ống chứng)

- Cho lần lượt vào ống bệnh và chứng: 200µl huyết tương bình thường, trộn đều.

- Ủ các ống bệnh và chứng trong bình cách thủy ở 37^{o}C trong 2 giờ.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng

- Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố VIII ở các ống bệnh và chứng trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

- Tính nồng độ VIII còn lại trong huyết tương, đạt khi tỷ lệ này trong khoảng 25 - 75% (lựa chọn nồng độ VIII ở ống có tỷ lệ VIII còn lại gần với 50%).

+ Tỷ lệ VIII còn lại (%) = (nồng độ VIII ống bệnh/nồng độ VIII chứng) x 100.

+ Dựa vào tỷ lệ yếu tố VIII còn lại sau ủ, tính nồng độ ức chế VIII dựa vào bảng log kép (phụ lục 1) hoặc sử dụng công thức:

Ức chế yếu tố VIII (bethesda) = [(2-Log (tỷ lệ VIII còn lại))/0,301] x tỷ lệ pha loãng.

- Phương pháp Nijmegen Bethesda: dung dịch pha loãng sử dụng huyết tương chuẩn đã làm nghèo yếu tố VIII; giúp tăng độ nhạy của phương pháp, đặc biệt những trường hợp hiệu giá thấp.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Đơn vị: Bethesda/ml (BU/ml).

+ 1 đơn vị Bethesda là lượng chất ức chế yếu tố trung hoà 50% yếu tố VIII.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Bình thường: nồng độ chất ức chế VIII < 0,5 BU/ml.

+ Chất ức chế VIII có thể gặp trong hemophilia A mắc phải hoặc người bệnh hemophilia A có chất ức chế trong quá trình điều trị yếu tố VIII.

+ Chất ức chế > 5 BU/ml: hiệu giá cao.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

+ Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

+ Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

+ Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

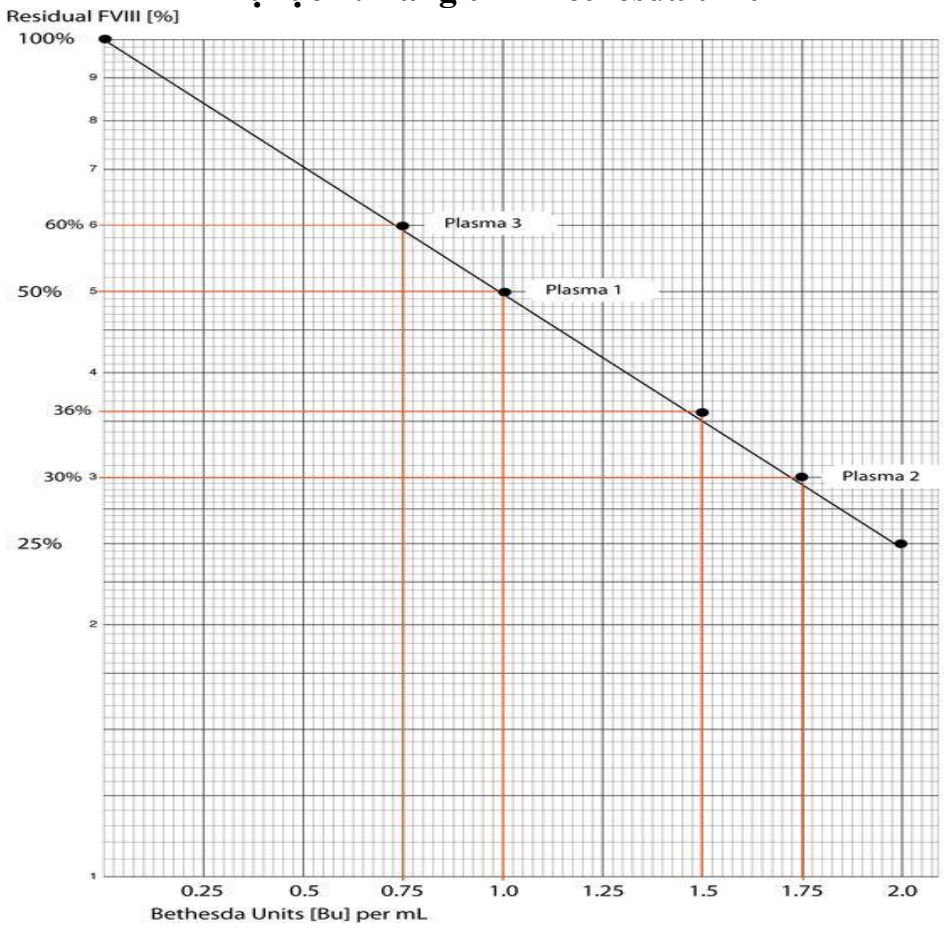
1. Hemophilia mắc phải. In: Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Một Số Bệnh Lý Huyết Học. Bộ Y Tế; :93.

2. Miller CH. Laboratory testing for factor VIII and IX inhibitors in haemophilia: A review. Haemoph Off J World Fed Hemoph. 2018;24(2):186-197. doi:10.1111/hae.13424

3. Nardi MA. Laboratory Monitoring of Factor VIII and Factor IX in Hemophilia Patients. Am Soc Clin Lab Sci. 2019;32(1):27-35. doi:10.29074/ascls.2018001305

4. Batty P, Riddell A, Kitchen S, et al. Factor VIII/IX inhibitor testing practices in the United Kingdom: Results of a UKHCDO and UKNEQAS national survey. Haemophilia. 2021;27(3):501-510. doi:10.1111/hae.14158

Phụ lục 1: Bảng tính Bethesda unit



54. ĐỊNH LƯỢNG PHỨC HỆ FIBRIN MONOMER HÒA TAN (SOLUBLE FIBRIN MONOMER COMPLEX TEST: SFMc TEST)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ fibrin monomer trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khái niệm fibrin monomer (FM): thrombin phân cắt fibrinogen tạo thành fibrin monomer và giải phóng chuỗi fibrinopeptide A và B. Tùy thuộc vào nồng độ và điều kiện môi trường, fibrin monomer có thể kết hợp với fibrinogen và các sản phẩm thoái giáng của fibrin/fibrinogen, tạo thành phức hệ hòa tan.

Xét nghiệm FM được thực hiện bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu. Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch bao gồm các hạt latex đã được gắn kháng thể đặc hiệu với kháng kháng nguyên FM, FM trong huyết tương sẽ được gắn kháng thể đặc hiệu ở trên các hạt latex dẫn tới hiện tượng ngưng kết, mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ FM trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang. FM bao gồm FM trong phức hệ hòa tan và FM tự do trong huyết tương người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm fibrin monomer chứa hạt latex được phủ bởi kháng thể đơn dòng kháng nguyên FM, dung dịch đệm.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có) .
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm FM trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả FM được báo cáo dưới dạng đơn vị µg/ml hoặc tương đương.

+ Bình thường: FM < 6 µg/ml. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ FM tăng trong các trường hợp DIC, tăng đông, huyết khối…

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.

- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.

- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. Hiroaki Onishi1 et al *"*Fibrin monomer complex in normal pregnant women: a potential thrombotic marker in pregnancy*" Ann Clin Biochem* 2007; 44: 449–454
3. Gris et al *"*ISTH overt disseminated intravascular coagulation score in patients with septic shock: automated immunoturbidimetric soluble fibrin assay vs. D-dimer assay*" J Thromb Haemost* 2011; 9: 1252–5
4. Gosselin RC, Marlar RA. Pre-analytical variables in coagulation testing: setting the stage for accurate results. *Sem Thromb Hemost.* 2019;45:433-448.

55. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ ĐÔNG MÁU NGOẠI SINH (V HOẶC VII HOẶC X)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu ngoại sinh V/VII/X trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu bằng phương pháp một thì là phương pháp phổ biến hiện nay. Thời gian prothrombin của huyết tương phụ thuộc vào hoạt tính các yếu tố đông máu tham gia vào con đường đông máu ngoại sinh, như V, VII, X. Hóa chất định lượng hoạt tính yếu tố đông máu ngoại sinh là huyết tương người đã làm nghèo yếu tố cần xét nghiệm, trong khi nồng độ các yếu tố khác bình thường.

Để định lượng yếu tố đông máu của người bệnh, người ta tiến hành pha loãng huyết tương người bệnh, sau đó huyết tương này được trộn với hóa chất định lượng yếu tố đông máu với tỉ lệ 1/1, sự thay đổi thời gian đông của mẫu huyết tương chuẩn có thiếu hụt yếu tố đông máu tỷ lệ với nồng độ hoạt tính yếu tố đông máu của mẫu bệnh phẩm, từ đó đo được nồng độ hoạt tính yếu tố đông máu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu V/VII/X.
- Hóa chất thực hiện xét nghiệm PT.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Nước cất.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Huyết tương: Trong điều kiện không bàn giao được đến phòng xét nghiệm hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách ngay huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng XN.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm mẫu để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Trường hợp mẫu tan đông không được phân tích ngay thì thời gian có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu V/VII/X trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả.

+ Kết quả định lượng yếu tố đông máu được báo cáo dưới dạng đơn vị % hoặc tương đương.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm

+ Nồng độ yếu tố đông máu thấp ở giai đoạn sơ sinh, sau đó tăng dần và ổn định khi trưởng thành. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp. Nồng độ hoạt tính yếu tố bình thường ở người trưởng thành:

V: 66% – 126%

VII: 61 % – 157%

X: 74% – 149 %

- Nồng độ yếu tố đông máu ngoại sinh có thể giảm trong một số trường hợp như:

+ Thiếu yếu tố đông máu bẩm sinh: bệnh thiếu yếu tố VII, thiếu V, thiếu X bẩm sinh.

+ Các bệnh lý mắc phải như bệnh gan, DIC, thiếu yếu tố đông máu phụ thuộc vitamin K, truyền máu khối lượng lớn...

+ Người bệnh điều trị thuốc kháng vitamin K (VII, X giảm).

+ Nồng độ yếu tố đông máu ngoại sinh có thể tăng trong một số trường hợp tăng đông.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Steve Kitchen, Angus McCraw (2010), *Assays Based on Prothrombin Time (Factors II, V, VII, or X),* Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, p. 65 – 67

3. Gosselin RC, Marlar RA. Pre-analytical variables in coagulation testing: setting the stage for accurate results. *Sem Thromb Hemost.* 2019;45:433-448.

4. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

56. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ ĐÔNG MÁU NỘI SINH (VIII HOẶC IX HOẶC XI)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu nội sinh VIII/IX/XI trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu bằng phương pháp một thì là phương pháp phổ biến hiện nay. Thời gian APTT của huyết tương phụ thuộc vào hoạt tính các yếu tố đông máu tham gia vào con đường đông máu nội sinh, như VIII, IX, XI. Hóa chất định lượng hoạt tính yếu tố đông máu nội sinh là huyết tương người đã làm nghèo yếu tố cần xét nghiệm trong khi nồng độ các yếu tố khác bình thường.

Để định lượng yếu tố đông máu của người bệnh, người ta tiến hành pha loãng huyết tương người bệnh, sau đó huyết tương này được trộn với hóa chất định lượng yếu tố đông máu với tỉ lệ 1/1, sự thay đổi thời gian đông của mẫu huyết tương chuẩn có thiếu hụt yếu tố đông máu tỷ lệ với nồng độ hoạt tính yếu tố đông máu của mẫu bệnh phẩm, từ đó đo được nồng độ hoạt tính yếu tố đông máu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu VIII/IX/XI.
- Hóa chất thực hiện xét nghiệm APTT.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Nước cất.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.

- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Huyết tương: Trong điều kiện không bàn giao được đến phòng xét nghiệm hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách ngay huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng XN.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm mẫu để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Trường hợp là mẫu huyết tương bảo quản dưới -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Trường hợp mẫu tan đông không được phân tích ngay thì thời gian có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu VIII/IX/XI trên hệ thống máy đông máu tự động theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả định lượng yếu tố đông máu được báo cáo dưới dạng đơn vị % hoặc tương đương.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ yếu tố đông máu thấp ở giai đoạn sơ sinh, sau đó tăng dần và ổn định khi trưởng thành. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp. Nồng độ hoạt tính yếu tố ở người trưởng thành:

VIII: 50% – 150%

IX: 50 % – 150%

XI: 65% – 150 %

- Nồng độ yếu tố đông máu nội sinh có thể giảm trong một số trường hợp như:

+ Thiếu yếu tố đông máu bẩm sinh: bệnh thiếu yếu tố VIII, thiếu IX, thiếu XI bẩm sinh.

+ Các bệnh lý mắc phải như hemophilia mắc phải, truyền máu khối lượng lớn, ...

- Nồng độ yếu tố đông máu nội sinh có thể tăng trong một số trường hợp tăng đông như có thai, nhiễm trùng, ung thư, ...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Kháng đông lupus: có thể gây sai lệch kết quả nồng độ yếu tố đông máu.

Giải pháp: Pha loãng mẫu, kiểm tra lại kết quả hoặc định lượng bằng phương pháp chromogenic.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học* ; 2022:465.

2. Steve Kitchen Angus McCraw *Factor Assays Based on APTT (One-Stage Assay of FVIII:C, FIX, FXI, or FXII)*, Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, p. 67 – 69.

3. Gosselin RC, Marlar RA. Pre-analytical variables in coagulation testing: setting the stage for accurate results. *Sem Thromb Hemost.* 2019;45:433-448.

4. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

57. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ XII

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu nội sinh XII trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Thời gian APTT của huyết tương phụ thuộc vào hoạt tính các yếu tố đông máu tham gia vào con đường đông máu nội sinh, trong đó có yếu tố XII.

- Hóa chất định lượng hoạt tính yếu tố đông máu XII bằng phương pháp một thì là huyết tương người đã làm nghèo yếu tố cần xét nghiệm trong khi nồng độ các yếu tố khác bình thường. Để định lượng yếu tố XII của người bệnh, người ta tiến hành pha loãng huyết tương người bệnh, sau đó huyết tương này được trộn với hóa chất định lượng yếu tố XII với tỉ lệ 1/1, sự thay đổi thời gian APTT của mẫu huyết tương chuẩn thiếu hụt yếu tố XII tỷ lệ với nồng độ hoạt tính yếu tố XII của mẫu bệnh phẩm, từ đó đo được nồng độ hoạt tính yếu tố XII.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y
- 01 Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu XII.
- Hóa chất thực hiện xét nghiệm APTT.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Nước cất.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.

- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Huyết tương: Trong điều kiện không bàn giao được đến phòng xét nghiệm hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách ngay huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng XN.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm mẫu để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Trường hợp là mẫu huyết tương bảo quản dưới -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Trường hợp mẫu tan đông không được phân tích ngay thì thời gian có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu XII trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả định lượng yếu tố đông máu được báo cáo dưới dạng đơn vị % hoặc tương đương.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ yếu tố đông máu thấp ở giai đoạn sơ sinh, sau đó tăng dần và ổn định khi trưởng thành. Nồng độ hoạt tính yếu tố XII: 50% - 150%.

+ Nồng độ yếu tố đông máu nội sinh có thể giảm trong một số trường hợp như bệnh thiếu yếu tố XII bẩm sinh hoặc mắc phải (hội chứng thận hư, leukemia,…).

+ Nồng độ yếu tố đông máu nội sinh có thể tăng trong một số trường hợp tăng đông như có thai, nhiễm trùng, ung thư, ...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Đỗ Trung Phấn và cộng sự (2013), Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (tái bản lần thứ 2), Nhà xuất bản Y học năm 2013

2. Steve Kitchen Angus McCraw *Factor Assays Based on APTT (One-Stage Assay of FVIII:C, FIX, FXI, or FXII)*, Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, p. 67 – 69.

3. Gosselin RC, Marlar RA. Pre-analytical variables in coagulation testing: setting the stage for accurate results. *Sem Thromb Hemost.* 2019;45:433-448.

4. Azaad MA, Zhang Q, Li Y. Factor XII (Hageman Factor) Deficiency: A Very Rare Coagulation Disorder. *Open J Blood Dis*. 2015;05(04):39. doi:10.4236/ojbd.2015.54006

5. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

58. ĐỊNH LƯỢNG α2 ANTIPLASMIN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng antiplasmin – một chất ức chế plasmin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Huyết tương của người bệnh có chứa antiplasmin khi được ủ với một lượng plasmin biết trước sẽ xảy ra phản ứng: antiplasmin + plasmin → phức hợp plasmin - antiplasmin + plasmin (dư). Xác định lượng Plasmin dư dựa vào hoạt tính của nó trên cơ chất tạo màu tổng hợp. Lượng dư plasmin đo được tỉ lệ nghịch với lượng Antiplasmin có trong mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng hoạt tính antiplasmin.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Trường hợp mẫu tan đông không được phân tích ngay thì thời gian có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng Antiplasmin trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả hoạt tính Antiplasmin được báo cáo dưới dạng % hoặc tương đương.

+ Bình thường antiplasmin ở người trưởng thành trong khoảng 80% - 120%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ antiplasmin giảm do nguyên nhân bẩm sinh hoặc mắc phải, dẫn đến tăng tiêu sợi huyết.

+ Nồng độ hoạt tính antiplasmin tăng là yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Zakrzewski M, Zakrzewska E, Kiciński P, et al. Evaluation of Fibrinolytic Inhibitors: Alpha-2-Antiplasmin and Plasminogen Activator Inhibitor 1 in Patients with Obstructive Sleep Apnoea. *PLoS ONE*. 2016;11(11):e0166725. doi:10.1371/journal.pone.0166725

3. Longstaff C. Measuring fibrinolysis: from research to routine diagnostic assays. *J Thromb Haemost*. 2018;16(4):652-662. doi:10.1111/jth.13957

59. ĐO ĐỘ ĐÀN HỒI CỤC MÁU (TEG –thromboElastoGraphy) THÔNG THƯỜNG HOẶC TRUNG HÒA HEPARIN (TEG – HEPARINASE) HOẶC ỨC CHẾ TIỂU CẦU (TEG-PLATELET BLOCKER) HOẶC ỨC CHẾ TIÊU SỢI HUYẾT (TEG – ANTIFIBRINOLYTIC DRUG)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá sự thay đổi động học quá trình đông máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Quá tình đông cầm máu có sự tham gia của rất nhiều yếu tố: các yếu tố đông máu, tiểu cầu, các thành phần khác như hồng cầu, bạch cầu. TEG là một trong những xét nghiệm thuộc nhóm phản ánh một cách tổng thể quá trình đông máu với sự tham gia của hầu hết các yếu tố trong quá trình đông máu.

Trong đó tùy thuộc vào hóa chất sử dụng để kích hoạt con đường đông máu nội sinh, ngoại sinh hoặc trung hòa heparin, ức chế tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm TEG tùy thuộc vào mỗi loại kit.
- Hóa chất nội kiểm (nếu có).
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm TEG.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in màu, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, lấy cân bằng.
- Xử lý mẫu: Đặt mẫu vào buồng ủ của máy.
- Chọn loại xét nghiệm phù hợp.
- Tiến hành kỹ thuật theo các bước theo hướng dẫn.
- Theo dõi hoạt động của máy trong quá trình đo.
- In kết quả sau khi hoàn thành.

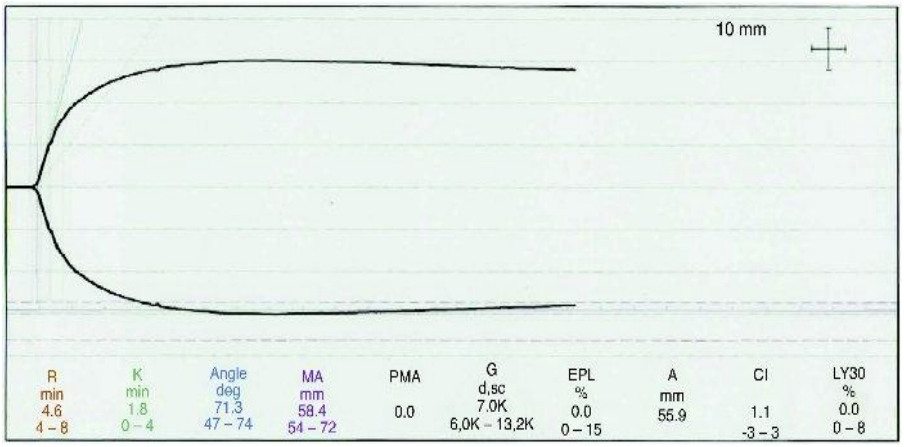
4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả được trả gồm biểu đồ đo và các chỉ số:

+ 6 chỉ số thông dụng được sử dụng khi nhận định kết quả TEG: CI, R, K, góc alpha, MA, Lys 30.

+ Biểu đồ:



+ Các chỉ số thường quy và ý nghĩa:

Chỉ số	Giá trị bình thường	Đánh giá kết quả
CI (Coagulation Index): Chỉ số đông.	Từ -3 đến + 3	< -3: Giảm đông; > +3: Tăng đông.
R (Reaction time): thời gian phản ứng.	Từ 2 đến 8 phút	< 2: Tăng nồng độ yếu tố đông máu; > 8: Thiếu hụt hoặc có chất ức chế yếu tố đông máu.
K (Clot kinetic): động học hình thành cục đông.	Từ 1 đến 3 phút	< 1: Tăng nồng độ yếu tố đông máu, tăng số lượng tiểu cầu; > 3: Giảm nồng độ yếu tố đông máu, giảm nặng số lượng tiểu cầu.
Góc α	Từ 55^o đến 78^o	> 78^o: Tăng nồng độ yếu tố đông máu, tăng số lượng tiểu cầu; < 55^o: Giảm nồng độ yếu tố đông máu, giảm số lượng tiểu cầu.
MA (Maximum Amplitude): biên độ tối đa.	Từ 51 đến 69 mm	< 51mm: Giảm số lượng và/hoặc chất lượng tiểu cầu, fibrinogen; > 69 mm: Tăng số lượng và/hoặc chất lượng tiểu cầu, fibrinogen.
Lys 30 (Lysis at 30 minutes): tiêu cục đông ở thời điểm 30 phút sau khi có MA.	Từ 0 đến 8%	> 8%: Tiêu sợi huyết nặng.

+ Kết quả được chấp nhận khi trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi.

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), kết quả kiểm soát chất lượng, các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

+ Bác sĩ/cử nhân đánh giá, in, ký duyệt kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Hematocrite quá thấp hoặc đa hồng cầu.

Giải pháp: cần cân nhắc khi biện luận kết quả.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.
- Máy không đảm bảo cân bằng.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.
- Nội, ngoại kiểm soát (nếu có) theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Shaydakov ME, Sigmon DF, Blebea J. Thromboelastography. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed October 2, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537061/

3. Whiting D, DiNardo JA. TEG and ROTEM: Technology and clinical applications. *Am J Hematol*. 2014;89(2):228-232. doi:10.1002/ajh.23599

60. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP ADP HOẶC COLLAGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG HỌC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng ngưng tập của tiểu cầu với ADP hoặc collagen.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khả năng ngưng tập tiểu cầu (NTTC) là khả năng các tiểu cầu kết dính với nhau thành từng đám, nhờ hiện tượng ngưng tập mà tiểu cầu thực hiện được chức năng của mình.

- Mật độ quang học (độ đục) của huyết tương giàu tiểu cầu tỷ lệ với nồng độ tiểu cầu. Khi quá trình NTTC xảy ra, nồng độ tiểu cầu dưới dạng các phân tử riêng biệt sẽ giảm và độ truyền sáng tăng. Muốn nghiên cứu sự ngưng tập tiểu cầu do một chất nào đó gây ra ta thêm chất đó vào huyết tương giàu tiểu cầu và ghi lại quá trình ngưng tập.

- Đo quá trình ngưng tập tiểu cầu bằng phương pháp quang học: khi cho chất kích tập như ADP hoặc Collagen vào huyết tương giàu tiểu cầu sẽ xảy ra hiện tượng NTTC, do đó làm tăng mức độ dẫn truyền ánh sáng. Mức độ dẫn truyền ánh sáng phản ánh độ ngưng tập tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu: ADP, collagen.
- Nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống đo bằng thủy tinh.
- Bi từ.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu.
- Máy ly tâm.

- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, không đục, không tan máu. Số lượng tiểu cầu khuyến cáo > 100G/L.
- Lưu ý: Người bệnh làm xét nghiệm cần tránh ăn các thức ăn nhiều chất béo, giàu gia vị, các loại thuốc (nếu có thể) trong vòng 1 tuần trước xét nghiệm và cần ghi chú thông tin thuốc sử dụng trên phiếu chỉ định xét nghiệm; nhịn ăn tối thiểu 4 giờ trước khi làm xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1.5 giờ cho một chất kích tập .

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

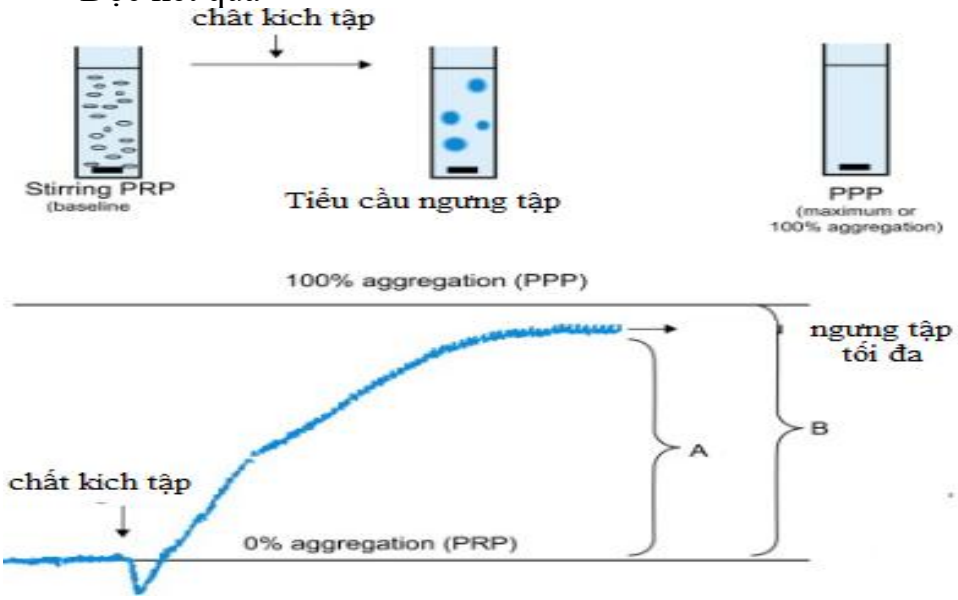
+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Ly tâm tốc độ 170g/phút trong 10 phút để thu được huyết tương giàu tiểu cầu.
- Chuẩn bị huyết tương nghèo tiểu cầu làm ống chứng: ly tâm tốc độ tối thiểu 1500g/phút trong 15 phút.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Hút lần lượt 0,5 ml huyết tương giàu tiểu cầu của người bệnh vào ống bệnh (có bi từ) và 0,5 ml huyết tương nghèo tiểu cầu vào ống chứng.
- Ủ ống bệnh trong buồng ủ của máy 5 phút.
- Đặt ống bệnh và ống chứng vào vị trí trên máy đo.
- Đặt baseline.
- Đo độ ngưng tập tiểu cầu bằng cách cho chất kích tập (ADP/Collagen) vào huyết tương giàu tiểu cầu. Quan sát, theo dõi đồ thị của quá trình ngưng tập.

- Khi độ ngưng tập đạt tối đa, dừng xét nghiệm, tính kết quả.
- In, lưu kết quả.
- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả



NTTC tính dựa vào khoảng cách từ đường cơ bản (baseline) (A) đến đường ngưng tập lý thuyết 100% (B). Tỷ lệ % ngưng tập = A/B.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Bình thường: Độ ngưng tập ADP 59 - 88 %

Độ ngưng tập với Collagen 58 - 78 %

+ Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp

+ Ngưng tập tiểu cầu giảm trong một số bệnh lý bất thường chức năng tiểu cầu bẩm sinh (Glanzmann, ...) hoặc mắc phải (tăng bạch cầu ưa acid do nhiễm kí sinh trùng, một số loại thuốc, tăng sinh tủy, tăng ure máu...) hoặc người bệnh điều trị thuốc kháng ngưng tập tiểu cầu như aspirin, clopidogrel...

+ Ngưng tập tiểu cầu tăng trong một số trường hợp tăng hoạt hóa tiểu cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu, số lượng tiểu cầu thấp.

Giải pháp: Từ chối mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá, bảo dưỡng trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Paul Harrison et al (2011), **"***Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function*", British Journal of Haematology,155,30–44

4. Cattaneo, M., Lecchi, A., Zighetti, M.L. & Lussana,F. (2007) *Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count*.Haematologica,92,694–697

61. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP RISTOCETIN/EPINEPHRIN/A. ARACHIDONIC/THROMBIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG HỌC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng ngưng tập của tiểu cầu với ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khả năng ngưng tập tiểu cầu (NTTC) là khả năng các tiểu cầu kết dính với nhau thành từng đám, nhờ hiện tượng ngưng tập mà tiểu cầu thực hiện được chức năng của mình.

- Mật độ quang học (độ đục) của huyết tương giàu tiểu cầu tỷ lệ với nồng độ tiểu cầu. Khi quá trình NTTC xảy ra, nồng độ tiểu cầu dưới dạng các phân tử riêng biệt sẽ giảm và độ truyền sáng tăng. Muốn nghiên cứu sự ngưng tập tiểu cầu do một chất nào đó gây ra ta thêm chất đó vào huyết tương giàu tiểu cầu và ghi lại quá trình ngưng tập.

- Đo quá trình ngưng tập tiểu cầu bằng phương pháp quang học: khi cho chất kích tập như ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin vào huyết tương giàu tiểu cầu sẽ xảy ra hiện tượng NTTC, do đó làm tăng tốc độ dẫn truyền ánh sáng. Mức độ dẫn truyền ánh sáng phản ánh độ ngưng tập tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu: ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin.
- Nước cất.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống đo bằng thủy tinh.
- Bi từ.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, không đục, không tan máu. Số lượng tiểu cầu khuyến cáo > 100 G/L.
- Lưu ý: Người bệnh làm xét nghiệm cần tránh ăn các thức ăn nhiều chất béo, giàu gia vị, các loại thuốc (nếu có thể) trong vòng 1 tuần trước xét nghiệm và cần ghi chú thông tin thuốc sử dụng trên phiếu chỉ định xét nghiệm; nhịn ăn tối thiểu 4 giờ trước khi làm xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1.5 giờ với 1 chất kích tập

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

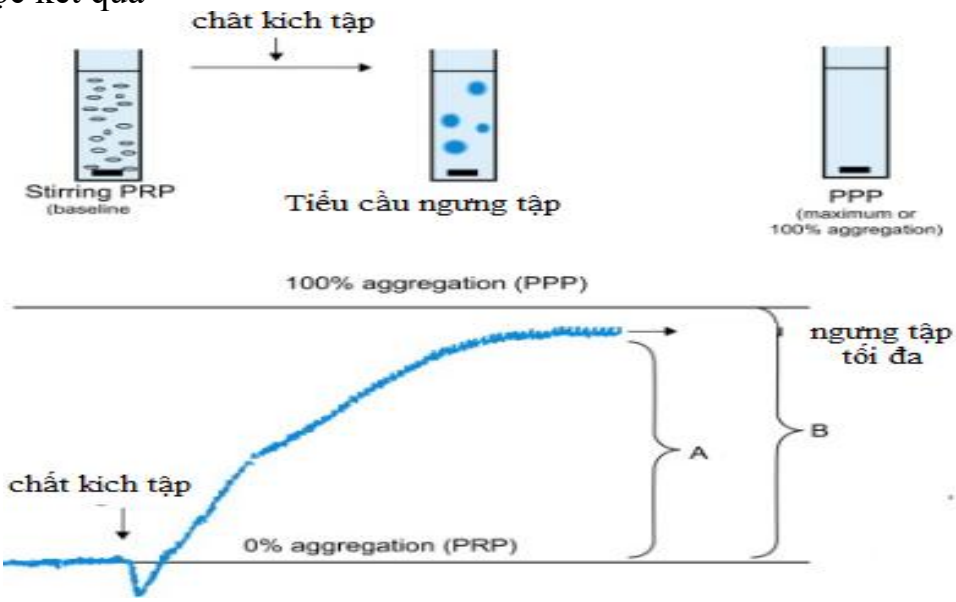
+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Ly tâm tốc độ 170g/phút trong 10 phút để thu được huyết tương giàu tiểu cầu
- Chuẩn bị huyết tương nghèo tiểu cầu làm ống chứng: ly tâm tốc độ tối thiểu 1500g/phút trong 15 phút.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động

- Hút lần lượt 0,5 ml huyết tương giàu tiểu cầu của người bệnh vào ống bệnh (có bi từ) và 0,5 ml huyết tương nghèo tiểu cầu vào ống chứng.
- Ủ ống bệnh trong buồng ủ của máy 5 phút
- Đặt ống bệnh và ống chứng vào vị trí trên máy đo
- Đặt baseline
- Đo độ ngưng tập tiểu cầu bằng cách cho chất kích tập (ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin) vào huyết tương giàu tiểu cầu. Quan sát, theo dõi đồ thị của quá trình ngưng tập.
- Khi độ ngưng tập đạt tối đa, dừng xét nghiệm, tính kết quả.
- In, lưu kết quả.
- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả



NTTC tính dựa vào khoảng cách từ đường cơ bản (baseline) (A) đến đường ngưng tập lý thuyết 100% (B). Tỷ lệ % ngưng tập = A/B.

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Bình thường:

Độ ngưng tập Ristocetin 55 - 78 %

Độ ngưng tập với acid Arachidonic 74 - 99 %

Độ ngưng tập với Epinephrine 74 - 99 %

Độ ngưng tập với thrombin 58 - 89 %

+ Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp

+ Ngưng tập tiểu cầu giảm trong một số bệnh lý bất thường chức năng tiểu cầu bẩm sinh (Glanzmann, Benard Soulier, bất thường kho dự trữ tiểu cầu) hoặc mắc phải (tăng bạch cầu ưa acid do nhiễm kí sinh trùng, một số loại thuốc, tăng sinh tủy, tăng ure máu...) hoặc người bệnh điều trị thuốc kháng ngưng tập tiểu cầu như aspirin, clopidogrel...

+ Ngưng tập tiểu cầu tăng trong một số trường hợp tăng hoạt hóa tiểu cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu, tiểu cầu giảm.

Giải pháp: Từ chối mẫu.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá, bảo dưỡng trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Paul Harrison et al (2011), **"***Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function*", British Journal of Haematology,155,30–44

4. Cattaneo, M., Lecchi, A., Zighetti, M.L. & Lussana,F. (2007) *Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count*.Haematologica,92,694–697

62. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP ADP HOẶC COLLAGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP TRỞ KHÁNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng ngưng tập của tiểu cầu với ADP hoặc collagen.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khả năng ngưng tập: Là khả năng các tiểu cầu kết dính với nhau thành từng đám (nút tiểu cầu), nhờ khả năng ngưng tập mà tiểu cầu thực hiện được chức năng của mình. Khi thêm chất kích tập, các tiểu cầu ngưng tập, gắn vào vị trí 2 điện cực làm tăng điện trở. Sự gia tăng điện trở đó phản ánh độ ngưng tập tiểu cầu (đơn vị: Ω). Xét nghiệm này sử dụng máu toàn phần và có thể thực hiện ở người bệnh có số lượng tiểu cầu thấp.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu: ADP, collagen.
- Nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette đã có gắn 2 điện cực.
- Bi khuấy.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông.

- Lưu ý: Người bệnh làm xét nghiệm cần tránh ăn các thức ăn nhiều chất béo, giàu gia vị, các loại thuốc (nếu có thể) trong vòng 1 tuần trước xét nghiệm và cần ghi chú thông tin thuốc sử dụng trên phiếu chỉ định xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1.5 giờ cho 1 chất kích tập.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Nếu số lượng tiểu cầu của mẫu < 100 G/L thì không cần pha loãng, nếu > 100 G/L thì cần pha loãng (trừ xét nghiệm với ADP, pha loãng khi TC > 200 G/L): pha loãng bằng dung dịch NaCL 0,9% tỷ lệ 1:1.

- Phân phối mẫu vào Cuvette có chứa sẵn điện cực.

- Đặt cuvette chứa mẫu của người bệnh vị trí trên máy đo.

- Lấy baseline.

- Đo độ ngưng tập tiểu cầu bằng cách cho chất kích tập (ADP/Collagen) vào mẫu máu toàn phần.

- Quan sát, theo dõi đồ thị của quá trình ngưng tập.

- Khi độ ngưng tập đạt tối đa, dừng xét nghiệm, tính kết quả.

- In, lưu kết quả.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả:

+ Kết quả độ ngưng tập tiểu cầu được biểu thị dưới dạng đơn vị điện trở (Ω).

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Bình thường: Độ ngưng tập ADP 12 - 33 Ohms

Độ ngưng tập với Collagen 6 - 33 Ohms

+ Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp

+ Ngưng tập tiểu cầu giảm trong một số bệnh lý bất thường chức năng tiểu cầu bẩm sinh (Glanzmann, ...) hoặc mắc phải (tăng bạch cầu ưa acid do nhiễm kí sinh trùng, một số loại thuốc, tăng sinh tủy, tăng ure máu...) hoặc người bệnh điều trị thuốc kháng ngưng tập tiểu cầu như aspirin, clopidogrel...

+ Ngưng tập tiểu cầu tăng trong một số trường hợp tăng hoạt hóa tiểu cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: một số loại thuốc, các loại gia vị...có thể ảnh hưởng đến chức năng tiểu cầu.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá, bảo dưỡng trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Paul Harrison et al (2011),**"***Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function*", British Journal of Haematology,155,30–44
4. Cattaneo, M., Lecchi, A., Zighetti, M.L. & Lussana,F. (2007) *Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count*.Haematologica,92,694–697.

63. ĐO ĐỘ NGƯNG TẬP TIỂU CẦU VỚI CHẤT KÍCH TẬP RISTOCETIN/EPINEPHRIN/ACIDE ARACHIDONIC/THROMBIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP TRỞ KHÁNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng ngưng tập của tiểu cầu với ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khả năng ngưng tập: Là khả năng các tiểu cầu kết dính với nhau thành từng đám (nút tiểu cầu), nhờ hiện tượng ngưng tập mà tiểu cầu thực hiện được chức năng của mình. Khi thêm chất kích tập, các tiểu cầu ngưng tập, gắn vào vị trí 2 điện cực làm tăng điện trở. Sự gia tăng điện trở đó phản ánh độ ngưng tập tiểu cầu (đơn vị: Ω). Xét nghiệm sử dụng máu toàn phần và có thể thực hiện ở người bệnh có số lượng tiểu cầu thấp.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu
- Bàn để giá mẫu

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin được pha loãng bằng dung dịch phù hợp theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Nước muối sinh lý
- Dung dịch sát khuẩn

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate
- Bơm kim tiêm
- Cuvette đã có gắn 2 điện cực
- Bi khuấy
- Đầu côn
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đo độ ngưng tập tiểu cầu
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông.

- Lưu ý: Người bệnh làm xét nghiệm cần tránh ăn các thức ăn nhiều chất béo, giàu gia vị, các loại thuốc (nếu có thể) trong vòng 1 tuần trước xét nghiệm và cần ghi chú thông tin thuốc sử dụng trên phiếu chỉ định xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1.5 giờ với một chất kích tập.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Nếu số lượng tiểu cầu của mẫu < 100 G/L thì không cần pha loãng, > 100 G/L thì cần pha loãng: Pha loãng bằng dung dịch NaCL 0,9% tỷ lệ 1:1.

- Phân phối mẫu vào Cuvette có chứa sẵn điện cực.

- Đặt cuvette chứa mẫu của người bệnh vị trí trên máy đo.

- Lấy baseline.

- Đo độ ngưng tập tiểu cầu bằng cách cho chất kích tập (Ristocetin/epinephrine/acid arachidonic/thrombin) vào mẫu máu toàn phần.

- Quan sát, theo dõi đồ thị của quá trình ngưng tập.

- Khi độ ngưng tập đạt tối đa, dừng xét nghiệm, tính kết quả.

- In, lưu kết quả.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả:

+ Kết quả độ ngưng tập tiểu cầu được biểu thị dưới dạng đơn vị điện trở (Ω).

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sang của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Bình thường: Độ ngưng tập Ristocetin > 5 Ohms

Độ ngưng tập với acid arachidonic 7 - 29 Ohms

+ Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp

+ Ngưng tập tiểu cầu giảm trong một số bệnh lý bất thường chức năng tiểu cầu bẩm sinh (Glanzmann, ...) hoặc mắc phải (tăng bạch cầu ưa acid do nhiễm kí sinh trùng, một số loại thuốc, tăng sinh tủy, tăng ure máu, ...) hoặc người bệnh điều trị thuốc kháng ngưng tập tiểu cầu như aspirin, clopidogrel, ...

+ Ngưng tập tiểu cầu tăng trong một số trường hợp tăng hoạt hóa tiểu cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: một số loại thuốc, các loại gia vị... có thể ảnh hưởng đến chức năng tiểu cầu.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá, bảo dưỡng trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Paul Harrison et al (2011), **"**Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function", British Journal of Haematology,155,30–44

4. Cattaneo, M., Lecchi, A., Zighetti, M.L. & Lussana,F. (2007) Platelet aggregation studies: autologous platelet-poor plasma inhibits platelet aggregation when added to platelet-rich plasma to normalize platelet count.Haematologica,92,694–697

64. ĐO ĐỘ QUÁNH MÁU/HUYẾT TƯƠNG (WHOLE BLOOD/PLASMA VISCOSITY TEST)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định độ quánh của huyết tương/máu toàn phần.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo độ quánh của máu toàn phần hoặc huyết tương bằng kỹ thuật FOR (Free Oscillation Rheometry), dựa vào sự thay đổi tần số và biên độ dao động tự do và so sánh với đồ thị chuẩn để tính ra độ quánh của mẫu cần đo.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Nước cất.
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.
- Cup đo độ quánh.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đo độ quánh.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Xét nghiệm đo độ quánh máu: Máu toàn phần được chống đông bằng EDTA, bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-25^{o}C), thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Xét nghiệm đo độ quánh huyết tương: Huyết tương nghèo tiểu cầu được tách từ máu toàn phần được chống đông bằng EDTA, bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-25^{o}C), thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Xét nghiệm đo độ quánh máu: Máu toàn phần được chống đông bằng EDTA, để ở nhiệt độ phòng (15-25^{o}C) trước khi làm xét nghiệm.

+ Xét nghiệm đo độ quánh huyết tương: Ly tâm mẫu để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm đo độ quánh huyết tương/ toàn phần theo quy trình vận hành. Theo dõi máy trong quá trình vận hành và ghi nhận lại kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả.

+ Kết quả đo độ quánh huyết tương/toàn phần được báo cáo dưới dạng đơn vị mPas hoặc tương đương.

+ Độ quánh của người bình thường:

Độ quánh huyết tương: 1,6 - 1,8 mPas.

Độ quánh máu toàn phần: 4,4 – 6,3 mPas.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, kết quả xét nghiệm khác như protein (globulin, fibrinogen, huyết sắc tố, ...), thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm.

+ Độ quánh huyết tương liên quan đến nồng độ protein trong đó chủ yếu là globulin, fibrinogen,… Độ quánh tăng trong các bệnh như đa u tủy xương, Waldenstrom, tăng fibrinogen, …

+ Độ quánh máu toàn phần tăng trong đa hồng cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện hiệu chuẩn theo quy định, kết quả đạt.
- Kiểm tra, đánh giá, bảo dưỡng trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Harkness J et al “The viscosity of human blood plasma and its change in disease and on exhibition of drug”, Rheology in medicine and pharmacy.

2.MediRox AB (2007), Instruction Manual for ReoRox Junior, p 1-43.

65. NGHIỆM PHÁP RƯỢU (ETHANOL TEST)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính phức hệ fibrin monomer hòa tan.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dưới tác dụng của thrombin, fibrinogen sẽ chuyển thành fibrin monomer hòa tan sau đó chuyển thành fibrin. Fibrin monomer hòa tan có thể tạo thành phức hợp với fibrinogen và các sản phẩm thoái giáng của fibrin/fibrinogen (FDP). Phức hệ fibrin monomer hòa tan phản ánh tình trạng hoạt hóa quá mức hệ thống đông máu trong cơ thể và phức hệ này có thể được phát hiện in vitro bởi ethanol.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Cồn tuyệt đối.
- Thrombin.
- Nước cất.
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75x 9,5mm.
- Nút bông mỡ/ Parafilm.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Tủ lạnh 2-8^{o}C.
- Đồng hồ hẹn giờ.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Huyết tương chứng: Huyết tương giàu tiểu cầu được tách từ mẫu máu toàn phần của người bệnh không có rối loạn đông máu được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu người bệnh: Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1.5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm mẫu máu toàn phần tốc độ 170-200g/phút trong 10 phút để thu huyết tương giàu tiểu cầu.

- Chuẩn bị máy ống chứng và ống người bệnh.

+ Chứng dương:

Hút 0,1 ml thrombin và 0,9 ml huyết tương của người bình thường vào ống ghi "Chứng + Thrombin" và ủ trong bình cách thủy 30 phút.

Phân phối 0,45 ml mẫu hỗn hợp trên vào ống nghiệm ghi chứng dương.

+ Chứng âm: Hút 0,45 ml huyết tương giàu tiểu cầu của người bình thường vào ống ghi chứng âm.

+ Mẫu bệnh: Hút 0,45 ml huyết tương giàu tiểu cầu của người bệnh vào ống ghi người bệnh.

- Kiểm soát chất lượng

+ Thực hiện mẫu chứng ngay khi thực hiện xét nghiệm cho người bệnh. Đánh giá kết quả thu được, nếu mẫu chứng âm cho kết quả âm tính, mẫu chứng

dương cho kết quả dương tính (+++) là đạt yêu cầu, công nhận kết quả của mẫu người bệnh.

- Thực hiện xét nghiệm:

+ Thêm 0,15 ml cồn 50° vào ống nghiệm chứa 0,45 ml huyết tương của người bệnh, huyết tương chứng âm và huyết tương chứng dương.

+ Nút kín ống nghiệm bằng nút bông mỡ/parafilm.

+ Đặt ống nghiệm vào tủ lạnh 4°C.

+ Khởi động đồng hồ bấm giây.

+ Lấy ống nghiệm ra sau 10 phút và đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả từng ống nghiệm: Nguyên tắc chung:

+ Nếu có sự hình thành gel là kết quả dương tính. Đánh giá mức độ dương tính dựa vào mức độ gel: Dương tính (+), (++), (+++)

+ Nếu không hình thành gel: kết quả âm tính

- Mẫu chứng đạt khi:

+ Mẫu chứng âm cho kết quả âm tính

+ Mẫu chứng dương cho kết quả Dương tính (+++)

+ Nếu một trong 2 mẫu chứng không đạt điều tra nguyên nhân và thực hiện ngay các hành động khắc phục, thực hiện lại xét nghiệm với mẫu chứng cho đến khi kết quả đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh.

- Nhận định kết quả:

+ Mẫu người bệnh: Bình thường âm tính

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng; kết quả tiền sử; kết quả xét nghiệm khác như đông máu cơ bản, số lượng tiểu cầu,...; thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Diễn giải kết quả bất thường:

+ Dương tính: Phản ánh tình trạng tăng hoạt hóa quá trình đông máu trong cơ thể (tình trạng tăng đông) như đông máu rải rác trong lòng mạch (DIC), tăng đông trong sản khoa, huyết khối...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, vỡ hồng cầu, fibrinogen tăng cao.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Tủ lạnh không đảm bảo nhiệt độ.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng và theo dõi nhiệt độ tủ lạnh theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện mẫu chứng ngay khi thực hiện xét nghiệm cho người bệnh, kết quả đạt.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ *"Nghiệm pháp Ethanol để phát hiện fibrin monomer*", Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội, Tr 87 – 88.
2. Francis A Breen. *"Ethanol Gelation: A Rapid Screening Test for Intravascular Coagulation Ann Intern MED"*.1968;69(6):1197-1206

66. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM – Rotation thromboElastometry) NỘI SINH (INTEM) HOẶC NGOẠI SINH (EXTEM) HOẶC ĐƯỜNG CHUNG (NATEM)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá sự thay đổi động học quá trình đông máu con đường nội sinh/ ngoại sinh hoặc đường chung.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM) là xét nghiệm ghi lại sự thay đổi động học quá trình đông máu của máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng citrate thông qua hệ thống cup (chứa mẫu máu với sự có mặt của các chất hoạt hóa hoặc ức chế) và pin (ghi nhận hiện tượng đông máu). Các biến đổi động học được ghi lại thông qua hệ thống quang học và kết quả được biểu thị bằng đồ thị và các chỉ số.

- Trong đó kích hoạt con đường đông máu nội sinh trong xét nghiệm INTEM, con đường ngoại sinh (EXTEM) và con đường đông máu chung (NATEM).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y hoặc điều dưỡng được đạo tạo.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu
- Bàn để giá mẫu

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất Intem/extem
- Hóa chất Star-tem
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có)
- Hoá chất khử trùng

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate
- Bơm kim tiêm
- Đầu côn
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm ROTEM
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in màu, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2.5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

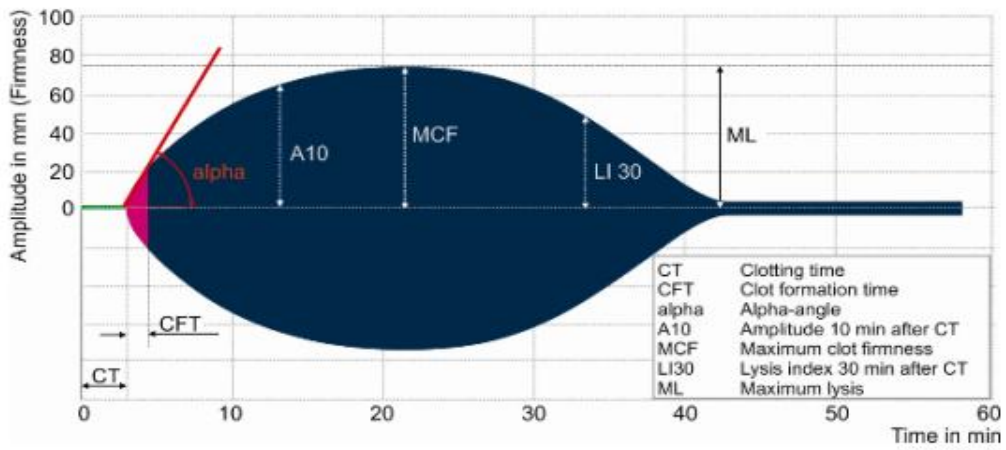
- Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng
- Xử lý mẫu: Đặt mẫu vào buồng ủ của máy, chờ 5 phút
- Chọn kênh xét nghiệm và loại xét nghiệm trên máy ROTEM
- Tiến hành kỹ thuật theo các bước được hướng dẫn hiển thị trên màn hình của máy.
- Theo dõi hoạt động của máy trong quá trình đo
- In kết quả sau khi hoàn thành

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả được trả gồm biểu đồ đo và các chỉ số

+ Biểu đồ:



+ Các chỉ số thường quy và ý nghĩa:

Chỉ số	Ý nghĩa
CT (Coagulation time): Thời gian đông (s)	- CT là thời gian tính từ khi bắt đầu xét nghiệm bằng việc cho chất kích hoạt đông máu, cho đến khi biên độ cục đông đạt được 2mm
CFT (clotting formation time): Thời gian hình thành cục đông (s)	- CFT là thời gian từ bắt đầu đông máu cho đến khi cục máu đạt độ chắc có kích thước 20 mm, là giai đoạn polyme hoá fibrin, ổn định cục máu - Các yếu tố chính tham gia giai đoạn này: Tiểu cầu (số lượng, chất lượng), fibrinogen, yếu tố XIII
Góc alpha (º)	- Góc được xác định là góc giữa trục X và đường tiếp tuyến với đường cong đông máu qua điểm có biên độ 2mm, mô tả động học của quá trình đông máu - Góc alpha hẹp có thể do bất thường tiểu cầu (số lượng, chất lượng), fibrinogen, yếu tố XIII
MCF (Maximum clot firmness): Độ chắc tối đa của cục đông (mm)	- Là biên độ tối đa của cục đông đạt được trước khi tiêu fibrin. Thể hiện độ chắc và chất lượng của cục đông. - MCF phản ánh vai trò của tiểu cầu, sợi huyết, yếu tố XIII; MCF giảm trong một số trường hợp như giảm fibrinogen, giảm tiểu cầu/bất thường chức năng tiểu cầu, thiếu yếu tố XIII
A (x) (mm)	- Biên độ của cục máu đông đạt được x (phút) sau CT (ví dụ: A5 là biên độ 5 phút sau CT); - MCF phản ánh vai trò của tiểu cầu, sợi huyết, yếu tố XIII
LI (x) (%)	- Là chỉ số ly giải, thể hiện mức độ tiêu fibrin tại thời điểm x (phút) sau CT (% biên độ cục máu còn lại so với MCF) - Công thức: LI (x)= A (x)/ MCF*100 (A (x): Biên độ của cục máu đông đạt được x (phút) sau CT)

Chỉ số	Ý nghĩa
	- LI giảm thể hiện cục đông không bền vững, có thể gặp trong tiêu sợi huyết, DIC, thiếu yếu tố XIII
ML (maximum lysis) (%): chỉ số ly giải tối đa	- Thể hiện tỷ lệ tiêu fibrin tối đa (% tối đa biên độ cục máu bị suy giảm so với MCF) - Công thức: (MCF - Biên độ thấp nhất của cục máu)/MCF

+ Kết quả ngoài giá trị tham chiếu được cảnh báo in đậm trên phiếu trả kết quả và biểu tượng mũi tên trên biểu đồ đo.

+ Kết quả được chấp nhận khi trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi.

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), kết quả kiểm soát chất lượng, các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

- Bác sĩ/cử nhân đánh giá, in, ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả: Kết quả bất thường trong một số trường hợp sau:

+ Giảm đông:

- CT kéo dài: Thiếu hụt yếu tố đông máu hoặc có chất kháng đông lưu hành đường đông máu nội sinh, dùng thuốc chống đông.
- CFT kéo dài: bất thường tiểu cầu, fibrinogen.
- MCF, biên độ cục đông giảm: bất thường tiểu cầu, fibrinogen, thiếu yếu tố XIII, tiêu sợi huyết.

+ Cục đông không ổn định: tiêu sợi huyết, thiếu yếu tố XIII.

+ Tăng đông có thể thể hiện qua các chỉ số CT, CFT ngắn, góc α tăng, biên độ cục đông tăng.

- Ý nghĩa xét nghiệm:

+ Là xét nghiệm đánh giá tổng thể tình trạng đông cầm máu

+ Hướng dẫn truyền chế phẩm điều trị

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm.

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Hematocrite quá thấp hoặc đa hồng cầu.

Giải pháp: Cần cân nhắc khi biện luận kết quả.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rotem delta Operating manual, version manual 2.2.0.01.EN

2. Oliver Michel et al, "*Rotation thromboelastometry (ROTEM®) stability and reproducibility over time"* European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, Volume37, Issue 3, 1 March 2010, Pages 677–683

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Klaus Görlinger1,2, Antonio Pérez-Ferrer et al "*The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management",* Korean Journal of Anesthesiology, 72(4): 297-32

67. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM: ROTATION THROMBOELASTOMETRY) ỨC CHẾ TIỂU CẦU (FIBTEM)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá chức năng của sợi huyết cũng như vai trò của tiểu cầu khi tiến hành đồng thời EXTEM và FIBTEM.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM) là xét nghiệm ghi lại sự thay đổi động học quá trình đông máu của máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng citrate thông qua hệ thống cup (chứa mẫu máu với sự có mặt của các chất hoạt hóa hoặc ức chế) và pin (ghi nhận hiện tượng đông máu). Các biến đổi động học được ghi lại thông qua hệ thống quang học và kết quả được biểu thị bằng đồ thị và các chỉ số. Trong xét nghiệm FIBTEM, con đường đông máu ngoại sinh được kích hoạt khi đã ức chế tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y hoặc Điều dưỡng được đạo tạo.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất Extem.
- Hóa chất Fibtem chứa chất ức chế tiểu cầu.
- Hóa chất nội kiểm (nếu có).
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm ROTEM.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in màu, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2.5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định .xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Xử lý mẫu: Đặt mẫu vào buồng ủ của máy, chờ 5 phút.
- Chọn kênh xét nghiệm và xét nghiệm FIBTEM trên máy ROTEM.
- Tiến hành kỹ thuật theo các bước được hướng dẫn hiển thị trên màn hình của máy.
- Theo dõi hoạt động của máy trong quá trình đo.
- In kết quả sau khi hoàn thành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:
- Kết quả được trả gồm biểu đồ đo và các chỉ số
- **Các chỉ số thường quy và ý nghĩa:**

Chỉ số	Ý nghĩa
CT (Coagulation time): Thời gian đông (s)	- CT là thời gian tính từ khi bắt đầu xét nghiệm bằng việc cho chất kích hoạt đông máu, cho đến khi biên độ cục đông đạt được 2mm
CFT (clotting formation time): Thời gian hình thành cục đông (s)	- CFT là thời gian từ bắt đầu đông máu cho đến khi cục máu đạt độ chắc có kích thước 20 mm, là giai đoạn polyme hoá fibrin, ổn định cục máu.

Chỉ số	Ý nghĩa
Góc alpha (º)	- Góc được xác định là góc giữa trục X và đường tiếp tuyến với đường cong đông máu qua điểm có biên độ 2mm, mô tả động học của quá trình đông máu
MCF (Maximum clot firmness): Độ chắc tối đa của cục đông (mm)	- Là biên độ tối đa của cục đông đạt được trước khi tiêu fibrin. Thể hiện độ chắc và chất lượng của cục đông.
A (x) (mm)	- Biên độ của cục máu đông đạt được x (phút) sau CT (ví dụ: A5 là biên độ 5 phút sau CT);
LI (x) (%)	- Là chỉ số ly giải, thể hiện mức độ tiêu fibrin tại thời điểm x (phút) sau CT (% biên độ cục máu còn lại so với MCF)
ML (maximum lysis) (%): chỉ số ly giải tối đa	- Thể hiện tỷ lệ tiêu fibrin tối đa (% tối đa biên độ cục máu bị suy giảm so với MCF) - Công thức: (MCF - Biên độ thấp nhất của cục máu)/MCF

+ Kết quả ngoài giá trị tham chiếu được cảnh báo in đậm trên phiếu trả kết quả và biểu tượng mũi tên trên biểu đồ đo.

+ Kết quả được chấp nhận khi trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi.

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), kết quả kiểm soát chất lượng, các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

+ Bác sĩ/cử nhân đánh giá, in, ký duyệt kết quả xét nghiệm.

Biện luận kết quả

- Kết quả bất thường trong một số trường hợp sau:

+ Giảm đông: giảm fibrinogen, tiêu sợi huyết.

+ Tăng đông thường gặp do tăng fibrinogen.

- Ý nghĩa xét nghiệm:

+ Kết hợp so sánh cùng xét nghiệm EXTEM để đánh giá vai trò của sợi huyết và tiểu cầu khi hình thành cục đông.

+ Hướng dẫn truyền chế phẩm điều trị (cryo).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm Heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Hematocrite quá thấp hoặc đa hồng cầu, tiểu cầu cao.

Giải pháp: Cần cân nhắc khi biện luận kết quả.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm (nếu có) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rotem delta Operating manual, version manual 2.2.0.01.EN

2. Oliver Michel et al, "*Rotation thromboelastometry (ROTEM®) stability and reproducibility over time"* European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, Volume37, Issue 3, 1 March 2010, Pages 677–683

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Klaus Görlinger1,2, Antonio Pérez-Ferrer et al "*The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management",* Korean Journal of Anesthesiology, 72(4): 297-322

68. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM: ROTATION THROMBOELASTOMETRY) ỨC CHẾ TIÊU SỢI HUYẾT (APTEM)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá tình trạng tiêu sợi huyết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM) là xét nghiệm ghi lại sự thay đổi động học quá trình đông máu của máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng citrate thông qua hệ thống cup (chứa mẫu máu với sự có mặt của các chất hoạt hóa hoặc ức chế) và pin (ghi nhận hiện tượng đông máu). Các biến đổi động học được ghi lại thông qua hệ thống quang học và kết quả được biểu thị bằng đồ thị và các chỉ số. Trong xét nghiệm APTEM, con đường đông máu ngoại sinh được kích hoạt trong điều kiện có bổ sung chất ức chế quá trình tiêu sợi huyết. Để phát hiện tình trạng tiêu sợi huyết, cần so sánh xét nghiệm APTEM và EXTEM.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y hoặc Điều dưỡng được đạo tạo.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất Extem.
- Hóa chất Aptem chứa chất ức chế tiêu sợi huyết.
- Hóa chất nội kiểm (nếu có).
- Hóa chất ngoại kiểm soát (nếu có).
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm ROTEM.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in màu, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2.5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Xử lý mẫu: Đặt mẫu vào buồng ủ của máy, chờ 5 phút.

- Chọn kênh xét nghiệm và xét nghiệm APTEM trên máy ROTEM.

- Tiến hành kỹ thuật theo các bước được hướng dẫn hiển thị trên màn hình của máy.

- Theo dõi hoạt động của máy trong quá trình đo.

- In kết quả sau khi hoàn thành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả.

- Kết quả được trả gồm biểu đồ đo và các chỉ số.

- Các chỉ số thường quy và ý nghĩa:

Chỉ số	Ý nghĩa
CT (Coagulation time): Thời gian đông (s)	- CT là thời gian tính từ khi bắt đầu xét nghiệm bằng việc cho chất kích hoạt đông máu, cho đến khi biên độ cục đông đạt được 2mm
CFT (clotting formation time): Thời gian hình thành cục đông (s)	- CFT là thời gian từ bắt đầu đông máu cho đến khi cục máu đạt độ chắc có kích thước 20 mm, là giai đoạn polyme hoá fibrin, ổn định cục máu.

Chỉ số	Ý nghĩa
Góc alpha (º)	- Góc được xác định là góc giữa trục X và đường tiếp tuyến với đường cong đông máu qua điểm có biên độ 2mm, mô tả động học của quá trình đông máu
MCF (Maximum clot firmness): Độ chắc tối đa của cục đông (mm)	- Là biên độ tối đa của cục đông đạt được trước khi tiêu fibrin. Thể hiện độ chắc và chất lượng của cục đông.
A (x) (mm)	- Biên độ của cục máu đông đạt được x (phút) sau CT (ví dụ: A5 là biên độ 5 phút sau CT);
LI (x) (%)	- Là chỉ số ly giải, thể hiện mức độ tiêu fibrin tại thời điểm x (phút) sau CT (% biên độ cục máu còn lại so với MCF)
ML (maximum lysis) (%): chỉ số ly giải tối đa	- Thể hiện tỷ lệ tiêu fibrin tối đa (% tối đa biên độ cục máu bị suy giảm so với MCF) - Công thức: (MCF - Biên độ thấp nhất của cục máu)/MCF

+ Kết quả ngoài giá trị tham chiếu được cảnh báo in đậm trên phiếu trả kết quả và biểu tượng mũi tên trên biểu đồ đo.

+ Kết quả được chấp nhận khi trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi.

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), kết quả kiểm soát chất lượng, các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

- Bác sĩ/cử nhân đánh giá, in, ký duyệt kết quả xét nghiệm.

Biện luận kết quả

- Phân tích kết quả: Các chỉ số của xét nghiệm APTEM được so sánh với xét nghiệm EXTEM để phát hiện tình trạng tiêu sợi huyết.

+ Nếu các chỉ số của APTEM cải thiện hơn so với EXTEM → có tiêu sợi huyết.

+ Khi phân tích kết quả xét nghiệm ROTEM cần kết hợp với các chỉ số xét nghiệm khác để có phân tích phù hợp và định hướng cho việc chẩn đoán, điều trị rối loạn đông máu.

- Ý nghĩa xét nghiệm: Kết hợp so sánh cùng xét nghiệm EXTEM để đánh giá tình trạng tiêu sợi huyết.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

-Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Hematocrite quá thấp hoặc đa hồng cầu.

Giải pháp: Cần cân nhắc khi biện luận kết quả.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm (nếu có) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rotem delta Operating manual, version manual 2.2.0.01.EN

2. Oliver Michel et al, "*Rotation thromboelastometry (ROTEM®) stability and reproducibility over time"* European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, Volume37, Issue 3, 1 March 2010, Pages 677–683

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Klaus Görlinger1,2, Antonio Pérez-Ferrer et al "*The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management",* Korean Journal of Anesthesiology, 72(4): 297-322

69. PHÂN TÍCH ĐỘNG HỌC CỤC ĐÔNG (ROTEM: ROTATION THROMBOELASTOMETRY) ỨC CHẾ HEPARIN (HEPTEM)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá sự thay đổi động học quá trình đông máu nội sinh khi bổ sung chất trung hòa heparin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Đo độ đàn hồi cục máu (ROTEM) là xét nghiệm ghi lại sự thay đổi động học quá trình đông máu của máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng citrat thông qua hệ thống cup (chứa mẫu máu với sự có mặt của các chất hoạt hóa hoặc ức chế) và pin (ghi nhận hiện tượng đông máu). Các biến đổi động học được ghi lại thông qua hệ thống quang học và kết quả được biểu thị bằng đồ thị và các chỉ số. Trong xét nghiệm HEPTEM, con đường đông máu nội sinh được kích hoạt sau khi đã được phục hồi canxi và ức chế heparin trong mẫu bệnh phẩm. Các chỉ số của xét nghiệm HEPTEM được so sánh với xét nghiệm INTEM để đánh giá sự ảnh hưởng của heparin.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y hoặc Điều dưỡng được đạo tạo.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu
- Bàn để giá mẫu

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất Intem
- Hóa chất Heptem chứa chất trung hòa heparin
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có)
- Hóa chất nội kiểm (nếu có)
- Hoá chất khử trùng

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate
- Bơm kim tiêm
- Đầu côn
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm ROTEM.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in màu, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2.5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng
- Xử lý mẫu: Đặt mẫu vào buồng ủ của máy, chờ 5 phút
- Chọn kênh xét nghiệm và xét nghiệm HEPTEM trên máy ROTEM.
- Tiến hành kỹ thuật theo các bước được hướng dẫn hiển thị trên màn hình của máy.
- Theo dõi hoạt động của máy trong quá trình đo.
- In kết quả sau khi hoàn thành

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả
- Kết quả được trả gồm biểu đồ đo và các chỉ số
- **Các chỉ số thường quy và ý nghĩa:**

Chỉ số	Ý nghĩa
CT (Coagulation time): Thời gian đông (s)	- CT là thời gian tính từ khi bắt đầu xét nghiệm bằng việc cho chất kích hoạt đông máu, cho đến khi biên độ cục đông đạt được 2mm
CFT (clotting formation time): Thời gian hình	- CFT là thời gian từ bắt đầu đông máu cho đến khi cục máu đạt độ chắc có kích thước 20 mm, là giai đoạn polyme hoá fibrin, ổn định cục máu.

Chỉ số	Ý nghĩa
thành cục đông (s)	
Góc alpha (º)	- Góc được xác định là góc giữa trục X và đường tiếp tuyến với đường cong đông máu qua điểm có biên độ 2mm, mô tả động học của quá trình đông máu
MCF (Maximum clot firmness): Độ chắc tối đa của cục đông (mm)	- Là biên độ tối đa của cục đông đạt được trước khi tiêu fibrin. Thể hiện độ chắc và chất lượng của cục đông.
A (x) (mm)	- Biên độ của cục máu đông đạt được x (phút) sau CT (ví dụ: A5 là biên độ 5 phút sau CT);
LI (x) (%)	- Là chỉ số ly giải, thể hiện mức độ tiêu fibrin tại thời điểm x (phút) sau CT (% biên độ cục máu còn lại so với MCF)
ML (maximum lysis) (%): chỉ số ly giải tối đa	- Thể hiện tỷ lệ tiêu fibrin tối đa (% tối đa biên độ cục máu bị suy giảm so với MCF) - Công thức: (MCF - Biên độ thấp nhất của cục máu)/MCF

+ Kết quả ngoài giá trị tham chiếu được cảnh báo in đậm trên phiếu trả kết quả và biểu tượng mũi tên trên biểu đồ đo.

+ Kết quả được chấp nhận khi trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi.

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), kết quả kiểm soát chất lượng, các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

- Bác sĩ/cử nhân đánh giá, in, ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả:

+ Phân tích kết quả: Xét nghiệm HEPTEM dựa trên xét nghiệm INTEM có bổ sung heparinase, sử dụng đồng thời 2 xét nghiệm này để phát hiện tồn dư của heparin hoặc tình trạng quá liều protamin.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm Heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Hematocrite quá thấp hoặc đa hồng cầu.

Giải pháp: Cần cân nhắc khi biện luận kết quả.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm (nếu có) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rotem delta Operating manual, version manual 2.2.0.01.EN

2. Oliver Michel et al, "*Rotation thromboelastometry (ROTEM®) stability and reproducibility over time"* European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, Volume37, Issue 3, 1 March 2010, Pages 677–683

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Klaus Görlinger1,2, Antonio Pérez-Ferrer et al "*The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management",* Korean Journal of Anesthesiology, 72(4): 297-322

70. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU ĐƯỜNG CHUNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính chất ức chế đông máu đường chung.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Thời gian đông của xét nghiệm thời gian thrombin (TT) kéo dài do 2 nhóm nguyên nhân chính thiếu/bất thường chức năng fibrinogen hoặc do có chất ức chế con đường đông máu chung. Tiến hành xét nghiệm TT với mẫu trộn huyết tương người bệnh với huyết tương bình thường theo tỷ lệ 1: 1 (TT 1:1 mix test) để phân biệt 2 nhóm nguyên nhân này: TT của mẫu trộn sẽ điều chỉnh về bình thường nếu thiếu fibrinogen, TT của mẫu trộn không điều chỉnh về bình thường trong trường hợp có chất ức chế hoặc bất thường chức năng fibrinogen.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipette.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm thrombin time (TT).
- Hóa chất nội kiểm cho xét nghiệm TT.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống để chứa huyết tương làm xét nghiệm (sample cup).
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

- Huyết tương chứng: trộn tối thiểu 20 mẫu người khỏe mạnh, có xét nghiệm TT bình thường.

- Chuẩn bị máy xét nghiệm đông máu, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Trộn huyết tương chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1.

- Tiến hành xét nghiệm TT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:

+ Mẫu huyết tương chứng

+ Mẫu huyết tương bệnh

+ Mẫu huyết tương hỗn hợp chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1

- In kết quả TT, tính toán kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ TT hỗn hợp bệnh và chứng điều chỉnh về bình thường: kháng đông đường chung âm tính.

+ TT hỗn hợp bệnh và chứng không điều chỉnh: kháng đông đường chung dương tính.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng... của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả:

+ Kháng đông đường chung dương tính có thể gặp trong trường hợp rối loạn chức năng fibrinogen, dùng thuốc chống đông ức chế thrombin.

+ Kháng đông đường chung âm tính trong trường hợp thiếu fibrinogen.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm Heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng (xét nghiệm TT) theo quy định, kết quả đạt
- Ngoại kiểm soát chất lượng (xét nghiệm TT) theo quy định
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Cunningham MT, Brandt JT, Laposata M, Olson JD. Laboratory Diagnosis of Dysfibrinogenemia. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126(4):499-505. doi:10.5858/2002-126-0499-LDOD.

71. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU NGOẠI SINH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính chất ức chế đông máu con đường ngoại sinh

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm PT (prothrombin time) đánh giá đường ngoại sinh có thể kéo dài do 2 nhóm nguyên nhân chính: thiếu hụt yếu tố đông máu hoặc có chất ức chế con đường đông máu này. Tiến hành xét nghiệm PT với mẫu trộn huyết tương người bệnh với huyết tương bình thường theo tỷ lệ 1: 1 (PT 1:1 mix test) để phân biệt 2 nhóm nguyên nhân này: PT của mẫu trộn sẽ điều chỉnh về bình thường nếu thiếu hụt yếu tố đông máu, PT của mẫu trộn không điều chỉnh về bình thường trong trường hợp có chất ức chế.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm prothrombin time (PT).
- Hóa chất nội kiểm cho PT.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống chứa huyết tương làm xét nghiệm (sample cup).
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu

- Huyết tương chứng: trộn tối thiểu 20 mẫu người khỏe mạnh, có xét nghiệm PT bình thường

- Chuẩn bị máy xét nghiệm đông máu, đảm bảo kiểm soát chất lượng

- Tiến hành xét nghiệm PT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:

+ Mẫu huyết tương chứng

+ Mẫu huyết tương bệnh

+ Mẫu huyết tương hỗn hợp chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1

- In kết quả PT, tính toán kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ PT hỗn hợp bệnh và chứng điều chỉnh về bình thường: kháng đông ngoại sinh âm tính.

+ PT hỗn hợp bệnh và chứng không điều chỉnh: kháng đông ngoại sinh dương tính.

+ Có thể áp dụng công thức tính của Chang như sau:

$$\% \text{ Bù} = \left[\frac{(PTs_{(B)} - PTs_{(B+C)})}{PTs_{(B)} - PTs_{(C)}} \right]$$

- ≥75%: Kháng đông ngoại sinh âm tính.
- 70% – 75%: Kháng đông ngoại sinh nghi ngờ.
- ≤ 70%: Kháng đông ngoại sinh dương tính.
- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng... của người bệnh.
- Nhập kết quả, đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả:

+ Kháng đông ngoại sinh âm tính: liên quan đến thiếu yếu tố đông máu liên quan đến con đường ngoại sinh như II, V, VII, X

+ Kháng đông ngoại sinh dương tính: có chất kháng đông lưu hành có thể gặp trong bệnh tự miễn...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng (Xét nghiệm PT) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (Xét nghiệm PT) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Castellone D. Inhibitor Identification in the Coagulation Laboratory. *Lab Med*. 2013;44(4):e118-e120. doi:10.1309/LMPM7FPI28VQGVLK.

4. Sheng-hsiung Chang, MD, Veronica Tillema et al (2002*) A "Percent Correction" Formula for Evaluation of Mixing Studies*, Am J Clin Pathol, 117:62-73.

72. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU NỘI SINH KHÔNG PHỤ THUỘC THỜI GIAN VÀ NHIỆT ĐỘ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính chất ức chế đông máu con đường nội sinh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Xét nghiệm APTT giúp đánh giá con đường đông máu nội sinh. Xét nghiệm APTT kéo dài có thể do nguyên nhân thiếu một hoặc nhiều yếu tố tham gia đường đông máu nội sinh và do có chất ức chế con đường đông máu nội sinh.

- Tiến hành xét nghiệm APTT với mẫu huyết tương trộn theo tỷ lệ 1:1 giữa huyết tương người bệnh và huyết tương bình thường (huyết tương "chứng"). Nếu:

- APTT của mẫu huyết tương trộn điều chỉnh về bình thường nghĩa là APTT của người bệnh kéo dài do thiếu hụt một hoặc nhiều yếu tố đông máu.

- APTT của mẫu trộn ***không*** điều chỉnh về bình thường (cả trước và sau khi ủ trong 2h ở 37°C) nghĩa là APTT của người bệnh kéo dài do có chất ức chế không phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm APTT.
- Hóa chất nội kiểm cho xét nghiệm APTT.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống chứa huyết tương làm xét nghiệm (sample cup).
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.

- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

- Chuẩn bị mẫu huyết tương chứng.
- Chuẩn bị máy xét nghiệm đông máu, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Tiến hành xét nghiệm APTT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:

+ Mẫu 1: huyết tương "chứng".

+ Mẫu 2: huyết tương bệnh.

+ Mẫu 3: huyết tương hỗn hợp "bệnh + chứng" (tỷ lệ 1:1).

- Lưu kết quả thời gian APTT của cả 3 mẫu.

- Ủ cả 3 mẫu trên trong 2 giờ trong bình cách thủy 37°C.

- Tiến hành xét nghiệm APTT đồng thời với cả 3 mẫu đã ủ trong cùng điều kiện:

+ Mẫu 1: huyết tương "chứng".

+ Mẫu 2: huyết tương bệnh.

+ Mẫu 3: huyết tương hỗn hợp "bệnh + chứng" (tỷ lệ 1:1).

- Lưu kết quả thời gian APTT sau ủ, tính toán kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ APTT của hỗn hợp "bệnh + chứng" điều chỉnh về bình thường: kháng đông không phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh âm tính.

+ APTT của hỗn hợp "bệnh + chứng" không điều chỉnh về bình thường: kháng đông không phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh dương tính.

- Có thể áp dụng công thức tính chỉ số Rosner như sau:

$$\text{Chỉ số Rosner} = \left[\frac{(APTT_{(B+C)} - APTT_{(C)})}{APTT_{(B)}} \right] \times 100$$

- ≥15%: Kháng đông nội sinh dương tính

- 12 – 15%: Kháng đông nội sinh nghi ngờ

- < 12%: Kháng đông nội sinh âm tính

+ Dựa vào chỉ số Rosner trước và sau ủ, sự chênh lệch APTT của mẫu bệnh+chứng để xét đặc điểm kháng đông có phụ thuộc thời gian nhiệt độ hay không.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng... của người bệnh.

+ Nhập kết quả, đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả:

+ Kháng đông nội sinh âm tính: có thể do thiếu hụt yếu tố đông máu liên quan đến con đường nội sinh như VIII, IX, XI, XII…

+ Kháng đông nội sinh không phụ thuộc thời gian, nhiệt độ dương tính: có chất kháng đông lưu hành có thể gặp do kháng thể kháng phospholipid lưu hành, chất ức chế yếu tố IX.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm Heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng (Xét nghiệm APTT) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (Xét nghiệm APTT) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Castellone D. Inhibitor Identification in the Coagulation Laboratory. *Lab Med*. 2013;44(4):e118-e120. doi:10.1309/LMPM7FPI28VQGVLK

4. Liu C, Ling L, Huang X, et al. Evaluation of Activated Partial Thromboplastin Time Mixing Studies Using Several Methods. *Arch Pathol Lab Med*. 2022;146(11):1387-1394. doi:10.5858/arpa.2021-0123-OA

73. PHÁT HIỆN CHẤT ỨC CHẾ ĐÔNG MÁU NỘI SINH PHỤ THUỘC THỜI GIAN VÀ NHIỆT ĐỘ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính chất ức chế đông máu con đường nội sinh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm APTT giúp đánh giá con đường đông máu nội sinh. Xét nghiệm APTT kéo dài có thể do nguyên nhân thiếu một hoặc nhiều yếu tố tham gia đường đông máu nội sinh và do có chất ức chế con đường đông máu nội sinh.

Tiến hành xét nghiệm APTT với mẫu huyết tương trộn theo tỷ lệ 1:1 giữa huyết tương người bệnh và huyết tương bình thường (huyết tương "chứng"). Dựa vào sự điều chỉnh APTT của mẫu huyết tương trộn ở thời điểm trước ủ và sau ủ (sau khi ủ 37°C trong 2h) để phát hiện có chất ức chế đông máu con đường nội sinh có phụ thuộc thời gian nhiệt độ hay không.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm APTT.
- Hóa chất nội kiểm cho xét nghiệm APTT.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống chứa huyết tương làm xét nghiệm (sample cup).
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Tủ lạnh lưu mẫu.

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu

- Chuẩn bị mẫu huyết tương chứng

- Chuẩn bị máy xét nghiệm đông máu, đảm bảo kiểm soát chất lượng

- Tiến hành xét nghiệm APTT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:

+ Mẫu 1: huyết tương "chứng".

+ Mẫu 2: huyết tương bệnh.

+ Mẫu 3: huyết tương hỗn hợp "bệnh + chứng" (tỷ lệ 1:1).

- Lưu kết quả thời gian APTT của cả 3 mẫu

- Ủ cả 3 mẫu trên trong 2 giờ trong bình cách thủy 37°C

- Tiến hành xét nghiệm APTT đồng thời với cả 3 mẫu đã ủ trong cùng điều kiện:

+ Mẫu 1: huyết tương "chứng".

+ Mẫu 2: huyết tương bệnh.

+ Mẫu 3: huyết tương hỗn hợp "bệnh + chứng" (tỷ lệ 1:1).

- Trộn mẫu chứng và mẫu bệnh sau ủ với tỷ lệ 1:1: thực hiện xét nghiệm APTT (mẫu 4).

- Lưu kết quả thời gian APTT, tính toán kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ APTT của hỗn hợp "bệnh + chứng" điều chỉnh về bình thường: kháng đông phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh âm tính.

+ APTT của hỗn hợp "bệnh + chứng" trước ủ điều chỉnh về bình thường và sau ủ 37^{o}C/2h không điều chỉnh về bình thường: kháng đông phụ thuộc thời gian và nhiệt độ đường đông máu nội sinh dương tính.

+ Có thể áp dụng công thức tính của Rosner như sau:

$$\text{Chỉ số Rosner} = \left[\frac{(APTT_{(B+C)} - APTT_{(C)})}{APTT_{(B)}} \right] x\ 100$$

- ≥15%: Kháng đông nội sinh dương tính.

- 12% – 15% : Kháng đông nội sinh nghi ngờ.

- < 12%: Kháng đông nội sinh âm tính.

+ Dựa vào chỉ số rosner trước và sau ủ, sự chênh lệch APTT của mẫu "bệnh + chứng" để xét đặc điểm kháng đông có phụ thuộc thời gian nhiệt độ hay không. Cũng có thể dựa vào sự chênh lệch giữa APTT mẫu 3 sau ủ và mẫu 4 để đánh giá kết quả

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

+ Nhập kết quả, đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả:

+ Kháng đông nội sinh âm tính: liên quan đến thiếu yếu tố đông máu liên quan đến con đường nội sinh như VIII, IX, XI, XII…

+ Kháng đông nội sinh phụ thuộc thời gian, nhiệt độ dương tính: thường là kháng thể kháng yếu tố VIII gặp trong bệnh hemophilia A mắc phải hoặc hemophilia A điều trị bổ sung yếu tố VIII có sinh chất ức chế.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, nhiễm Heparin trong quá trình lấy mẫu, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrat theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng (Xét nghiệm APTT) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (Xét nghiệm APTT) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Castellone D. Inhibitor Identification in the Coagulation Laboratory. *Lab Med*. 2013;44(4):e118-e120. doi:10.1309/LMPM7FPI28VQGVLK

4. Liu C, Ling L, Huang X, et al. Evaluation of Activated Partial Thromboplastin Time Mixing Studies Using Several Methods. *Arch Pathol Lab Med*. 2022;146(11):1387-1394. doi:10.5858/arpa.2021-0123-OA

74. XÉT NGHIỆM CO CỤC MÁU ĐÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Khảo sát tình trạng số lượng, chất lượng tiểu cầu và sợi huyết, nhất là trong điều kiện không có khả năng triển khai những kỹ thuật cao, người ta tiến hành đánh giá khả năng co của cục máu sau khi đông.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Quá trình đông máu là quá trình hình thành fibrin (sợi huyết). Sau đó sợi huyết co lại tạo nên sự co của cục đông. Mức độ co của cục đông phụ thuộc chủ yếu vào vai trò của tiểu cầu và sợi huyết.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu;
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Nước muối;
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- 2 ống nghiệm tan máu;
- Bơm kim tiêm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bình cách thủy 37 ^{o}C;
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần phân phối đều vào 2 ống nghiệm tan máu đã chuẩn bị sẵn, mỗi ống 1 - 1,5ml.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Chuẩn bị bình cách thủy đảm bảo nhiệt độ 37^{o}C.
- Đặt 2 ống nghiệm thủy tinh có chứa máu toàn phần vào bình cách thuỷ 37^{o}C.
- Quan sát tình trạng cục đông sau 1 giờ.
- Sau 2 - 4 giờ, đọc kết quả dựa vào mức độ co của cục đông: co hoàn toàn, co không hoàn toàn, không co, cục đông bị tan.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào tình trạng co của cục đông, lượng huyết thanh còn lại và hồng cầu tự do để nhận định kết quả:

+ Cục máu co hoàn toàn: tạo cục máu bờ rõ ràng, phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50% - 65% thể tích máu ban đầu, không có hồng cầu tự do.

+ Cục máu co không hoàn toàn: tạo cục máu bờ không rõ ràng, phần huyết thanh còn lại <40% thể tích máu ban đầu hoặc còn hồng cầu tự do.

+ Cục máu không co: không tạo riêng phần huyết thanh.

+ Cục máu bị nát: hầu hết hồng cầu tự do trong huyết thanh.

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng... của người bệnh

+ Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm xét nghiệm

- In kết quả, bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả
- Biện luận kết quả

+ Bình thường: cục máu co hoàn toàn

+ Cục máu không co có thể gặp khi bất thường tiểu cầu (số lượng, chất lượng), giảm fibrinogen

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm về các Khoa/phòng và lưu – hủy mẫu theo quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ống nghiệm không sạch, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: đa hồng cầu, thiếu máu nặng.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Bình cách thủy không đảm bảo nhiệt độ.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng theo dõi nhiệt độ bình cách thủy theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.
- Ngoại kiểm soát chất lượng: Không áp dụng.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.
2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.
3. PGS.TS. Cung Thị Tý, PGS.TS. Nguyễn Thị Nữ, Co cục máu, Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội (2016), tr. 79 - 80.

75. XÉT NGHIỆM KHÁNG PROTEIN C HOẠT HÓA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện tình trạng kháng protein C hoạt hóa – thường xuất hiện khi người bệnh có đột biến V leiden.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hầu hết (trên 90%) các trường hợp kháng protein C hoạt hóa (APC-R) do đột biến V leiden. Các phương pháp xét nghiệm sự kháng protein hoạt hóa phần lớn dựa vào thay đổi thời gian đông trong điều kiện có mặt của protein C hoạt hóa. Với trường hợp không có APC-R, khi bổ sung thêm APC, yếu tố V và VIII bị ức chế, làm kéo dài thời gian đông. Ngược lại, với trường hợp có kháng protein C hoạt hóa, thời gian đông thay đổi không đáng kể. Căn cứ vào sự thay đổi đó để phát hiện sự có mặt của hiện tượng kháng protein C.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm kháng protein C hoạt hóa (APC-R).
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm APC-R trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả xét nghiệm kháng protein C hoạt hóa được biểu thị dưới dạng tỷ số giữa thời gian đông trong điều kiện có và không bổ sung protein C hoạt hóa.

+ Bình thường: APC-R ratio >2. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập cut-off phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm

+ Nếu APC-R ratio dưới ngưỡng: có hiện tượng kháng protein C hoạt hóa.

+ Đột biến V leiden, V cambridge, V Hongkong...

+ Kháng protein C mắc phải có thể gặp trong một số tình trạng như tăng yếu tố VIII, II, LA, kháng thể chống protein C,...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ BN đang dùng thuốc chống đông.

Giải pháp: Lấy mẫu ở thời điểm trước liều thuốc tiếp theo.

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.

- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.

- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Recommendations for clinical laboratory testing of activated protein C resistance; communication from the SSC of the ISTH - Moore - 2019 - Journal of Thrombosis and Haemostasis - Wiley Online Library. Accessed September 24, 2023. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.14532

3. Dean E, Favaloro EJ. The changing face of activated protein C resistance testing—a 10-year retrospective. *Ann Blood*. 2020;5(0). doi:10.21037/aob.2020.02.06

76. XÉT NGHIỆM PFA (PLATELET FUNCTION ANALYSER) VỚI COLLAGEN/EPINEPHRINE TRÊN MÁY TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá tổng quát chức năng của tiểu cầu khi nghi ngờ người bệnh có bất thường chức năng tiểu cầu, theo dõi đáp ứng với aspirin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

FPA được sử dụng để đánh giá tổng quát chức năng tiểu cầu. Máu toàn phần đã được chống đông bằng Natri citrate được hút qua hệ thống trong cartridge dùng 1 lần gồm vi ống và 1 lớp màng có chứa 1 lỗ thủng ở trung tâm. Màng được phủ collagen – 1 protein dưới nội mạc, giúp sự dính của tiểu cầu và dẫn đến các phản ứng hoạt hóa tiểu cầu. Hơn nữa, màng cũng được phủ epinephrine giúp cho tiểu cầu ngưng tập. Trong quá trình xét nghiệm xảy ra quá trình dính, hoạt hóa, phóng thích và ngưng tập, tạo nút tiểu cầu. Xét nghiệm đo thời gian đến khi tiểu cầu bít kín lỗ thủng (thời gian đóng) của màng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.
- Pipette.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm: PFA collagen/Epi Test Cartridge bao gồm 1 màng được phủ Collagen typ I và Epinephrine.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm PFA.
- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Bật máy PFA.

- Tiến hành lắp Cartridge collagen/Epi Test vào máy.

- Hút 800 µl máu toàn phần đã chuẩn bị ở trên cho vào vị trí đo của cartridge.

- Thực hiện xét nghiệm trên máy.

- In kết quả khi kết thúc quá trình xét nghiệm.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

- Tháo Cartridge ra khỏi máy, bỏ vào hộp chứa rác thải y tế.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc và nhận định kết quả

+ Kết quả được chấp nhận là kết quả hiện trên màn hình máy, trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi. Đơn vị đo: giây (s).

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả:

+ PFA Collagen/Epi bình thường (<183s): người bệnh không có bất thường chức năng tiểu cầu.

+ FA Collagen/Epi kéo dài (>183s): có thể do bất thường chức năng tiểu cầu (bẩm sinh hoặc mắc phải), bệnh von Willebrand

+ PFA Collagen/Epi kéo dài: cần thực hiện tiếp xét nghiệm Collagen/ADP cũng như những thăm dò sâu hơn để chẩn đoán.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Tiểu cầu thấp < 100G/L, Thiếu máu nặng (Hct < 28%).

Giải pháp: Kiểm tra xét nghiệm công thức máu gần nhất của người bệnh

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Máy được bảo dưỡng, vận hành theo đúng quy trình
- Nội, ngoại kiểm: Không áp dụng

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Harrison P " *Progress in the assessment of platelet function*". Br J Haematol 2000;**111**:733–744.

4. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ. "*PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction*". Semin Thromb Hemost 1998;**24**: 195–202.

77. XÉT NGHIỆM PFA (PLATELET FUNCTION ANALYSER) VỚI COLLAGEN/ADP TRÊN MÁY TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá tổng quát chức năng của tiểu cầu khi nghi ngờ người bệnh có bất thường chức năng tiểu cầu, theo dõi đáp ứng với aspirin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

FPA được sử dụng để đánh giá tổng quát chức năng tiểu cầu. Máu toàn phần đã được chống đông bằng Natri citrate được hút qua hệ thống trong cartridge dùng 1 lần gồm vi ống và 1 lớp màng có chứa 1 lỗ thủng ở trung tâm. Màng được phủ collagen – 1 protein dưới nội mạc, giúp sự dính của tiểu cầu và dẫn đến các phản ứng hoạt hóa tiểu cầu. Hơn nữa, màng cũng được phủ ADP giúp cho tiểu cầu ngưng tập. Trong quá trình xét nghiệm xảy ra quá trình dính, hoạt hóa, phóng thích và ngưng tập, tạo nút tiểu cầu. Xét nghiệm đo thời gian đến khi tiểu cầu bít kín lỗ thủng (thời gian đóng) của màng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.
- Pipette.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm: PFA collagen/ADP Test Cartridge bao gồm 1 màng được phủ Collagen typ I và ADP.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm PFA.
- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Bật máy PFA.

- Tiến hành lắp Cartridge collagen/ADP Test vào máy.

- Hút 800 µl máu toàn phần đã chuẩn bị ở trên cho vào vị trí đo của cartridge

- Thực hiện xét nghiệm trên máy.

- In kết quả khi kết thúc quá trình xét nghiệm.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

- Tháo Cartridge ra khỏi máy, bỏ vào hộp chứa rác thải y tế.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc và nhận định kết quả:

+ Kết quả được chấp nhận là kết quả hiện trên màn hình máy, trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi. Đơn vị đo: giây (s).

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận

+ Thường được chỉ định sau khi xét nghiệm PFA Collagen/Epi bất thường (>183s).

+ PFA Collagen/ADP bình thường (<122s): Có thể bất thường chức năng tiểu cầu liên quan đến Aspirin.

+ PFA Collagen/ADP kéo dài (>122s): có thể do bất thường chức năng tiểu cầu bẩm sinh hoặc mắc phải, von Willebrand, ...

+ Những trường hợp dùng aspirin liều cao, kéo dài có thể kéo dài PFA Collagen/ADP mức trung bình.

+ Trong một số trường hợp, nếu nghi ngờ người bệnh có bất thường chức năng tiểu cầu mà kết quả PFA bình thường, có thể tiếp tục làm những phân tích sâu hơn về chức năng tiểu cầu để chẩn đoán.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Tiểu cầu thấp < 100 G/L, Thiếu máu nặng (Hct < 28%).

Giải pháp: Kiểm tra xét nghiệm công thức máu gần nhất của người bệnh.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Máy được bảo dưỡng, vận hành theo đúng quy trình.
- Nội, ngoại kiểm: Không áp dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. trong: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học.*; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition.

3. Harrison P "*Progress in the assessment of platelet function*". Br J Haematol 2000;**111**:733–744.

4. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ. "*PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction*". Semin Thromb Hemost 1998;**24**: 195–202.

78. XÉT NGHIỆM PFA (PLATELET FUNCTION ANALYSER) VỚI P2Y TRÊN MÁY TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá đáp ứng với thuốc ức chế thụ thể P2Y12 của tiểu cầu

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

PFA P2Y là một xét nghiệm đánh giá đáp ứng với thuốc ức chế thụ thể P2Y12 của tiểu cầu. Máu toàn phần đã được chống đông bằng natri citrate được hút qua hệ thống trong cartridge dùng 1 lần gồm vi ống và 1 lớp màng có chứa 1 lỗ thủng ở trung tâm. Trong đó màng của Cartridge PFA P2Y được phủ ADP, prostaglandin E1 và canxi.

Trong quá trình xét nghiệm xảy ra quá trình dính, hoạt hóa, phóng thích và ngưng tập, tạo nút tiểu cầu. Xét nghiệm đo thời gian đến khi tiểu cầu bít kín lỗ thủng (thời gian đóng) của màng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu
- Bàn để giá mẫu
- Pipette

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm Cartridge PFA P2Y
- Dung dịch rửa
- Hóa chất khử khuẩn

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate
- Bơm kim tiêm
- Đầu côn
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm PFA.
- Tủ lạnh lưu mẫu sau xét nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Bật máy PFA.

- Tiến hành lắp Cartridge P2Y vào máy.

- Hút 800 µl máu toàn phần đã chuẩn bị ở trên cho vào vị trí đo của cartridge.

- Thực hiện xét nghiệm trên máy.

- In kết quả khi kết thúc quá trình xét nghiệm.

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

- Tháo Cartridge ra khỏi máy, bỏ vào hộp chứa rác thải y tế.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc và nhận định kết quả:

+ Kết quả được chấp nhận là kết quả hiện trên màn hình máy, trong quá trình chạy xét nghiệm không xảy ra sự cố/lỗi. Đơn vị đo: giây (s).

+ Ngoài ra cần đối chiếu, tham khảo với: kết quả tiền sử cùng với mối tương quan với các kết quả xét nghiệm khác (nếu có), các thông tin lâm sàng người bệnh (nếu có), các cảnh báo bất thường gợi ý từ máy xét nghiệm.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả:

+ Đánh giá đáp ứng với thuốc ức chế thụ thể P2Y12 tiểu cầu như clopidogrel.

+ Tiêu chuẩn kháng P2Y12 khi kết quả PFA P2Y < 106s.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Tiểu cầu thấp < 100 G/L, Thiếu máu nặng (Hct < 28%).

Giải pháp: Kiểm tra xét nghiệm công thức máu gần nhất của người bệnh.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Máy được bảo dưỡng, vận hành theo đúng quy trình.
- Nội, ngoại kiểm: Không áp dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Harrison P " *Progress in the assessment of platelet function*". Br J Haematol 2000;**111**:733–744.

4. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ. "*PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction*". Semin Thromb Hemost 1998;**24**: 195–202.

79. XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN GIẢM TIỂU CẦU DO HEPARIN Ab HOẶC IgG (HEPARIN INDUCED THROMBOCYTOPENIA – HIT) BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng kháng thể kháng yếu tố 4 tiểu cầu (PF4).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Giảm tiểu cầu do heparin (heparin-induced thrombocytopenia – HIT) là một biến chứng có thể xảy ra ở người bệnh điều trị heparin. Có 2 loại HIT: HIT týp I không do cơ chế miễn dịch và HIT týp II do cơ chế miễn dịch. Xét nghiệm kháng thể PF4 có vai trò trong chẩn đoán người bệnh nghi ngờ HIT (týp II). Trong đó xét nghiệm HIT Ab phát hiện kháng thể PF4 isotype IgA, IgG, IgM và HIT IgG chỉ phát hiện isotype IgG.

Các hạt từ được phủ PF4 – polyvinyl sulfonate (PVS) sẽ kết hợp với kháng thể PF4/Heparin có trong huyết tương người bệnh. Sau khi ủ, tách hạt từ và rửa, kháng thể kháng IgG, IgM, IgA với xét nghiệm HIT Ab hoặc chỉ chứa kháng thể kháng IgG với xét nghiệm HIT IgG có gắn chất phát quang được bổ sung vào hỗn hợp trên. Phản ứng giữa *"PF4 – polyvinyl sulfonate (PVS) (có gắn từ tính) - kháng thể PF4 - kháng kháng thể (có gắn chất phát quang)"* xảy ra. Sau bước ủ, tách hạt từ và rửa lần hai, phản ứng phát quang được hoạt hóa. Mức độ phát quang được đo thông qua hệ thống quang học sẽ tỷ lệ thuận với nồng độ kháng thể trong mẫu huyết tương của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm HIT Ab hoặc IgG gồm.
- Dung dịch chứa hạt từ được phủ PF4 – polyvinyl sulfonate (PVS).
- Dung dịch chứa kháng kháng thể có gắn chất phát quang.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch đệm chứa các chất khởi phát phản ứng phát quang.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy,. khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu hoạt động trên nguyên lý miễn dịch hóa phát quang
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,8% hoặc 3,2% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng

- Thực hiện xét nghiệm HIT trên hệ thống máy xét nghiệm theo quy trình vận hành

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả HIT được báo cáo dưới dạng đơn vị U/ml hoặc tương đương.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Bình thường: < 1 U/ml.

+ Tham khảo) với kết quả ≥ 1,0 U/mL có thể cho thấy sự có mặt của kháng thể kháng PF4, có thể gặp trong giảm tiểu cầu huyết khối do Heparin, VITT.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu, heparin, yếu tố dạng thấp (RF).

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed I, Majeed A, Powell R. Heparin induced thrombocytopenia: diagnosis and management update. *Postgrad Med J*. 2007;83(983):575-582. doi:10.1136/pgmj.2007.059188

2. Z MS, C V, M IK, et al. Clinical đánh giáation of immunoassay HemosIL® AcuStar HIT-IgG (PF4-H) in the diagnosis of Heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Thrombolysis*. 2021;52(2). doi:10.1007/s11239-020-02349-4

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Bankova A, Andres Y, Horn MP, Alberio L, Nagler M. Rapid immunoassays for diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia: Comparison of diagnostic accuracy, reproducibility, and costs in clinical practice. *PLoS ONE*. 2017;12(6):e0178289. doi:10.1371/journal.pone.0178289

80. XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN GIẢM TIỂU CẦU DO HEPARIN Ab HOẶC IgG (HEPARIN INDUCED THROMBOCYTOPENIA – HIT) BẰNG PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH ĐO ĐỘ ĐỤC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng kháng thể yếu tố 4 tiểu cầu (PF4) trong chẩn đoán HIT.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Giảm tiểu cầu do heparin (heparin-induced thrombocytopenia – HIT) là một biến chứng có thể xảy ra ở người bệnh điều trị heparin. Có 2 loại HIT: HIT týp I không do cơ chế miễn dịch và HIT týp II do cơ chế miễn dịch. Xét nghiệm kháng thể PF4 có vai trò trong chẩn đoán người bệnh nghi ngờ HIT (týp II).

Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch chứa các hạt latex đã được phủ kháng nguyên đặc hiệu với kháng thể PF4, kháng thể PF4 có trong huyết tương của người bệnh sẽ được gắn kháng nguyên đặc hiệu ở trên bề mặt các hạt latex dẫn tới hiện tượng ngưng kết, mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ kháng thể PF4 có trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm HIT gồm.
- Dung dịch chứa hạt latex được phủ kháng nguyên đặc hiệu với kháng thể PF4.
- Dung dịch đệm.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.

- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^oC, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ^oC trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^oC: làm tan đông hoàn toàn ở 37^oC ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^oC, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm HIT trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả HIT được báo cáo dưới dạng đơn vị với U/ml hoặc tương đương.

+ Bình thường: < 1 U/ml.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Với kết quả ≥ 1,0 U/mL có thể cho thấy sự có mặt của kháng thể kháng yếu tố 4 tiểu cầu, có thể gặp trong giảm tiểu cầu huyết khối do Heparin, VITT.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF).

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.

- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.

- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed I, Majeed A, Powell R. Heparin induced thrombocytopenia: diagnosis and management update. *Postgrad Med J*. 2007;83(983):575-582. doi:10.1136/pgmj.2007.059188

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Bankova A, Andres Y, Horn MP, Alberio L, Nagler M. Rapid immunoassays for diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia: Comparison of diagnostic accuracy, reproducibility, and costs in clinical practice. *PLoS ONE*. 2017;12(6):e0178289. doi:10.1371/journal.pone.0178289

4. Hướng dẫn sử dụng hóa chất HemosIL HIT-Ab (PF4-H)

81. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG PF4 TIỂU CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ MIỄN DỊCH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể kháng yếu tố 4 tiểu cầu (PF4) trong chẩn đoán HIT.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Giảm tiểu cầu do heparin (heparin-induced thrombocytopenia – HIT) là một biến chứng có thể xảy ra ở người bệnh điều trị heparin. Sử dụng bộ kít xét nghiệm có gắn phức hệ PF4/Polyanion để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng PF4 (chủ yếu IgG), **k**hông đặc hiệu với kháng thể của các nhóm IgA và IgM**.**

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit làm xét nghiệm HIT.
- Dung dịch pha loãng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt

độ 15-25 ºC, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu. Có thể sử dụng huyết thanh.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20 ºC trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.
- Có thể sử dụng huyết thanh.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

+ Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20ºC: làm tan đông hoàn toàn ở 37ºC ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4ºC, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị đầy đủ dụng cụ, hóa chất sinh phẩm.
- Ngay sau khi mở kit, cần thực hiện xét nghiệm ngay.
- Phân phối 5 µl huyết tương/huyết thanh vào vị trí mẫu.
- Thêm 2 giọt buffer.
- Ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng (18 – 25 ºC).
- Đọc kết quả ngay khi hoàn thành bước ủ.
- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm phòng xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Vạch chứng (C): hiển thị vạch màu đỏ, cho thấy kit đảm bảo chất lượng

+ Chỉ có vạch C hiện màu đỏ, mẫu thử âm tính

+ Cả hai vạch C và T đều hiện màu đỏ, mẫu thử dương tính

+ Kết quả HIT được báo cáo dưới dạng định tính: Âm tính/dương tính

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm

+ Bình thường: Âm tính

+ Dương tính: có thể cho thấy sự có mặt của kháng thể kháng yếu tố 4 tiểu cầu, có thể gặp trong giảm tiểu cầu huyết khối do Heparin, VITT

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng: hiển thị vạch đỏ ở vị trí chứng
- Ngoại kiểm soát: không áp dụng
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed I, Majeed A, Powell R. Heparin induced thrombocytopenia: diagnosis and management update. *Postgrad Med J*. 2007;83(983):575-582. doi:10.1136/pgmj.2007.059188

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. DIAGNOSTICA STAGO, STIC EXPERT HIT

4. Bakchoul T, Giptner A, Najaoui A, Bein G, Santoso S, Sachs UJ. Prospective evaluation of PF4/heparin immunoassays for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. J *Thromb Haemost*. 2009;7 (8):1260-

5. Sachs UJ, von Hesberg J, Santoso S, Bein G, Bakchoul T. Evaluation of a new nanoparticle-based lateral flow immunoassay for the exclusion of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *J Thromb Haemost*. 2011; 106(6).

82. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG PF4 TIỂU CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể yếu tố 4 tiểu cầu (PF4).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Các kháng thể kháng heparin-PF4 được bắt giữ bởi phức hợp heparin-PF4 được phủ trên thành bên trong của tấm vi nhựa. Tiếp theo, các kháng thể kháng IgG có gắn peroxidase liên kết với các yếu tố kháng nguyên có sẵn của kháng thể được cố định. Phản ứng enzyme xảy ra khi có mặt chất nền thích hợp. Sau khi dừng phản ứng bằng một axit mạnh, cường độ của màu sắc được tạo ra tỷ lệ với mức độ kháng thể ban đầu có trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipette đơn kênh.
- Pipette đa kênh.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Máng nhựa đựng hóa chất.
- Đồng hồ bấm giờ.
- Đũa khuấy thủy tinh.
- Rack thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm kháng thể PF4 ELISA gồm.
- Giếng phản ứng: được phủ bằng phức hợp heparin bằng liên kết cộng hóa trị.
- Anti-IgG-Peroxidase: chứa kháng thể kháng kháng thể IgG người kết hợp với peroxidase.
- Dung dịch TMB.
- Dung dịch đệm.
- Dung dịch rửa đậm đặc.
- Huyết tương người đông khô chứa các kháng thể phản ứng với các phức hợp heparin-PF4. Giá trị này được sử dụng làm tham khảo cho xét nghiệm.
- Huyết tương người đông khô dùng để làm chứng âm.
- Huyết tương người đông khô chứa kháng thể phản ứng với phức hợp heparin-PF4, được sử dụng để làm chứng dương.
- Dung dịch H2SO4 1M.
- Nước cất.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống chứa huyết tương làm xét nghiệm (sample cup).
- Giấy thấm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ .
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm ELISA.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Pha loãng mẫu
- Phân phối thuốc thử, mẫu bệnh phẩm vào các giếng theo thứ tự hướng dẫn.
- Ủ trong 1giờ ở nhiệt độ (22 ± 2 °C)
- Rửa phiến lần 1 bằng dung dịch rửa đã được pha loãng trên máy rửa. Làm khô phiến.
- Cố định phức hợp miễn dịch bằng cách bổ sung lần lượt dung dịch chứa kháng thể kháng kháng thể IgG người kết hợp với peroxidase
- Ủ trong 1giờ ở nhiệt độ phòng (18 - 25 °C)
- Rửa phiến lần 2 bằng dung dịch rửa đã được pha loãng trên máy rửa. Làm khô phiến.
- Giai đoạn sinh màu:

+ Phân phối dung dịch TMB lần lượt vào các giếng. Để 5 phút

+ Phân phối dung dịch H2SO4 1M lần lượt vào các giếng để dừng phản ứng. Lắc trộn. Để trong 15 phút.

- Đọc kết quả trên máy đọc ở bước sóng 450nm
- Lưu kết quả đọc.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Xem xét kết quả mẫu chứng âm, chứng dương và giếng trắng.

+ Kết quả kháng thể kháng PF4 được báo cáo: chỉ số OD và kết luận âm tính/dương tính.

+ Bình thường: Âm tính.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Dương tính có thể cho thấy sự có mặt của kháng thể kháng PF4 có thể gặp trong giảm tiểu cầu huyết khối do Heparin, VITT.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Bệnh tự miễn như APS.

Giải pháp: Ghi chú khi phiên giải kết quả.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- OD giếng trắng # phải nhỏ hơn ngưỡng quy định.
- OD trung bình của mẫu tham chiếu: nằm trong dải tham khảo trong tờ tham chiếu đi kèm kit hóa chất.
- Các giếng chứng âm: âm tính.
- OD các giếng chứng dương (đã trừ OD giếng trắng #): phải nằm trong dải tham khảo trong tờ tham chiếu đi kèm kit hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmed I, Majeed A, Powell R. Heparin induced thrombocytopenia: diagnosis and management update. *Postgrad Med J*. 2007;83(983):575-582. doi:10.1136/pgmj.2007.059188

2. ASSERACHROM HPIA – IgG (Detection of Anti-Heparin-pF4 Antibodies of IgG Class by Enzyme Immunoassay)

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Bankova A, Andres Y, Horn MP, Alberio L, Nagler M. Rapid immunoassays for diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia: Comparison of diagnostic accuracy, reproducibility, and costs in clinical practice. *PLoS ONE*. 2017;12(6):e0178289. doi:10.1371/journal.pone.0178289

83. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ ĐÔNG MÁU NGOẠI SINH II

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu ngoại sinh II (Yếu tố II).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu bằng phương pháp một thì là phương pháp phổ biến hiện nay. Thời gian đông của huyết tương phụ thuộc vào hoạt tính các yếu tố đông máu tham gia vào con đường đông máu ngoại sinh, trong đó có yếu tố II. Hóa chất định lượng hoạt tính yếu tố đông máu ngoại sinh II là huyết tương người đã làm nghèo yếu tố II trong khi nồng độ các yếu tố khác bình thường.

- Để định lượng yếu tố đông máu của người bệnh, người ta tiến hành pha loãng huyết tương người bệnh, sau đó huyết tương này được trộn với hóa chất định lượng yếu tố đông máu với tỉ lệ 1/1, sự thay đổi thời gian đông của mẫu huyết tương chuẩn thiếu hụt yếu tố đông máu tỷ lệ với nồng độ hoạt tính yếu tố đông máu II của mẫu bệnh phẩm, từ đó đo được nồng độ hoạt tính yếu tố II của mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu II.
- Hóa chất thực hiện xét nghiệm PT hoặc APTT.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Nước cất.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

-Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố đông máu II trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả định lượng yếu tố đông máu II được báo cáo dưới dạng đơn vị % hoặc tương đương.

+ Nồng độ yếu tố đông máu thấp ở giai đoạn sơ sinh, sau đó tăng dần và ổn định khi trưởng thành. Nồng độ hoạt tính yếu tố II ở người trưởng thành khoảng 79 – 131%. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nồng độ yếu tố đông máu ngoại sinh có thể giảm trong một số trường hợp như:

- Thiếu yếu tố đông máu II bẩm sinh.
- Các bệnh lý mắc phải như bệnh gan, DIC, thiếu yếu tố đông máu phụ thuộc vitamin K, điều trị thuốc kháng vitamin K, truyền máu khối lượng lớn...

+ Nồng độ yếu tố đông máu ngoại sinh II có thể tăng trong một số trường hợp tăng đông.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, mẫu máu nhiễm heparin...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu.: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Steve Kitchen, Angus McCraw (2010), *Assays Based on Prothrombin Time (Factors II, V, VII, or X)*, Diagnosis of Hemophilia and Other Bleeding Disorders, p. 65 – 67

3. Gosselin RC, Marlar RA. Pre-analytical variables in coagulation testing: setting the stage for accurate results. *Sem Thromb Hemost.* 2019;45:433-448.

4. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

84. XÉT NGHIỆM KHÁNG ĐÔNG LUPUS (LA: LUPUS ANTICOAGULANT)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện sự có mặt của chất kháng đông lupus (LA)

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sự có mặt trong máu chất chống đông máu dạng lupus (LA) là nguyên nhân gây nên tình trạng giảm đông trên xét nghiệm nhưng có nguy cơ gây huyết khối trên lâm sàng và là một trong những tiêu chuẩn quan trọng trong chẩn đoán hội chứng antiphospholipid (APS). Có nhiều phương pháp phát hiện LA, tuy nhiên đều dựa trên nguyên lý chung là tiến hành sàng lọc LA bằng kỹ thuật đo thời gian đông với phospholipid nồng độ thấp và sau đó khẳng định sự có mặt của LA bằng kỹ thuật đo thời gian đông với phospholipid nồng độ cao.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hoá chất sinh phẩm làm xét nghiệm LA hiện nay bao gồm LA Screen (chứa rất ít phospholipid) và Confirm (thừa phospholipid). Có thể dựa trên xét nghiệm dRVVT hoặc APTT với chất kích hoạt silica.
- Huyết tương chuẩn.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu tự động.
- Máy ly tâm.

- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm kép để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm LA trên hệ thống máy đông máu theo quy trình vận hành.

+ Tiến hành XN LA screen và LA confirm với mẫu huyết tương chuẩn.

+ Dựa vào sự thay đổi thời gian đông của xét nghiệm ở điều kiện nghèo phospholipid và dư thừa phospholipid để khẳng định sự có mặt của LA.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả xét nghiệm được báo cáo gồm thời gian screen, confirm và tỷ lệ screen/confirm và từ các chỉ số trên kết luận âm tính/dương tính.

+ Bình thường: LA âm tính.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Dương tính khi có kháng đông lupus lưu hành gặp trong APS, bệnh tự miễn, nhiễm trùng, ung thư...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Người bệnh đang dùng thuốc chống đông.

Giải pháp: Có thể cân nhắc lấy mẫu ở thời điểm trước liều thuốc tiếp theo, sử dụng chất trung hòa thuốc.

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Laboratory Diagnosis of the Lupus Anticoagulant | American Society for Clinical Laboratory Science. Accessed September 27, 2023. http://clsjournal.ascls.org/content/30/1/7

4. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost JTH*. 2020;18(11):2828-2839. doi:10.1111/jth.15047

85. ĐỊNH LƯỢNG ANTI Xa VỚI HEPARIN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng ức chế yếu tố Xa ở người bệnh dùng thuốc chống đông heparin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Heparin (LMWH, UFH) được sử dụng trong dự phòng và điều trị huyết khối. Xác định hoạt tính kháng yếu tố X hoạt hóa (Xa) được sử dụng trong một số trường hợp cần theo dõi điều trị. Thuốc chống đông heparin tác dụng ức chế yếu tố Xa bởi phức hệ Heparin – Antithrombin.

Dựa vào lượng yếu tố Xa bị ức chế bởi phức hợp Heparin – Antithrombin khi bổ sung một lượng dư yếu tố Xa, từ đó xác định được hoạt tính ức chế Xa trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm anti Xa.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.

- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm Anti Xa trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả anti Xa với heparin được báo cáo dưới dạng đơn vị UI/ml.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm: Xét nghiệm dùng để theo dõi điều trị heparin, đánh giá đáp ứng với thuốc trong một số tình huống lâm sàng.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, nhiễm heparin....

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Eric Gehria (2011), "Test of the month: The chromogenic anti factor Xa assay", *American of journal Hematology*, p. 194 – 196.

2. Michael Barras (2013), "Anti Xa assays", *Australian Prescriber*, 36(3).Low Molecular Weight Heparin (LMWH) Guidelines (2017)

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

4. Gremillet M, Talon L, Lebreton A, Sinegre T. Monitoring heparin therapy: stability of two different anti-Xa assays using blood samples collected in citrate-containing and CTAD tubes. *Thromb J*. 2023;21:21. doi:10.1186/s12959-023-00465-8.

86. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN ANTITHROMBIN (AT ANTIGEN)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ kháng nguyên antithrombin III trong máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Antithrombin (AT) thuộc nhóm những chất ức chế đông máu sinh lý, ức chế một số yếu tố đông máu đã hoạt hóa, đặc biệt là thrombin, IXa và Xa. Thiếu AT là một trong những yếu tố nguy cơ của huyết khối.

Có thể định lượng nồng độ AT dựa trên phương pháp miễn dịch đo độ đục. Khi ủ huyết tương của người bệnh với hỗn dịch bao gồm các hạt latex đã được gắn kháng thể đặc hiệu với kháng kháng nguyên antithrombin, AT trong huyết tương sẽ được gắn kháng thể đặc hiệu ở trên các hạt latex dẫn tới hiện tượng ngưng kết, mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ AT trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm antithrombin.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Nước muối NaCl.
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.

- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng
- Thực hiện xét nghiệm định lượng antithrombin trên hệ thống máy đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ antithrombin được báo cáo dưới dạng đơn vị % hoặc tương đương.

+ Bình thường: antithrombin 80 - 120%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm: Antithrombin có thể giảm trong các trường hợp bệnh lý như:

+ Giảm antithrombin bẩm sinh

+ Giảm antithrombin mắc phải như bệnh lý về gan, tiêu thụ (DIC, huyết khối...), có thai, dùng estrogen, điều trị heparin, L-asparaginase, Crohn's...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm về các Khoa và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

- Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF)

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng, lưu ý khi trả kết quả (RF)

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.

- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.

- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Van Cott EM, Orlando C, Moore GW, et al. Recommendations for clinical laboratory testing for antithrombin deficiency; Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost JTH*. 2020;18(1):17-22. doi:10.1111/jth.14648

3. Khor B, Van Cott EM. Laboratory tests for antithrombin deficiency. *Am J Hematol*. 2010;85(12):947-950. doi:10.1002/ajh.21893

87. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN PROTEIN S TỰ DO (FREE PS ANTIGEN)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ kháng nguyên của protein S tự do.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Protein S là chất ức chế đông máu sinh lý, phụ thuộc vitamin K, là đồng yếu tố của protein C. Trong huyết tương, protein S tồn tại dưới 2 dạng: dạng tự do và dạng liên kết với protein (C4bBP), trong đó chỉ ở dạng tự do có tác dụng ức chế đông máu. Thiếu protein S có thể di truyền hoặc mắc phải và là một trong những yếu tố nguy cơ huyết khối.

Nồng độ protein S tự do có thể xác định bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Các hạt latex có gắn C4BP sẽ gắn với protein S tự do trong huyết tương của người bệnh. Protein S tự do sau khi được gắn với C4BP sẽ tiếp tục xảy ra quá trình ngưng kết khi được ủ với dung dịch chứa các hạt latex được phủ kháng thể đơn dòng đặc hiệu với protein S. Mức độ ngưng kết tỷ lệ với nồng độ protein S tự do trong huyết tương người bệnh và được đo dựa vào sự thay đổi mật độ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm kháng nguyên của protein S tự do.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Nước cất.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng kháng nguyên protein S tự do trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả protein S được báo cáo dưới dạng % hoặc đơn vị tương đương.

+ Bình thường kháng nguyên protein S tự do ở người trưởng thành ở nam (74 – 146%) và nữ (54,7 – 123,7%). Protein S thấp ở sơ sinh và trẻ nhỏ, sau đó tăng dần khi trưởng thành. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Một số nguyên nhân làm giảm nồng độ protein S như thiếu PS bẩm sinh**,** DIC**,** suy giảm chức năng gan, hồng cầu hình liềm, dùng thuốc kháng vitamin K, thuốc tránh thai có estrogen, phụ nữ có thai, PS có thể giảm ở người bệnh nhiễm HIV, ho gà, viêm cấp tính...

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF) tăng cao.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng, lưu ý khi trả kết quả (khi RF tăng cao).

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Robert C. Gosselin, Richard A. Marlar. Preanalytical Variables in Coagulation Testing: Setting the Stage for Accurate Results. *Semin Thromb Hemost*. Published online 2019:433-448.

4. Marlar RA, Gausman JN, Tsuda H, Rollins-Raval MA, Brinkman HJM. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2021;19(1):68-74. doi:10.1111/jth.15109

88. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN t-PA (Tissue Plasminogen activator)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng kháng nguyên t-PA.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

t-PA (Tissue plasminogen activator: chất hoạt hóa plasminogen tổ chức) là yếu tố quan trọng trong hệ thống tiêu sợi huyết, đóng vai trò chủ yếu trong hoạt hóa plasminogen thành plasmin. Kháng nguyên t-PA có thể được xác định bằng phương pháp ELISA.

Kháng thể đặc hiệu với t-PA được phủ ở giếng xét nghiệm. Thêm mẫu chứng và mẫu người bệnh vào giếng, t-PA trong mẫu được cố định vào giếng nhờ hình thành phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Sau khi rửa để loại bỏ kháng thể thừa, kháng thể kháng t-PA gắn chất chỉ thị màu được thêm vào giếng, rửa để loại bỏ phần kháng thể không gắn với t-PA, thêm enzyme vào giếng, bổ sung cơ chất để hoạt hóa enzyme, xúc tác phản ứng tạo màu. Mật độ quang đo được tỷ lệ với nồng độ kháng nguyên t-PA trong huyết tương người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipette đơn kênh.
- Pipette đa kênh.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Máng nhựa đựng hóa chất.
- Đồng hồ bấm giờ.
- Đũa khuấy thủy tinh.
- Rack thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm t – PA phương pháp ELISA.
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Nước cất.
- Dung dịch H2SO4.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Sample cup.

- Giấy thấm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy rửa ELISA.
- Máy đọc.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm
- Thực hiện xét nghiệm định lượng kháng nguyên t-PA theo quy trình vận hành:

+ Phân phối mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm vào các giếng xét nghiệm theo thứ tự hướng dẫn.

+ Ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng

+ Rửa giếng lần 1 bằng dung dịch rửa đã được pha loãng trên máy rửa. Làm khô phiến

+ Cố định phức hợp miễn dịch bằng cách bổ sung lần lượt dung dịch chứa kháng thể kháng t-PA có gắn enzyme

+ Ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng

+ Rửa phiến lần 2 bằng dung dịch rửa đã được pha loãng trên máy rửa. Làm khô phiến.

+ Bổ sung cơ chất, xúc tác phản ứng sinh màu

+ Đọc kết quả trên máy đọc

- Lưu kết quả đọc.
- Kết quả được biểu thị dưới dạng đơn vị ng/ml.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Xem xét kết quả mẫu chứng âm, chứng dương.

+ Kết quả t-PA được báo cáo dưới dạng ng/ml hoặc – đơn vị tương đương.

+ Bình thường t-PA trong khoảng 2 -12 ng/ml. Phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ t-PA giảm là yếu tố nguy cơ huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu, yếu tố dạng thấp (RF) tăng cao.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng, lưu ý khi trả kết quả (khi RF tăng cao).

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt: Mẫu chứng âm, chứng dương, giếng trắng.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có).

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

2. Jilani TN, Siddiqui AH. Tissue Plasminogen Activator. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2023. Accessed October 3, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507917/

89. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ CHẤT ỨC CHẾ YẾU TỐ V

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ chất ức chế yếu tố đông máu V.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khi trong huyết tương có mặt chất ức chế yếu tố V hay còn gọi là kháng thể chống lại yếu tố V, kháng thể này sẽ kết hợp với yếu tố V tạo thành phức hợp kháng nguyên - kháng thể, dẫn đến giảm nồng độ yếu tố V trong huyết tương, kháng thể này có đặc điểm phụ thuộc thời gian và nhiệt độ.

Thực hiện định lượng chất ức chế yếu tố V theo phương pháp Bethesda. Pha loãng huyết tương của BN ở nhiều nồng độ khác nhau bằng dung dịch pha loãng, trộn với huyết tương bình thường với tỷ lệ 1 : 1 và ủ ở 37 ^{0}C trong 2 giờ sau đó định lượng yếu tố V còn lại. Tỷ lệ pha loãng phù hợp khi nồng độ yếu tố V còn lại nằm trong khoảng 25% - 75% so với mẫu chứng. Dựa vào lượng V còn lại và tỷ lệ pha loãng, tính ra nồng độ ức chế yếu tố V qua bảng Bethesda units.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định lượng yếu tố V.
- Hóa chất làm xét nghiệm PT hoặc APTT.
- Huyết tương pool bình thường đã biết nồng độ yếu tố V.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất khử khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống chứa huyết tương làm xét nghiệm (sample cup).
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.

- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Pha loãng huyết tương người bệnh theo tỷ lệ: 1/2, 1/4, 1/8 , 1/16…

- Phân phối lần lượt 200µl huyết tương đã pha loãng vào ống nghiệm (ống bệnh).

- Phân phối 200µl dung dịch pha loãng vào ống 2 (ống chứng).

- Cho lần lượt vào ống bệnh và chứng: 200µl huyết tương bình thường, trộn đều.

- Ủ các ống bệnh và chứng trong bình cách thủy ở 37^{o}C trong 2 giờ.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm định lượng yếu tố V ở các ống bệnh và chứng trên hệ thống máy đông máu tự động theo quy trình vận hành.

+ Tính nồng độ V còn lại trong huyết tương, đạt khi tỷ lệ này trong khoảng 25% – 75% (lựa chọn nồng độ V ở ống có tỷ lệ V còn lại gần với 50%).

+ Tỷ lệ V còn lại (%) = (nồng độ V ống bệnh/nồng độ V ống chứng) x 100

+ Dựa vào tỷ lệ yếu tố V còn lại sau ủ, tính nồng độ ức chế V dựa vào bảng log kép (phụ lục 1) hoặc sử dụng công thức:

Ức chế yếu tố V (bethesda) = [(2-Log (tỷ lệ V còn lại))/0,301] x tỷ lệ pha loãng.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Đơn vị: Bethesda/ml (BU/ml).

+ 1 đơn vị Bethesda là lượng chất ức chế yếu tố trung hoà 50% yếu tố V.

+ Bình thường: không có chất ức chế yếu tố V.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sang của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Chất ức chế V có thể gặp trong thiếu yếu tố V mắc phải do sinh kháng thể ức chế yếu tố V.

+ Chất ức chế > 5 BU/ml: hiệu giá cao.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Bình cách thủy không đảm bảo nhiệt độ.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng (yếu tố V) theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Franchini M, Lippi G. Acquired factor V inhibitors: a systematic review. *J Thromb Thrombolysis* 31: 449-457, 2011.
2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

90. NGHIỆM PHÁP PROTAMIN SULFATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện phức hệ fibrin monomer.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khi thrombin tác động lên fibrinogen để tạo thành fibrin, một lượng fibrin không được trùng hợp sẽ tạo phức với FDP và fibrinogen. Phức hệ này có thể phát hiện in vitro bởi protamin sulfate.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Protamin sulfate 1%.
- Thrombin.
- Nước cất.
- Hoá chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75x 9,5mm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy.
- Đồng hồ hẹn giờ.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Huyết tương chứng: Huyết tương được tách từ mẫu máu toàn phần của người bệnh không có rối loạn đông máu được chống đông bằng Natri

citrat 3,8% hoặc 3,2% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu, bảo quản nhiệt độ 15-25 ^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu: ly tâm để thu được huyết tương giàu tiểu cầu.
- Chuẩn bị máy ống chứng và ống người bệnh
- Chứng dương:

+ Hút 0,1 ml thrombin và 0,9 ml huyết tương của người bình thường vào ống ghi "chứng + thrombin" và ủ trong bình cách thủy 30 phút.

+ Phân phối 1 ml mẫu hỗn hợp trên vào ống nghiệm ghi chứng dương.

+ Chứng âm: Hút 1 ml huyết tương của người bình thường vào ống ghi chứng âm.

+ Mẫu bệnh: Hút 1ml huyết tương giàu tiểu cầu của người bệnh vào ống ghi người bệnh.

- Kiểm soát chất lượng

+ Thực hiện mẫu chứng ngay khi thực hiện xét nghiệm cho người bệnh. Đánh giá kết quả thu được, nếu mẫu chứng âm cho kết quả âm tính, mẫu chứng dương cho kết quả dương tính (+++) là đạt yêu cầu thì công nhận kết quả của mẫu người bệnh.

- Thực hiện xét nghiệm:

+ Thêm lần lượt 0,05 ml protamin sulfate 1% vào ống nghiệm chứa 1 ml huyết tương của người bệnh, huyết tương chứng âm và huyết tương chứng dương.

+ Để ống đứng trong bình cách thủy.

+ Khởi động đồng hồ bấm giây.

+ Lấy ống nghiệm ra sau 3 phút và đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào tình trạng tan của cục đông để nhận định kết quả:

+ Kết quả dương tính khi có sự hình thành lưới hoặc sợi fibrin.

+ Bình thường: Âm tính.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả như kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng... của người bệnh.

+ Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm xét nghiệm.

+ In kết quả, bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả.

- Diễn giải kết quả bất thường:

+ Dương tính: Phản ánh tình trạng tăng hoạt hóa quá trình đông máu trong cơ thể (tình trạng tăng đông) như DIC, tăng đông, huyết khối.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm: Huyết tương đục, tan máu, fibrinogen tăng cao. Cân nhắc khi đọc kết quả.
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Bình cách thủy không đảm bảo nhiệt độ.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng và theo dõi định kỳ nhiệt độ bình cách thủy theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện mẫu chứng ngay khi thực hiện xét nghiệm cho người bệnh, kết quả đạt.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. PGS.TS.Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ, Nghiệm pháp ethanol hoặc protamin sulfate để phát hiện fibrin monomer, Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội (2016), tr. 88.

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

91. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN REPTILASE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá con đường đông máu chung.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khi bổ sung reptilase - 1 loại enzyme có nguồn gốc từ nọc rắn Bothrops - vào huyết tương đã được chống đông bằng natri citrate, fibrinogen chuyển thành fibrin. Khác với thrombin, reptilase không bị ảnh hưởng bởi heparin, hirudin, do đó reptilase thường được sử dụng để đánh giá khả năng chuyển fibrinogen thành fibrin ở người bệnh có liên quan điều trị heparin.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm chứa reptilase.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch pha loãng.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm đo thời gian Reptilase trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và nhận định kết quả:

- Kết quả thời gian Reptilase được báo cáo dưới dạng giây (s).
- Bình thường thời gian Reptilase dưới 20 giây. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.
- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: Kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.
- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

Biện luận kết quả xét nghiệm:

- Thời gian reptilase kéo dài trong một số trường hợp như:

+ Giảm hoặc thiếu fibrinogen bẩm sinh hoặc mắc phải

+ Tăng sản phẩm thoái giáng của fibrin/fibrinogen do ức chế trùng hợp

+ Tăng globulin

+ Trẻ sơ sinh...

- Thời gian reptilase ngắn có thể gặp trong tăng fibrinogen

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Karapetian H. Reptilase time (RT). *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2013;992:273-277. doi:10.1007/978-1-62703-339-8_20

2. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

3. Thelwell C, Rigsby P, et al. An international collaborative study to calibrate the WHO 2nd International Standard for Ancrod (15/106) and the WHO Reference Reagent for Batroxobin (15/140): communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018; 16: 1003-6.

92. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG ECARIN (ECT: ECARIN CLOTTING TIME)

1. ĐẠI CƯƠNG

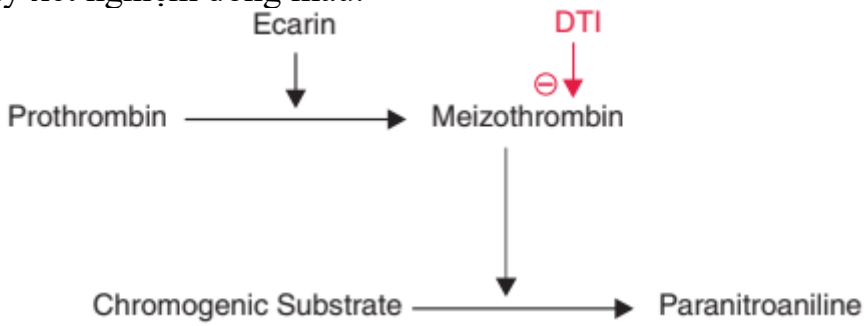
1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính của thuốc ức chế IIa trực tiếp như dabigatran.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dabigatran là một thuốc kháng đông đường uống thế hệ mới có tác dụng ức chế trực tiếp yếu tố IIa, ngăn chặn việc tạo thành cục đông.

Xét nghiệm được đo dựa trên thời gian đông hoặc bằng nguyên lý so màu trên máy xét nghiệm đông máu.



Ecarin là một chất được chiết xuất từ nọc độc của một loại rắn, có tác dụng chuyển Prothrombin thành dạng thrombin trung gian (Meizothrombin). Meizothrombin bị bất hoạt bởi thuốc ức chế IIa trực tiếp trong khi không bị ức chế bởi heparin. Khi cho mẫu huyết tương có chứa Dabigatran vào thì Meizothrombin sẽ bị ức chế. Dư lượng meizothrombin còn lại được xác định dựa vào phản ứng tạo màu của cơ chất, tỷ lệ với nồng độ Dabigatran trong huyết tương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm ECT.
- Thuốc thử 1: hóa chất chứa Prothrombin nguồn gốc từ người.
- Thuốc thử 2: dung dịch cơ chất tạo màu.
- Thuốc thử 3: hóa chất đông khô chứa Ecarin.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Nước cất.

- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu tự động.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.
- Lưu ý: Lấy mẫu đúng thời điểm để xác định nồng độ đỉnh và nồng độ đáy của thuốc.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng

- Thực hiện xét nghiệm ECT trên hệ thống máy đông máu tự động theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ hoạt tính anti IIa được báo cáo dưới dạng đơn vị ng/ml hoặc tương đương.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm: Xét nghiệm dùng để theo dõi nồng độ thuốc ức chế IIa trực tiếp như dabigatran, để đánh giá đáp ứng với thuốc trong một số tình huống lâm sàng.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.

- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gosselin RC, Douxfils J. Ecarin based coagulation testing. *Am J Hematol*. 2020;95(7):863-869. doi:10.1002/ajh.25852

2. Direct Oral Anticoagulants: Laboratory Methods for Assessing Dabigatran | myADLM.org. Accessed September 28, 2023. https://www.aacc.org/science-and-research/clinical-chemistry-trainee-council/trainee-council-in-english/pearls-of-laboratory-medicine/2020/direct-oral-anticoagulants-laboratory-methods-for-assessing-dabigatran

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

93. ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH YẾU TỐ XIII

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ hoạt tính yếu tố XIII – còn được gọi là yếu tố ổn định sợi huyết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Yếu tố XIII giúp hình thành các liên kết chéo giữa các fibrin monomer hòa tan (không bền vững) để hình thành fibrin polymer không hòa tan (bền vững), do đó có tác dụng làm ổn định cục máu đông.

Xét nghiệm định lượng hoạt tính yếu tố XIII có thể thực hiện dựa trên nguyên lý so màu. Yếu tố XIII trong huyết tương của người bệnh được chuyển thành dạng hoạt hóa XIIIa khi bổ sung chất hoạt hóa. Yếu tố XIIIa sẽ được phát hiện bằng phản ứng sinh màu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Giá chứa thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm hoạt tính yếu tố XIII.
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất ngoại kiểm (nếu có).
- Hóa chất hiệu chuẩn.
- Dung dịch rửa.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm đông máu tự động.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode (nếu có) hoặc sổ ghi nhận kết quả.
- Trang thiết bị sử dụng để nhận và lưu mẫu.

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần được chống đông bằng Natri citrate 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ 1 thể tích chống đông và 9 thể tích máu. Mẫu bảo quản nhiệt độ 15 - 25^{o}C, thực hiện xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

- Mẫu không bàn giao được trong vòng 2 giờ hoặc chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay thì tách huyết tương nghèo tiểu cầu, bảo quản ở ≤ - 20^{o}C trong vòng 2 tuần, phải duy trì được trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, đúng loại chất chống đông, mẫu không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.

- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Chuẩn bị: hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Nhận bệnh phẩm:

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Thực hiện giao – nhận mẫu theo quy định.

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20^{o}C: làm tan đông hoàn toàn ở 37^{o}C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông, chưa xét nghiệm ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4^{o}C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm hoạt tính yếu tố XIII trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả nồng độ hoạt tính yếu tố XIII được báo cáo dưới dạng % hoặc tương đương.

+ Bình thường hoạt tính yếu tố XIII 70 – 140%. Do nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả, phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu.

+ Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với các thông tin sau để quyết định báo cáo kết quả: kết quả kiểm soát chất lượng, khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Yếu tố XIII giảm trong bệnh thiếu yếu tố XIII bẩm sinh hoặc mắc phải (bệnh gan...).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm và lưu – hủy mẫu theo đúng quy định.
- Hoàn thiện hồ sơ, sổ sách và vệ sinh khu vực làm việc.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Trong lấy mẫu bệnh phẩm: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm, ...

Giải pháp: Sử dụng kim lấy máu có kích thước từ 18-21G, đào tạo nhân viên.

- Do bản thân mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết tương đục, tan máu.

Giải pháp: Từ chối mẫu hoặc thực hiện xét nghiệm trên thiết bị khác không bị ảnh hưởng.

- Người bệnh bị bệnh lý đa hồng cầu: Hematocrit > 55%.

Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrate theo quy định.

- Mẫu NH3 cao, fibrinogen quá thấp hoặc tăng cao.

Giải pháp: Pha loãng mẫu với nước muối đẳng trương khi NH3, fibrinogen tăng cao.

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm soát chất lượng theo quy định, kết quả đạt.
- Ngoại kiểm soát chất lượng (nếu có) theo quy định.
- Kiểm tra, đánh giá chất lượng/hiệu chuẩn trang thiết bị, hóa chất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế. Chỉ định và đánh giá kết quả một số xét nghiệm đông cầm máu. In: *Hướng Dẫn Chẩn Đoán và Điều Trị Bệnh Lý Huyết Học*. ; 2022:465.

2. Hsieh L, Nugent D. Factor XIII deficiency. *Haemophilia*. 2008;14(6):1190-1200. doi:10.1111/j.1365-2516.2008.01857.x
3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.
4. Malkhassian D, Sabir S, Sharma S. Physiology, Factor XIII. In: StatPearls. StatPearls Publishing; 2023. Accessed September 20, 2023. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538271/.

94. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến, dựa trên ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết cột gel. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể của hệ ABO, các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Do vậy, kỹ thuật ngưng kết cột gel làm tăng độ nhạy của xét nghiệm. Ngoài ra, hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả nên tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm…

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard neutral.
- Huyết thanh mẫu.
- Hồng cầu mẫu.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch tráng máy.
- Dung dịch tráng kim.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.

- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng,… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Pha hồng cầu mẫu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

b. Thực hiện xét nghiệm trên máy bán tự động

- Pha hồng cầu mẫu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi tên thuốc thử dưới các cột gel và thông tin của người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50µl hồng cầu mẫu 1% vào các cột gel đã ghi nhãn tương ứng.
- Nhỏ 50µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào các cột gel đã ghi nhãn anti-A, anti-B và anti-AB và cột gel tự chứng (control).
- Nhỏ 50µl huyết thanh người bệnh vào các cột gel đã nhỏ hồng cầu mẫu A và hồng cầu mẫu B.
- Nhỏ 25µl huyết thanh mẫu vào các cột gel đã ghi nhãn tương ứng.
- Ủ tấm gelcard trong vòng 15 phút ở nhiệt độ phòng xét nghiệm.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

Lưu ý:

Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

Cột gel tự chứng phải âm tính, nếu cột gel tự chứng dương tính thì phương pháp huyết thanh mẫu không có giá trị.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm không ổn định (vận tốc không đảm bảo, thời gian không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

95. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến, dựa trên đọc ngưng kết bằng mắt thường và kính hiển vi giúp phát hiện một số trường hợp khó xác định nhóm mà kỹ thuật phiến đá không thể phát hiện được.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Phản ứng ngưng kết sẽ xảy ra nếu kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của người bệnh gặp kháng thể tương ứng trong huyết thanh mẫu và kháng thể trong huyết thanh người bệnh gặp kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu mẫu. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường và/hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm…

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Huyết thanh mẫu.
- Hồng cầu mẫu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Định nhóm máu lần 1 bằng hai phương pháp: huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu

- Pha hồng cầu mẫu 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Chuẩn bị các ống nghiệm sạch, khô, ghi tên thuốc thử và thông tin của người bệnh lên ống nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt thuốc thử vào các ống nghiệm đã ghi nhãn tương ứng ở trên.

- Thêm 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào các ống đã nhỏ huyết thanh mẫu.

- Thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào các ống nghiệm đã nhỏ hồng cầu mẫu.

- Trộn đều và ly tâm các ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.1.2. Bước 3. Định nhóm máu lần 2 bằng hai phương pháp: huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu: Cách thức tương tự như bước 2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

Lưu ý: Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm không ổn định (vận tốc không đảm bảo, thời gian không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng huyết thanh mẫu của một số hãng.

Hướng dẫn sử dụng hồng cầu mẫu của một số hãng Grifols.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.2. Tube Tests for Determination of ABO Group of Red Cells and Serum, 732-733.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

96. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT PHIẾN ĐÁ HOẶC GIẤY TẠI PHÒNG XÉT NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến một cách đơn giản dựa trên đọc phản ứng ngưng kết chỉ bằng mắt thường.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý: Phản ứng ngưng kết sẽ xảy ra nếu kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu gặp kháng thể tương ứng trong huyết thanh mẫu và kháng thể trong huyết thanh gặp kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu mẫu. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Huyết thanh mẫu.
- Hồng cầu mẫu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Phiến đá hoặc giấy.
- Que thủy tinh.
- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng,… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Định nhóm máu lần 1 bằng hai phương pháp: huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 10% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Pha hồng cầu mẫu 10% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Chuẩn bị 01 phiến đá hoặc giấy định nhóm máu, ghi nhãn: anti-A, anti-B, anti-AB, HCM A, HCM B, HCM O và thông tin của người bệnh vào 06 vị trí trên phiến đá hoặc giấy định nhóm máu.
- Nhỏ 2 giọt thuốc thử (anti-A, anti-B, anti-AB, HCM A, HCM B, HCM O) vào các vị trí trên phiến đá hoặc giấy định nhóm máu đã ghi nhãn tương ứng ở trên.

- Thêm 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 10% vào các vị trí ghi nhãn anti-A, anti-B, anti-AB.

- Thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào các vị trí ghi nhãn HCM A, HCM B, HCM O.

- Dùng que thuỷ tinh trộn đều sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm, dàn thành 1 vòng tròn có đường kính 2-3 cm.

- Lắc nghiêng tròn phiến đá hoặc giấy định nhóm máu một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 2-3 phút.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.1.2. Bước 3. Định nhóm máu lần 2 bằng hai phương pháp: huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu: Cách thức tương tự như bước 2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

Lưu ý: Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng huyết thanh mẫu của một số hãng.

Hướng dẫn sử dụng hồng cầu mẫu của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.1. Slide Test for Determination of ABO Type of Red Cells, 731-732.

97. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG THẺ ĐỊNH NHÓM MÁU TẠI PHÒNG XÉT NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến, dựa trên đọc ngưng kết bằng mắt thường, sử dụng thẻ định nhóm gắn sẵn huyết thanh mẫu giúp thực hiện nhanh chóng khi không xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Phản ứng ngưng kết sẽ xảy ra nếu kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của người bệnh gặp kháng thể tương ứng trong huyết thanh mẫu và kháng thể trong huyết thanh người bệnh gặp kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu mẫu. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm…

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thẻ định nhóm máu ABO.
- Hồng cầu mẫu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Que thủy tinh.
- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Ghi thông tin người bệnh lên thẻ định nhóm máu ABO.
- Nhỏ vào mỗi ô tròn trên thẻ 50 µl giọt máu người bệnh
- Thêm 50 µl dung dịch nước muối sinh lý.
- Trộn đều mẫu máu trong từng ô tròn bằng que thủy tinh trong khoảng 30 giây.
- Lắc nghiêng tròn thẻ định nhóm máu một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 30 đến 60 giây.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

Chú ý: Làm thêm phương pháp hồng cầu mẫu bằng kỹ thuật khác để khẳng định nhóm máu cho người bệnh.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

Lưu ý: Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng thẻ định nhóm máu của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

98. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO, Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO và Rh(D) cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa vào nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm, thuận lợi cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý: Phản ứng ngưng kết cột gel.

Nhóm máu hệ ABO: Phương pháp huyết thanh mẫu: Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt của kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Phương pháp hồng cầu mẫu: Sử dụng kháng nguyên đã biết trước là hồng cầu A, hồng cầu B, hồng cầu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A và kháng thể chống B trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

Nhóm máu hệ Rh(D) được xác định dựa vào sự có mặt của kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên D sẽ cho phản ứng ngưng kết với anti-D có trong cột gel, nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên D sẽ không cho phản ứng ngưng kết với anti-D có trong cột gel.

Dưới tác dụng của lực ly tâm, nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên kháng thể, hồng cầu sẽ bị giữ lại phía trên cột gel. Nếu không có hiện tượng ngưng kết, hồng cầu sẽ lắng xuống đáy cột gel. Do vậy, kỹ thuật ngưng kết cột gel làm tăng độ nhạy của xét nghiệm. Ngoài ra, hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả nên tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard định nhóm máu ABO, Rh(D).
- Hồng cầu mẫu A.

- Hồng cầu mẫu B.
- Hồng cầu mẫu O.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch tráng kim.
- Dung dịch tráng máy.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Pha hồng cầu mẫu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.2.2. Thực hiện xét nghiệm trên máy bán tự động

- Pha hồng cầu mẫu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin của người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu mẫu 1% vào các cột gel đã có nhãn tương ứng trên tấm gelcard.
- Thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Nhỏ 10µl hồng cầu bệnh phẩm 5% vào các cột gel có đã có sẵn huyết thanh mẫu và cột gel chứng.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả nhóm máu hệ ABO:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

- Nhận định kết quả nhóm máu Rh(D):

Anti-D	Nhóm máu
+	Rh(D) dương
0	Rh(D) âm hoặc Rh(D) yếu

Lưu ý: Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

Nếu hồng cầu bệnh phẩm cho không cho phản ứng với anti-D IgM hoặc anti-D IgM/IgG cần làm thêm xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu để khẳng định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh.

Cột gel tự chứng phải âm tính, nếu cột gel tự chứng dương tính thì phương pháp huyết thanh mẫu không có giá trị.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị khô hoặc bọt khí ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

99. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO, Rh(D) TRÊN HỆ THỐNG MÁY TỰ ĐỘNG HOÀN TOÀN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO và Rh(D) cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến, kỹ thuật được thực hiện trên hệ thống tự động hoàn toàn giúp hạn chế sai sót và tăng độ chính xác của kết quả xét nghiệm, thuận lợi cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

- Nhóm máu hệ ABO: Phương pháp huyết thanh mẫu: Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt của kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Phương pháp hồng cầu mẫu: Sử dụng kháng nguyên đã biết trước là hồng cầu A, hồng cầu B, hồng cầu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A và kháng thể chống B trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

- Nhóm máu hệ Rh(D) được xác định dựa vào sự có mặt của kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên D sẽ cho phản ứng ngưng kết với anti-D, nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên D sẽ không cho phản ứng ngưng kết với anti-D.

- Dưới tác dụng của lực ly tâm, nếu có phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể, các đám ngưng kết sẽ tập trung thành đám giữa giếng. Nếu không có phản ứng ngưng kết, hồng cầu tự do trải đều trong lòng giếng. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được đọc bằng máy đọc tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả nên tăng tính khách quan và độ chính xác của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Thanh xếp mẫu,
- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Lọ thủy tinh 10 ml.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Huyết thanh mẫu.
- Hồng cầu mẫu.

- Anti-D IgM hoặc anti-D IgM/IgG.
- Rh control.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch đệm cô đặc.
- Dung dịch tráng máy.
- Dung dịch tráng kim.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Phiến xét nghiệm (microplate).
- Thanh khuấy.
- Thanh phân phối.
- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy định nhóm máu tự động.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.

- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm để tách huyết tương

4.1.2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu mẫu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết (+): Hồng cầu tập trung thành đám giữa giếng.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu trải đều trong lòng giếng.

- Nhận định kết quả nhóm máu hệ ABO:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

- Nhận định kết quả nhóm máu Rh(D):

Anti-D	**Nhóm máu**
+	Rh(D) dương
0	Rh(D) âm hoặc Rh(D) yếu

Lưu ý: Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

Nếu hồng cầu bệnh phẩm cho không cho phản ứng với anti-D IgM hoặc anti-D IgM/IgG cần làm thêm xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu để khẳng định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị khô hoặc bọt khí ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng máy định nhóm máu tự động của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

100. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH BẰNG GIẤY HOẶC PHIẾN ĐÁ TRƯỚC KHI TRUYỀN KHỐI HỒNG CẦU/ MÁU TOÀN PHẦN/ KHỐI BẠCH CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp về nhóm máu hệ ABO giữa người bệnh và đơn vị khối hồng cầu/máu toàn phần/khối bạch cầu của người cho tại giường bệnh trước khi truyền.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A, kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ;
- 01 Điều dưỡng.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút ghi nhãn.
- Kéo.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Huyết thanh mẫu: anti-A, anti-B, anti-AB.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Phiến đá hoặc giấy.
- Que thủy tinh.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Bơm kim tiêm.
- Bông thấm nước.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu tĩnh mạch của người bệnh.
- Mẫu máu từ đơn vị khối hồng cầu hoặc máu toàn phần hoặc khối bạch cầu của người cho.

2.5. Phiếu truyền chế phẩm máu

Kiểm tra phiếu truyền máu: có đầy đủ thông tin của người bệnh và đơn vị chế phẩm của người cho theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0,25 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại giường bệnh.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Kiểm tra đối chiếu người bệnh

- Hỏi trực tiếp người bệnh các thông tin giúp nhận dạng người bệnh như họ tên, năm sinh, quê quán…, trường hợp người bệnh không tự trả lời được thì hỏi người nhà người bệnh.
- Kiểm tra, đối chiếu các thông tin người bệnh cung cấp với thông tin người bệnh trên phiếu chỉ định truyền máu, thông tin trên đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu, thông tin trên phiếu truyền chế phẩm máu và người bệnh.

4.1.2. Bước 2. Kiểm tra đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu:

Còn nguyên vẹn (không bị hở, nứt, thủng …), nhãn rõ ràng, còn hạn sử dụng, không bị đông dây, màu sắc không bất thường, không nổi váng trên bề mặt …

4.1.2. Bước 3. Thực hiện kỹ thuật

- Định nhóm máu hệ ABO của người bệnh:

+ Ghi thông tin người bệnh lên phiến giấy/ phiến đá.

+ Nhỏ lần lượt 2 giọt anti-A, 2 giọt anti-B, 2 giọt anti-AB vào 3 vị trí khác nhau trên phiến giấy/ phiến đá.

+ Lấy máu tĩnh mạch của người bệnh. Nhỏ 1 giọt máu toàn phần của người bệnh vào cạnh 3 vị trí đã nhỏ huyết thanh mẫu và 1 giọt vào vị trí control.

+ Dùng que thuỷ tinh trộn đều sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm, dàn thành 1 vòng tròn có đường kính 2-3 cm.

+ Lắc nghiêng tròn phiến giấy/ phiến đá một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 2-3 phút.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Định nhóm máu hệ ABO của đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu:

+ Ghi thông tin đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu lên phiến giấy/ phiến đá.

+ Nhỏ lần lượt 2 giọt anti-A, 2 giọt anti-B, 2 giọt anti AB vào 3 vị trí khác nhau trên phiến giấy/ phiến đá.

+ Nhỏ vào cạnh 3 vị trí đã nhỏ huyết thanh mẫu mỗi vị trí 1 giọt máu lấy từ đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu và 1 giọt vào vị trí control.

+ Dùng que thuỷ tinh trộn đều sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm, dàn thành 1 vòng tròn có đường kính 2-3 cm.

+ Lắc nghiêng tròn phiến giấy/ phiến đá một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 2-3 phút.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và nhận định kết quả:

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A	+	0	+
B	0	+	+
AB	+	+	+
O	0	0	0

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Xác định sai người bệnh.

Xử trí: Hỏi người bệnh đầy đủ các thông tin giúp nhận dạng người bệnh.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y tế (2013), Thông tư 26/2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.1. Slide Test for Determination of ABO Type of Red Cells, 731-732.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

101. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH BẰNG GIẤY HOẶC PHIẾN ĐÁ TRƯỚC KHI TRUYỀN TIỂU CẦU/ HUYẾT TƯƠNG/ TỦA LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp về nhóm máu hệ ABO giữa người bệnh và đơn vị tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh của người cho tại giường bệnh trước khi truyền.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A, kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ;
- 01 Điều dưỡng.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút ghi nhãn.
- Kéo.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Huyết thanh mẫu: anti-A, anti-B, anti-AB.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Phiến đá hoặc giấy.
- Que thủy tinh.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Bơm kim tiêm.
- Bông thấm nước.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu tĩnh mạch của người bệnh.
- Mẫu huyết tương từ đơn vị tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh của người cho.

2.5. Phiếu truyền chế phẩm máu

Kiểm tra phiếu truyền máu: có đầy đủ thông tin của người bệnh và đơn vị chế phẩm của người cho theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0,25 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại giường bệnh.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Kiểm tra đối chiếu người bệnh

- Hỏi trực tiếp người bệnh các thông tin giúp nhận dạng người bệnh như họ tên, năm sinh, quê quán…, trường hợp người bệnh không tự trả lời được thì hỏi người nhà người bệnh.
- Kiểm tra, đối chiếu các thông tin người bệnh cung cấp với thông tin người bệnh trên phiếu chỉ định truyền máu, thông tin trên đơn vị tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh, thông tin trên phiếu truyền chế phẩm máu và người bệnh.

4.1.2. Bước 2. Kiểm tra đơn vị tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh:

Còn nguyên vẹn (không bị hở, nứt, thủng …), nhãn rõ ràng, còn hạn sử dụng, màu sắc không bất thường, không nổi váng trên bề mặt …

4.1.2. Bước 3. Thực hiện kỹ thuật

- Định nhóm máu hệ ABO của người bệnh:

+ Ghi thông tin người bệnh lên phiến giấy/ phiến đá.

+ Nhỏ lần lượt 2 giọt anti-A, 2 giọt anti-B, 2 giọt anti-AB vào 3 vị trí khác nhau trên phiến giấy/ phiến đá.

+ Lấy máu tĩnh mạch của người bệnh. Nhỏ 1 giọt máu toàn phần của người bệnh vào cạnh 3 vị trí đã nhỏ huyết thanh mẫu và 1 giọt vào vị trí control.

+ Dùng que thuỷ tinh trộn đều sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm, dàn thành 1 vòng tròn có đường kính 2-3 cm.

+ Lắc nghiêng tròn phiến giấy/ phiến đá một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 2-3 phút.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Thực hiện phản ứng hòa hợp tại giường:

+ Nhỏ 2 giọt huyết tương lấy từ đơn vị khối tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh và 1 giọt máu toàn phần của người bệnh vào 1 vị trí khác trên phiến đá/ phiến giấy.

+ Dùng que thuỷ tinh trộn đều sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm, dàn thành 1 vòng tròn có đường kính 2-3 cm.

+ Lắc nghiêng tròn phiến giấy/ phiến đá một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 2-3 phút.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và nhận định kết quả:

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả nhóm máu hệ ABO:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A	+	0	+
B	0	+	+
AB	+	+	+
O	0	0	0

- Nhận định kết quả phản ứng hòa hợp tại giường:

Phản ứng	Kết quả
0	Hòa hợp
1+ đến 4+	Không hòa hợp

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Xác định sai người bệnh.

Xử trí: Hỏi người bệnh đầy đủ các thông tin giúp nhận dạng người bệnh.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y tế (2013), Thông tư 26/2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.1. Slide Test for Determination of ABO Type of Red Cells, 731-732.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

102. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH TRÊN THẺ (ĐÃ CÓ SẴN HUYẾT THANH MẪU) TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU TOÀN PHẦN/ KHỐI HỒNG CẦU/ KHỐI BẠCH CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp về nhóm máu hệ ABO giữa người bệnh và đơn vị khối hồng cầu/máu toàn phần/khối bạch cầu của người cho tại giường bệnh trước khi truyền.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A, kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ;
- 01 Điều dưỡng.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút ghi nhãn.
- Kéo.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thẻ định nhóm máu đã có sẵn huyết thanh mẫu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Que thủy tinh.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Bơm kim tiêm.
- Bông thấm nước.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu tĩnh mạch của người bệnh.
- Mẫu máu từ đơn vị khối hồng cầu hoặc máu toàn phần hoặc khối bạch cầu của người cho.

2.5. Phiếu truyền chế phẩm máu

Kiểm tra phiếu truyền máu: có đầy đủ thông tin của người bệnh và đơn vị chế phẩm của người cho theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0,25 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại giường bệnh.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Kiểm tra đối chiếu người bệnh

- Hỏi trực tiếp người bệnh các thông tin giúp nhận dạng người bệnh như họ tên, năm sinh, quê quán…, trường hợp người bệnh không tự trả lời được thì hỏi người nhà người bệnh.
- Kiểm tra, đối chiếu các thông tin người bệnh cung cấp với thông tin người bệnh trên phiếu chỉ định truyền máu, thông tin trên đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu, thông tin trên phiếu truyền chế phẩm máu và người bệnh.

4.1.2. Bước 2. Kiểm tra đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu:

Còn nguyên vẹn (không bị hở, nứt, thủng …), nhãn rõ ràng, còn hạn sử dụng, màu sắc không bất thường, không nổi váng trên bề mặt …

4.1.2. Bước 3. Thực hiện kỹ thuật

- Định nhóm máu hệ ABO của người bệnh:

+ Ghi thông tin người bệnh lên thẻ định nhóm máu.

+ Nhỏ vào mỗi ô tròn có chứa huyết thanh khô trên thẻ định nhóm máu 1 giọt nước muối sinh lý (bao gồm cả ô control).

+ Lấy máu tĩnh mạch của người bệnh.

+ Nhỏ vào mỗi ô tròn trên thẻ định nhóm máu 1 giọt máu người bệnh (bao gồm cả ô control).

+ Trộn đều mẫu máu trong từng ô tròn bằng que thủy tinh.

+ Lắc nghiêng tròn thẻ định nhóm máu khoảng từ 30 đến 60 giây.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Định nhóm máu hệ ABO của đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu

+ Ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên thẻ định nhóm máu.

+ Nhỏ vào mỗi ô tròn có chứa huyết thanh khô trên thẻ định nhóm máu 1 giọt nước muối sinh lý (bao gồm cả ô control).

+ Nhỏ vào mỗi ô tròn trên thẻ định nhóm máu (bao gồm cả ô control) 1 giọt máu lấy từ đơn vị khối hồng cầu/ máu toàn phần/ khối bạch cầu.

+ Trộn đều mẫu máu trong từng ô tròn bằng que thủy tinh.

+ Lắc nghiêng tròn thẻ định nhóm máu khoảng từ 30 đến 60 giây.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và nhận định kết quả:

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A	+	0	+
B	0	+	+
AB	+	+	+
O	0	0	0

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Xác định sai người bệnh.

Xử trí: Hỏi người bệnh đầy đủ các thông tin giúp nhận dạng người bệnh.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng thẻ định nhóm máu của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.1. Slide Test for Determination of ABO Type of Red Cells, 731-732.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

103. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TẠI GIƯỜNG BỆNH TRÊN THẺ (ĐÃ CÓ SẴN HUYẾT THANH MẪU) TRƯỚC KHI TRUYỀN TIỂU CẦU/ HUYẾT TƯƠNG/ TỦA LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp về nhóm máu hệ ABO giữa người bệnh và đơn vị tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh của người cho tại giường bệnh trước khi truyền.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A, kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ;
- 01 Điều dưỡng.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bút ghi nhãn.
- Kéo.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thẻ định nhóm máu đã có sẵn huyết thanh mẫu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Que thủy tinh.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Bơm kim tiêm.
- Bông thấm nước.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu tĩnh mạch của người bệnh.
- Mẫu huyết tương từ đơn vị tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh của người cho.

2.5. Phiếu truyền chế phẩm máu

Kiểm tra phiếu truyền máu: có đầy đủ thông tin của người bệnh và đơn vị chế phẩm của người cho theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0,25 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại giường bệnh.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Kiểm tra đối chiếu người bệnh

- Hỏi trực tiếp người bệnh các thông tin giúp nhận dạng người bệnh như họ tên, năm sinh, quê quán…, trường hợp người bệnh không tự trả lời được thì hỏi người nhà người bệnh.
- Kiểm tra, đối chiếu các thông tin người bệnh cung cấp với thông tin người bệnh trên phiếu chỉ định truyền máu, thông tin trên đơn vị tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh, thông tin trên phiếu truyền chế phẩm máu và người bệnh.

4.1.2. Bước 2. Kiểm tra đơn vị tiểu cầu/ huyết tương/ tủa lạnh:

Còn nguyên vẹn (không bị hở, nứt, thủng …), nhãn rõ ràng, còn hạn sử dụng, màu sắc không bất thường, không nổi váng trên bề mặt …

4.1.2. Bước 3. Thực hiện kỹ thuật

- Định nhóm máu hệ ABO của người bệnh:

+ Ghi thông tin người bệnh lên thẻ định nhóm máu.

+ Nhỏ vào mỗi ô tròn có chứa huyết thanh khô trên thẻ định nhóm máu 1 giọt nước muối sinh lý (bao gồm cả ô control).

+ Lấy máu tĩnh mạch của người bệnh.

+ Nhỏ vào mỗi ô tròn trên thẻ định nhóm máu 1 giọt máu người bệnh (bao gồm cả ô control).

+ Trộn đều mẫu máu trong từng ô tròn bằng que thủy tinh.

+ Lắc nghiêng tròn thẻ định nhóm máu khoảng từ 30 đến 60 giây.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Thực hiện phản ứng hòa hợp tại giường:

+ Ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên thẻ định nhóm máu.

+ Nhỏ 1 giọt dung dịch nước muối sinh lý vào ô control.

+ Thêm 1 giọt máu toàn phần của người bệnh vào ô control.

+ Nhỏ 1 giọt máu lấy từ đơn vị chế phẩm máu vào ô control trên thẻ định nhóm máu.

+ Trộn đều mẫu máu trong ô tròn bằng que thủy tinh.

+ Lắc nghiêng tròn thẻ định nhóm máu khoảng từ 30 đến 60 giây.

+ Đọc mức độ ngưng kết và nhận định kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và nhận định kết quả:

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB
A	+	0	+
B	0	+	+
AB	+	+	+
O	0	0	0

- Nhận định kết quả phản ứng hòa hợp tại giường:

Phản ứng	Kết quả
0	Hòa hợp
1+ đến 4+	Không hòa hợp

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Ghi hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Xác định sai người bệnh.

Xử trí: Hỏi người bệnh đầy đủ các thông tin giúp nhận dạng người bệnh.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y tế (2013), Thông tư 26/2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

Hướng dẫn sử dụng thẻ định nhóm máu của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.1. Slide Test for Determination of ABO Type of Red Cells, 731-732.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

104. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến, dựa trên đọc ngưng kết bằng mắt thường và kính hiển vi giúp phát hiện một số trường hợp khó xác định nhóm mà kỹ thuật phiến đá không thể phát hiện được.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-D để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường và/hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-D IgM hoặc anti-D IgM/ IgG.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô, ghi nhãn: anti-D và thông tin của bệnh phẩm lên ống nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt thuốc thử anti-D vào ống nghiệm trên.
- Thêm 1 giọt hồng cầu 5% của bệnh phẩm vào ống nghiệm.
- Trộn đều và ly tâm ống nghiệm.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả nhóm máu Rh(D):

Anti-D	Nhóm máu
+	Rh(D) dương
0	Rh(D) âm hoặc Rh(D) yếu

Lưu ý: Nếu hồng cầu bệnh phẩm cho không cho phản ứng với anti-D IgM hoặc anti-D IgM/IgG cần làm thêm xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu để khẳng định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.7. Tube Test for Determination of Rh type, 740-741.

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

105. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT PHIẾN ĐÁ HOẶC GIẤY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến một cách đơn giản dựa trên đọc phản ứng ngưng kết chỉ bằng mắt thường.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-D để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-D IgM hoặc Anti-D IgM/ IgG.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Phiến đá hoặc giấy.
- Que thủy tinh.
- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm …

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm …

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0,75 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 10% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Chuẩn bị 01 phiến đá hoặc giấy định nhóm máu, ghi nhãn: anti-D và thông tin của bệnh phẩm lên phiến đá hoặc giấy định nhóm máu.
- Nhỏ 2 giọt thuốc thử anti-D lên phiến đá hoặc giấy định nhóm máu.
- Thêm 1 giọt hồng cầu 10% của người bệnh vào cạnh vị trí nhỏ anti-D.
- Dùng que thuỷ tinh trộn đều sinh phẩm và mẫu bệnh phẩm, dàn thành 1 vòng tròn có đường kính 2-3 cm.
- Lắc nghiêng tròn phiến đá hoặc giấy định nhóm máu một cách nhẹ nhàng, liên tục trong vòng 2-3 phút.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả nhóm máu Rh(D):

Anti-D	Nhóm máu
+	Rh(D) dương
0	Rh(D) âm hoặc Rh(D) yếu

Lưu ý: Nếu hồng cầu bệnh phẩm cho không cho phản ứng với anti-D IgM hoặc anti-D IgM/IgG cần làm thêm xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu để khẳng định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.

- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.6. Slide Test for Determination of Rh type, 739-740.

Hướng dẫn sử dụng anti-D của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

106. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRONG TRƯỜNG HỢP KHÔNG XÁC ĐỊNH ĐƯỢC BẰNG PHƯƠNG PHÁP THÔNG THƯỜNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến trong trường hợp có bất đồng giữa phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Các nhóm máu của hệ ABO được xác định dựa vào sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A, kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu và sự có mặt hoặc không có mặt của kháng thể A, kháng thể B trong huyết thanh. Vì vậy nhóm máu hệ ABO được xác định bằng hai phương pháp là huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu:

Phương pháp huyết thanh mẫu: Sử dụng kháng thể đã biết trước là anti-A, anti-B, anti-AB để xác định sự có mặt của kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết.

Phương pháp hồng cầu mẫu: Sử dụng kháng nguyên đã biết trước là hồng cầu A, hồng cầu B, hồng cầu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A và kháng thể chống B trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

Những trường hợp có bất đồng giữa phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu gọi là nhóm máu hệ ABO khó xác định và không thể sử dụng các phương pháp thông thường để định nhóm máu và kết luận nhóm máu cho người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Huyết thanh mẫu đa giá và đơn giá: anti-A, anti-B, anti-AB.
- Hồng cầu mẫu: A, B, O.
- Anti-A_1 lectin.
- Anti-H.

- Panel sàng lọc kháng thể bất thường.
- Panel định danh kháng thể bất thường.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm …

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Bình cách thủy.
- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm gelcard.
- Máy ủ gelcard.
- Máy đọc gelcard.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm …

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.
+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông hoặc tan máu.
+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.
+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.

- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.

- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống bệnh phẩm để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

Định nhóm máu hệ ABO bằng phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu bằng các kỹ thuật khác nhau (ống nghiệm, gelcard …).

- Tiến hành làm các chứng sau:

+ Chứng auto: 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm và 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5%

+ Chứng đồng loài: 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm và 1 giọt hồng cầu mẫu O 5%

- Căn cứ vào kết quả phản ứng giữa hồng cầu bệnh phẩm với huyết thanh mẫu, huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu mẫu, chứng auto và chứng đồng loài có thể chia các trường hợp nhóm máu hệ ABO khó xác định thành 4 nhóm sau và giải quyết theo từng trường hợp cụ thể được trình bày ở phần dưới đây:

Nhóm 1: Sự bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu là do kháng thể yếu hoặc vắng mặt kháng thể của hệ ABO. Nguyên nhân là do người bệnh giảm hoặc không thể sản xuất kháng thể của hệ ABO. Một số trường hợp thường gặp ở nhóm này: Trẻ sơ sinh, người già, người bệnh lơ xê mi có giảm gamma globulin, người bệnh u lympho có giảm gamma globulin, người bệnh sử dụng các thuốc ức chế miễn dịch, người bệnh bị bệnh suy giảm miễn dịch, người bệnh ghép tế bào gốc.

- Đặc điểm: Các chứng đều âm tính, huyết thanh người bệnh không cho phản ứng với hồng cầu mẫu.

- Cách giải quyết:

+ Khai thác thông tin của người bệnh về tuổi, chẩn đoán lâm sàng, ghép tế bào gốc …

+ Ủ huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu mẫu ở nhiệt độ phòng trong vòng 30-45 phút, sau đó ly tâm và đọc kết quả.

+ Nếu vẫn chưa giải quyết được thì ủ huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu mẫu và chứng đồng loài ở nhiệt độ 2-8^{o}C trong vòng 30 - 45 phút, sau đó ly tâm và đọc kết quả. Kết quả của phương pháp hồng cầu mẫu được công nhận khi chứng đồng loài âm tính.

Nhóm 2: Sự bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu là do kháng nguyên yếu hoặc vắng mặt kháng nguyên của hệ ABO. Một số trường hợp thường gặp ở nhóm này: Dưới nhóm của nhóm A hoặc dưới nhóm của nhóm B, bệnh lơ xê mi cấp, nhóm máu B mắc phải …

- Đặc điểm: Các chứng đều âm tính, hồng cầu bệnh phẩm không cho phản ứng với huyết thanh mẫu.

- Cách giải quyết:

+ Khai thác thông tin của người bệnh.

+ Ủ hồng cầu bệnh phẩm với huyết thanh mẫu ở nhiệt độ phòng trong vòng 30-45 phút, sau đó ly tâm và đọc kết quả.

+ Nếu chưa giải quyết được thì sử dụng huyết thanh mẫu đơn giá của các hãng khác nhau và huyết thanh mẫu đa giá để định nhóm máu bằng phương pháp huyết thanh mẫu.

+ Nếu vẫn chưa giải quyết được thì sử dụng kỹ thuật hấp phụ và tách kháng thể hoặc xét nghiệm dịch nước bọt (saliva test).

Nhóm 3: Sự bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu là do tăng protein bất thường trong huyết tương, kết quả dẫn đến hồng cầu xếp chồng lên nhau giống như hình ảnh chuỗi tiền hay ngưng kết giả, có thể gặp trong các trường hợp bệnh lý: Đa u tủy xương, Waldenstrom, u lympho Hodgkin, tăng fibrinogen …

- Đặc điểm: Các chứng đồng loài và auto đều dương tính, huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với tất cả các hồng cầu mẫu, hồng cầu bệnh phẩm có thể cho phản ứng dương tính với tất cả các huyết thanh mẫu.

- Cách giải quyết:

+ Khai thác thông tin của người bệnh.

+ Rửa hồng cầu bệnh phẩm nhiều lần bằng nước muối đến khi không còn thấy hình ảnh chuỗi tiền thì định lại bằng phương pháp huyết thanh mẫu.

+ Pha loãng huyết thanh người bệnh bằng nước muối sinh lý đến nồng độ không còn gây hình ảnh hồng cầu chuỗi tiền, rồi định lại bằng phương pháp hồng cầu mẫu.

Nhóm 4: Sự bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu do nhiều nguyên nhân khác nhau, có thể có các nguyên nhân sau:

Kháng thể lạnh

Tự kháng thể nóng

Kháng thể bất thường của hệ ABO

Kháng thể bất thường ngoài hệ ABO

Nhóm máu O Bombay.

Kháng thể lạnh:

- Đặc điểm: Ở môi trường nhiệt độ lạnh, các chứng đều dương tính, huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với các hồng cầu mẫu, hồng cầu bệnh phẩm cho phản ứng dương tính với các huyết thanh mẫu.

- Cách giải quyết:

+ Khai thác thông tin người bệnh, xem xét điều kiện môi trường tại thời điểm làm xét nghiệm.

+ Xử lý hồng cầu của người bệnh: Ủ hồng cầu bệnh phẩm ở 37^{o}C trong vòng 30 phút, sau đó rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý ấm (nước muối ủ ở 37^{o}C) và định lại nhóm máu bằng phương pháp huyết thanh mẫu.

+ Đối với huyết thanh người bệnh, ủ ống nghiệm chứa hồng cầu mẫu và huyết thanh người bệnh ở 37^{o}C trong vòng 30 phút, sau đó đọc kết quả ở 37^{o}C.

Tự kháng thể nóng:

- Đặc điểm: Các chứng đều dương tính, huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với các hồng cầu mẫu, hồng cầu bệnh phẩm cho phản ứng dương tính với các huyết thanh mẫu, có thể thấy hình ảnh hồng cầu bệnh phẩm tự ngưng kết.

- Cách giải quyết:

+ Khai thác thông tin về chẩn đoán lâm sàng của người bệnh.

+ Xử lý hồng cầu bệnh phẩm: Tiến hành tách kháng thể bằng nhiệt. Sử dụng hồng cầu đã tách kháng thể để định lại phương pháp huyết thanh mẫu.

+ Xử lý huyết thanh người bệnh: Dùng hồng cầu O hấp phụ huyết thanh người bệnh. Sử dụng huyết thanh người bệnh đã hấp phụ để định lại phương pháp hồng cầu mẫu.

Kháng thể bất thường của hệ ABO (liên quan đến các dưới nhóm của hệ ABO):

- Đặc điểm: Các chứng đều âm tính, huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với hồng cầu mẫu A và hồng cầu mẫu B.

- Cách giải quyết: Sử dụng huyết thanh mẫu anti-A_1 lectin.

Kháng thể bất thường ngoài hệ ABO:

- Đặc điểm: Chứng đồng loài dương tính, chứng auto âm tính, huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với hồng cầu mẫu A và hồng cầu mẫu B.

- Cách giải quyết:

+ Sàng lọc và định danh kháng thể bất thường trong huyết thanh người bệnh.

+ Dựa trên kết quả sàng lọc và định danh kháng thể bất thường, chọn hồng cầu A và hồng cầu B không mang các kháng nguyên tương ứng với kháng thể bất thường trong huyết thanh người bệnh để định lại bằng phương pháp hồng cầu mẫu. Hoặc sử dụng hồng cầu O mang kháng nguyên tương ứng với kháng thể bất thường trong huyết thanh của người bệnh để hấp phụ hết kháng thể bất thường, sau đó sử dụng huyết thanh sau hấp phụ để định lại bằng phương pháp hồng cầu mẫu.

Nhóm máu O Bombay:

- Đặc điểm: Chứng đồng loài dương tính, chứng auto âm tính, huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với hồng cầu mẫu A và hồng cầu mẫu B.

- Cách giải quyết: Sử dụng huyết thanh mẫu anti-H.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Nhiều đám ngưng kết có kích thước lớn, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Nhiều đám ngưng kết kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Nhiều đám ngưng kết kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Không có đám ngưng kết nào, tất cả là hồng cầu tự do.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- AABB Technical Manual 15th Edition (2005).
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

107. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO, Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT HỒNG CẦU GẮN TỪ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO và Rh(D) cho người khỏe mạnh/ người bệnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên công nghệ gắn từ giúp phát hiện khách quan ngay cả khi có ít kháng nguyên trên hồng cầu, thích hợp cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của công nghệ hồng cầu gắn từ EM (Erythrocytes Magnetized Technology) dựa vào sự từ tính hóa hồng cầu, sử dụng kỹ thuật ngưng kết hồng cầu trên vùng từ tính.

Phương pháp huyết thanh mẫu: Mẫu hồng cầu xét nghiệm được cho vào dung dịch từ tính, sau đó là dung dịch bromeline. Hồng cầu mang kháng nguyên sẽ ngưng kết với kháng thể tương ứng được phủ sẵn trên đĩa. Khi mẫu được đặt vào vùng từ tính, hồng cầu gắn từ sẽ tập trung và tạo khối ngưng kết ở đáy giếng. Sau khi lắc, các hồng cầu tự do sẽ bung ra, lơ lửng trong dung dịch. Sự xuất hiện của ngưng kết cho thấy phản ứng dương tính, trong khi không có ngưng kết cho thấy phản ứng âm tính.

Phương pháp hồng cầu mẫu: Các hồng cầu mẫu chưa từ tính mang kháng nguyên ngưng kết với kháng thể tương ứng trong huyết tương. Khi mang từ tính, hồng cầu gắn từ sẽ di chuyển và hình thành khối kết tủa ở đáy giếng. Sau khi lắc trộn, các hồng cầu tự do sẽ bung ra, lơ lửng trong dung dịch. Hiện tượng ngưng kết xuất hiện cho thấy phản ứng dương tính, trong khi không có sự ngưng kết cho thấy phản ứng âm tính.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch từ tính.
- Hồng cầu mẫu.
- Bromelin.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Thuốc thử dùng cho phát hiện kháng nguyên D.

- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Tube nhựa.
- Đĩa xét nghiệm.
- Đĩa pha loãng hồng cầu.
- Đầu côn các loại.
- Giấy thấm.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm tự động.
- Bàn thao tác.
- Giấy dán.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, máu không bị đông, không bị tan máu.
+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.

- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống bệnh phẩm để tách huyết tương.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Chạy máy xét nghiệm:

+ Xếp bệnh phẩm vào rack và đặt vào khay nạp mẫu.
+ Xếp hóa chất, vật tư tiêu hao vào các vị trí trên máy.
+ Chọn chương trình làm việc tương ứng với chỉ định.

Lưu ý thực hiện nội kiểm:

- Tần suất thực hiện nội kiểm theo quy định của đơn vị.
- Quy trình thực hiện đối với mẫu nội kiểm tương tự như quy trình thực hiện đối với mẫu bệnh phẩm của người bệnh.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết: Hồng cầu tạo thành một hay vài cụm.
+ Không ngưng kết: Hồng cầu đều lơ lửng đồng nhất trong dung dịch.

- Nhận định kết quả nhóm máu hệ ABO:

Nhóm máu	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	+	0	+	0	+	0
B	0	+	+	+	0	0
AB	+	+	+	0	0	0
O	0	0	0	+	+	0

- Nhận định kết quả nhóm máu Rh(D):

Anti-D	**Nhóm máu**
+	Rh(D) dương
0	Rh(D) âm hoặc Rh(D) yếu

Lưu ý: Nếu có bất đồng giữa hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu, cần làm thêm xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO trong trường hợp không xác định được bằng phương pháp thông thường.

Nếu hồng cầu bệnh phẩm không cho phản ứng với anti-D, cần làm thêm xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu để khẳng định nhóm máu hệ Rh(D).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng sản xuất.

108. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt của kháng thể bất thường có trong huyết thanh người bệnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và tính khách quan của xét nghiệm, thích hợp cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Phản ứng ngưng kết cột gel dựa trên nguyên lý: cột gel chứa các hạt gel nhỏ được sắp xếp xen kẽ tạo ra những khoảng trống chỉ đủ cho hồng cầu tự do đi qua khi ly tâm; nếu hồng cầu bị ngưng kết thì các đám ngưng kết bị giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel. Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường (KTBT) bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel là cho huyết thanh cần xét nghiệm tiếp xúc với các hồng cầu panel sàng lọc có đại diện nhiều kháng nguyên nhóm máu, để phản ứng trên cột gel rồi ly tâm; nếu có ngưng kết là có KTBT trong huyết thanh. Hiện tượng ngưng kết được đọc bằng máy, tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard neutral.
- Gelcard AHG (gelcard có thuốc thử kháng globulin người).
- Panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.

- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Chuẩn bị hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường 1%

- Pha các hồng cầu panel 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.

4.1.3. Sàng lọc kháng thể bất thường bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel

4.1.3.1. Sàng lọc KTBTbằng kỹ thuật ngưng kết cột gel trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.3.2. Sàng lọc KTBT bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel trên máy bán tự động

a. Sàng lọc KTBTở điều kiện nhiệt độ phòng xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin bệnh phẩm, số thứ tự hồng cầu panel và chứng auto lên tấm gelcard neutral.
- Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- Nhỏ lần lượt 50 µl hồng cầu panel sàng lọc 1% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% đã chuẩn bị ở trên vào giếng auto.
- Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh của bệnh phẩm vào tất cả các giếng trên.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm tấm gelcard trong 10 phút bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc kết quả: thực hiện theo phần 4.2.

b. Sàng lọc KTBT ở 37^{o}C và có kháng globulin người

- Ghi thông tin bệnh phẩm, số thứ tự hồng cầu panel và chứng auto lên tấm gelcard AHG.
- Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- Nhỏ lần lượt 50 µl hồng cầu panel 1% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% đã chuẩn bị ở trên vào giếng auto.
- Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm vào tất cả các giếng trên.
- Ủ tấm gelcard ở 37ºC trong 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.
- Ly tâm tấm gelcard 10 phút bằng máy quay ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do nằm ở dưới đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do nằm ở dưới đáy cột gel .

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do nằm ở dưới đáy cột gel.

+ Tan máu: dịch màu hồng trải dài suốt cột gel, không có hoặc có ít hồng cầu tự do ở dưới đáy cột gel.

- Nhận định kết quả:

Nếu không có phản ứng ngưng kết ở tất cả các điều kiện thì kết luận: Xét nghiệm sàng lọc KTBT âm tính.

Nếu có phản ứng ngưng kết ở bất cứ điều kiện nào và với bất kỳ hồng cầu panel nào thì kết luận: Xét nghiệm sàng lọc KTBTdương tính, cần làm thêm xét nghiệm định danh kháng thể bất thưởng để xác định tên kháng thể bất thường trong huyết thanh người bệnh. Trong trường hợp chứng auto âm tính: Nghĩ đến kháng thể đồng loài trong huyết thanh. Trường hợp chứng auto dương tính: Nghĩ đến kháng thể tự miễn và/hoặc kháng thể đồng loài trong huyết thanh.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Tan máu

+ Tăng protein bất thường trong máu

+ Fibrin trong mẫu máu

Xử trí: Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm. Đối với mẫu máu tăng protein bất thường cần pha loãng huyết thanh bằng dung dịch nước muối sinh lý đến khi huyết thanh không gây hình ảnh hồng cầu chuỗi tiền. Ly tâm mẫu máu trước khi làm xét nghiệm để làm lắng fibrin.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Nhiễm chéo mẫu từ cột gel này sang cột gel khác.

Xử trí: Mở tấm phủ lên cột gel đúng cách, thay đầu côn khi nhỏ mẫu huyết thanh vào mỗi giếng gelcard.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).

- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng gelcard nước muối và gelcard AHG của một số hãng sản xuất.

Hướng dẫn sử dụng panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường của một số hãng sản xuất.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.2. Indirect Antiglobulin Test (IAT) for the detection of antibodies to red cell antigens, 752 – 754.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

109. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt của kháng thể bất thường có trong huyết thanh người bệnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng quan sát bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường (KTBT) bằng kỹ thuật ống nghiệm là cho huyết thanh cần xét nghiệm phản ứng với các hồng cầu panel sàng lọc (có đại diện nhiều kháng nguyên nhóm máu) trong ống nghiệm. Xét nghiệm dựa trên nguyên lý phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể đặc hiệu. Nếu huyết thanh xét nghiệm có kháng thể đặc hiệu với một hay nhiều kháng nguyên trên hồng cầu panel sàng lọc thì sẽ có ngưng kết; hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường.
- Thuốc thử kháng globulin (Huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.

- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông: 1-2ml, máu không bị đông, không bị tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng,… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Chuẩn bị hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường và hồng cầu bệnh phẩm 5%

- Rửa hồng cầu hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu panel và hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng nước muối sinh lý.

4.1.3. Sàng lọc KTBTở điều kiện nhiệt độ phòng xét nghiệm

- Chuẩn bị 4 ống nghiệm khô, sạch, ghi thông tin bệnh phẩm, thứ tự hồng cầu panel lên 3 ống và một ống chứng auto.
- Nhỏ lần lượt 1 giọt hồng cầu panel 5% vào các ống tương ứng.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống chứng auto.
- Nhỏ thêm 2 giọt huyết thanh của bệnh phẩm vào tất cả các ống trên.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 5 phút.
- Ly tâm và đọc kết quả theo phần 4.2.

4.1.4. Sàng lọc kháng thể bất thường ở 37^{o}C và kháng globulin

a/ Ủ hồng cầu với huyết thanh xét nghiệm

- Chuẩn bị 4 ống nghiệm khô, sạch, ghi thông tin bệnh phẩm, thứ tự hồng cầu panel lên 3 ống và một ống chứng auto.
- Nhỏ lần lượt 1 giọt hồng cầu panel 5% vào các ống tương ứng.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống chứng auto.
- Nhỏ thêm 2 giọt huyết thanh của bệnh phẩm vào tất cả các ống trên.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm và đọc kết quả theo phần 4.2.

b/ Phản ứng với kháng globulin

- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm trên 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin vào các ống nghiệm trên.
- Ly tâm các ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Với các ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, rồi khi ly tâm, sẽ có ngưng kết; nếu vẫn âm tính thì phải xét nghiệm lại.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết: Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

+ Tan máu hoàn toàn: Dịch màu hồng cánh sen, không có hồng cầu tự do.

+ Tan máu một phần: Dịch màu hồng cánh sen, có hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

Nếu không có phản ứng ngưng ở tất cả các điều kiện thì kết luận: Xét nghiệm sàng lọc KTBT âm tính.

Nếu có phản ứng ngưng kết ở bất cứ điều kiện nào và với bất kỳ hồng cầu panel nào thì kết luận: Xét nghiệm sàng lọc KTBTdương tính. Cần làm thêm xét nghiệm định danh kháng thể bất thường để xác định tên kháng thể bất thường trong huyết thanh người bệnh. Trong trường hợp chứng auto âm tính: Nghĩ đến kháng thể đồng loài trong huyết thanh. Trường hợp chứng auto dương tính: Nghĩ đến kháng thể tự miễn và/hoặc kháng thể đồng loài trong huyết thanh.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Tan máu

+ Tăng protein bất thường trong máu

+ Fibrin trong mẫu máu

Xử trí: Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm. Đối với mẫu máu tăng protein bất thường cần pha loãng huyết thanh bằng dung dịch nước muối sinh lý đến khi huyết thanh không gây hình ảnh hồng cầu chuỗi tiền. Ly tâm mẫu máu trước khi làm xét nghiệm để làm lắng fibrin.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường của một số hãng sản xuất.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.2. Indirect Antiglobulin Test (IAT) for the detection of antibodies to red cell antigens, 752 – 754.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 1.8. Reading and grading tube agglutination, 728 – 729.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

110. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định tên (tính đặc hiệu) của kháng thể bất thường chống kháng nguyên hồng cầu có trong huyết thanh người bệnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến với phương pháp phát hiện ngưng kết qua cột gel giúp làm tăng độ nhạy, độ chính xác và tính khách quan của xét nghiệm, thích hợp cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Phản ứng ngưng kết cột gel dựa trên nguyên lý: Cột gel chứa các hạt gel nhỏ được sắp xếp xen kẽ tạo ra những khoảng trống chỉ đủ cho hồng cầu tự do đi qua; nếu hồng cầu bị ngưng kết thì các đám ngưng kết bị giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel. Xét nghiệm định danh kháng thể bất thường (KTBT) bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel là cho huyết thanh cần xét nghiệm tiếp xúc với các hồng cầu panel có kháng nguyên biết trước, để phản ứng trên cột gel rồi ly tâm và phân tích kết quả; dựa vào phân bố kháng nguyên ở các hồng cầu phản ứng để xác định tính đặc hiều của kháng thể. Kỹ thuật có độ nhạy cao và hiện tượng ngưng kết được đọc bằng máy, tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard neutral.
- Gelcard AHG (gelcard có thuốc thử kháng globulin người).
- Panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường (10 – 15 hồng cầu).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Các kháng huyết thanh ngoài hệ ABO (anti-c, anti-E, anti-Mi^a, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-S, anti-Fy^b …).
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).

- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, máu không bị đông, không bị tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Chuẩn bị hồng cầu panel định danh KTBT 1%

- Pha các hồng cầu panel 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.

4.1.3. Định danh kháng thể bất thường bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel

4.1.3.1. Định danh KTBT bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.3.2. Định danh KTBT bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel trên máy bán tự động

a. Định danh KTBT ở điều kiện nhiệt độ phòng xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin bệnh phẩm, số thứ tự hồng cầu panel và chứng auto lên tấm gelcard neutral.
- Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- Nhỏ lần lượt 50 µl hồng cầu panel định danh KTBT 1% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% đã chuẩn bị ở trên vào giếng auto.
- Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh của bệnh phẩm vào tất cả các giếng trên.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm tấm gelcard trong 10 phút bằng máy ly tâm chuyên dụng.
- Đọc kết quả: thực hiện theo phần 4.2.

b. Định danh kháng thể bất thường ở 37^{o}C và có kháng globulin người

- Ghi thông tin bệnh phẩm, số thứ tự hồng cầu panel và chứng auto lên tấm gelcard AHG.
- Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- Nhỏ lần lượt 50 µl hồng cầu panel 1% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% đã chuẩn bị ở trên vào giếng auto.
- Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm vào tất cả các giếng trên.
- Ủ tấm gelcard ở 37ºC trong 15 phút bằng máy ủ chuyên dụng.
- Ly tâm tấm gelcard 10 phút bằng máy quay ly tâm chuyên dụng.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do nằm ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do nằm ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết: hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

+ Tan máu: dịch màu hồng trải dài suốt cột gel, không có hoặc có ít hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

+ Đối chiếu kết quả ngưng kết và không ngưng kết với dàn panel hồng cầu để tìm tính đặc hiệu KTBT

+ Nếu chứng auto dương tính (kháng thể tự miễn/ kháng thể tự miễn kết hợp với kháng thể đồng loài): cần khai thác tiền sử truyền máu và làm thêm các kỹ thuật phụ trợ khác (pha loãng huyết thanh, sau đó định danh KTBT lại hoặc tự hấp phụ, tách kháng thể trên bề mặt hồng cầu để định danh …).

+ Nếu huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với tất cả các hồng cầu panel (kết hợp nhiều loại kháng thể, kháng thể chống lại kháng nguyên có tần suất xuất hiện cao): cần thực hiện thêm các kỹ thuật phụ trợ khác (hấp phụ đồng loài, sử dụng hồng cầu không mang kháng nguyên tương ứng …).

+ Xác định kháng nguyên hồng cầu của người bệnh tương ứng với KTBT nghi ngờ: nếu kết quả âm tính thì kết luận tính đặc hiệu KTBT.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Tan máu

+ Tăng protein bất thường trong máu

+ Fibrin trong mẫu máu

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu để xét nghiệm. Đối với mẫu máu tăng protein bất thường cần pha loãng huyết thanh bằng dung dịch nước muối sinh lý đến khi huyết thanh không gây hình ảnh hồng cầu chuỗi tiền. Ly tâm mẫu máu trước khi làm xét nghiệm để làm lắng fibrin.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Nhiễm chéo mẫu từ cột gel này sang cột gel khác.

Xử trí: mở tấm phủ lên cột gel đúng cách. thay đầu côn khi nhỏ mẫu huyết thanh vào mỗi giếng gelcard.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng gelcard nước muối và gelcard AHG của một số hãng sản xuất.
- Hướng dẫn sử dụng panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường của một số hãng sản xuất.
- AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.2. Indirect Antiglobulin Test (IAT) for the detection of antibodies to red cell antigens, 752 – 754.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

111. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định tính đặc hiệu của kháng thể bất thường chống kháng nguyên hồng cầu có trong huyết thanh người bệnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng quan sát bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm định danh KTBT dựa trên phản ứng ngưng kết trong ống nghiệm khi kháng nguyên trên hồng cầu gặp kháng thể đặc hiệu trong huyết thanh; Sử dụng panel gồm nhiều hồng cầu có các kháng nguyên khác nhau, đã biết trước cho tiếp xúc huyết thanh cần xét nghiệm rồi xem hiện tượng ngưng kết. Đối chiếu kết quả với các kháng nguyên có mặt/ vắng mặt của từng hồng cầu để suy ra kháng thể đặc hiệu trong huyết thanh. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường (10 – 15 hồng cầu).
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Các kháng huyết thanh ngoài hệ ABO (anti-c, anti-E, anti-Mia, anti-Jka, anti-Jkb, anti-S, anti-Fyb …).
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.

- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, máu không bị đông, không bị tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

4.1.2. Chuẩn bị hồng cầu panel định danh KTBT và hồng cầu bệnh phẩm 5%

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha các hồng cầu panel định danh 5% trong nước muối sinh lý.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% trong nước muối sinh lý.

4.1.3. Định danh kháng thể bất thường ở điều kiện nhiệt độ phòng xét nghiệm

- Ghi thông tin bệnh phẩm, số thứ tự hồng cầu panel và chứng auto lên các ống nghiệm để làm xét nghiệm.
- Nhỏ lần lượt 1 giọt hồng cầu panel định danh kháng thể bất thường 5% đã chuẩn bị ở trên vào các ống nghiệm đã ghi nhãn tương ứng.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% đã chuẩn bị ở trên vào ống nghiệm ghi nhãn auto.
- Nhỏ thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào tất cả các ống nghiệm trên.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 5 phút.
- Ly tâm các ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.1.4. Định danh kháng thể bất thường ở 37ºC và kháng globulin người

- Ghi thông tin bệnh phẩm, số thứ tự hồng cầu panel và chứng auto lên các ống nghiệm để làm xét nghiệm.
- Nhỏ lần lượt 1 giọt hồng cầu panel định danh 5% đã chuẩn bị ở trên vào các ống nghiệm đã ghi nhãn tương ứng.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% đã chuẩn bị ở trên vào ống nghiệm ghi nhãn auto.
- Nhỏ thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào tất cả các ống nghiệm trên.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37ºC trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm các ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết lần 1: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm trên 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào các ống nghiệm trên.
- Ly tâm các ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết lần 2: Thực hiện theo phần 4.2.
- Với các ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, rồi khi ly tâm, sẽ có ngưng kết; nếu vẫn âm tính thì phải xét nghiệm lại.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

+ Tan máu hoàn toàn: Dịch màu hồng cánh sen, không có hồng cầu tự do.

+ Tan máu một phần: Dịch màu hồng cánh sen, có hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

+ Đối chiếu các hồng cầu cho kết quả ngưng kết và không ngưng kết với dàn panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường để xác định tên kháng thể bất thường có trong bệnh phẩm.

+ Nếu chứng auto dương tính (kháng thể tự miễn/ kháng thể tự miễn kết hợp với kháng thể đồng loài): cần khai thác tiền sử truyền máu và làm thêm các kỹ thuật phụ trợ khác (pha loãng huyết thanh bệnh phẩm sau đó xét nghiệm lại hoặc tự hấp phụ, tách kháng thể trên bề mặt hồng cầu để định danh …).

+ Nếu huyết thanh người bệnh cho phản ứng dương tính với tất cả các hồng cầu panel (kết hợp nhiều loại kháng thể, kháng thể chống lại kháng nguyên có tần suất xuất hiện cao): cần thực hiện thêm các kỹ thuật phụ trợ khác (hấp phụ đồng loài, sử dụng hồng cầu không mang kháng nguyên tương ứng …).

+ Tiến hành xác định kháng nguyên hồng cầu của bệnh phẩm tương ứng với KTBT nghi ngờ: nếu kết quả âm tính kết luận tính đặc hiệu của KTBT.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Tan máu

+ Tăng protein bất thường trong máu

+ Fibrin trong mẫu máu

Xử trí: Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm. Đối với mẫu máu tăng protein bất thường cần pha loãng huyết thanh bằng dung dịch nước muối sinh lý đến khi huyết thanh không gây hình ảnh hồng cầu chuỗi tiền. Ly tâm mẫu máu trước khi làm xét nghiệm để làm lắng fibrin.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Nhiễm chéo mẫu từ ống nghiệm này sang ống nghiệm khác

Xử trí: Nhỏ sinh phẩm, bệnh phẩm đúng cách, thay pipet sau mỗi lần nhỏ sinh phẩm và bệnh phẩm vào ống nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường của một số hãng sản xuất.
- AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.2. Indirect Antiglobulin Test (IAT) for the detection of antibodies to red cell antigens, 752 – 754.
- AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 1.8. Reading and grading tube agglutination, 728 – 729.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

112. XÁC ĐỊNH BẢN CHẤT KHÁNG THỂ KHÁNG HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định bản chất của kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của người bệnh hoặc người hiến máu với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng đọc bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa trên phản ứng ngưng kết. Sử dụng thuốc thử kháng globulin đơn giá (huyết thanh Coombs đơn giá) để xác định sự có mặt của kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể trên bề mặt hồng cầu. Phản ứng ngưng kết sẽ xảy ra nếu trên bề mặt hồng cầu của người bệnh có cảm nhiễm kháng thể/ thành phần bổ thể mà kháng thể/ thành phần bổ thể này tương ứng với huyết thanh Coombs đơn giá được sử dụng trong xét nghiệm. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc thử kháng globulin đơn giá (anti-IgG, anti-C3d …).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.
- Vật tư tiêu hao.
- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.

- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, máu không bị đông, không bị tan máu.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a/ Pha hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa; pha hồng cầu bệnh phẩm 5% trong nước muối sinh lý.

b/ Cho hồng cầu bệnh phẩm tiếp xúc thuốc thử kháng globulin đơn giá

- Chuẩn bị các ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin người bệnh và tên của thuốc thử kháng globulin đơn giá, 1 ống nghiệm ghi nhãn chứng (control).
- Nhỏ 2 giọt thuốc thử kháng globulin đơn giá vào các ống nghiệm đã ghi nhãn tương ứng.

- Nhỏ 2 giọt nước muối sinh lý vào ống nghiệm ghi nhãn control.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào tất cả các ống nghiệm trên.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm các ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

c/ Phản ứng với kháng globulin

- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào các ống nghiệm trên.
- Ly tâm các ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Với các ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, rồi khi ly tâm, sẽ có ngưng kết; nếu vẫn âm tính thì phải xét nghiệm lại.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng thể và thành phần bổ thể cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm.

+ Nếu có phản ứng ngưng kết: Phản ứng ngưng kết với thuốc thử kháng globulin đơn giá nào chứng tỏ trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm cảm nhiễm với kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể loại đó. Ví dụ: Nếu hồng cầu bệnh phẩm cho phản ứng ngưng kết với anti-IgG, chứng tỏ kháng thể trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm có bản chất là IgG.

+ Lưu ý: Chứng control phải không ngưng kết, nếu chứng control cho phản ứng ngưng kết thì kết quả xét nghiệm không được công nhận.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng theo quy định (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng sản xuất.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.6. Direct Antiglobulin Test (DAT), 760 – 761.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 1.8. Reading and grading tube agglutination, 728 – 729.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

113. XÁC ĐỊNH BẢN CHẤT KHÁNG THỂ KHÁNG HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định bản chất của kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của người bệnh hoặc người hiến máu; sử dụng kĩ thuật ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng thuốc thử kháng globulin đơn giá (huyết thanh Coombs đơn giá) để xác định sự có mặt của kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể trên bề mặt hồng cầu thông qua phát hiện ngưng kết trên cột gel.

Nguyên lý của xét nghiệm: Cột gel chứa các hạt gel nhỏ được sắp xếp xen kẽ tạo ra những khoảng trống chỉ đủ cho hồng cầu tự do đi qua, nếu hồng cầu bị ngưng kết thì các đám ngưng kết bị giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel. Kết quả được đọc bằng máy do vậy kỹ thuật này làm tăng độ nhạy đảm bảo tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard chứa các loại thuốc thử kháng globulin đơn giá (anti-IgG, anti-C3d,...).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.

- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ủ gelcard.
- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, máu không bị đông, không bị tan máu.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a/ Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa; pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.

b/ Cho hồng cầu tiếp xúc kháng huyết thanh

- Ghi thông tin bệnh phẩm lên tấm gelcard.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào 6 cột gel trên tấm gelcard (bao gồm cả cột control).

- Ủ tấm gelcard ở 37ºC trong vòng 15 phút bằng máy ủ chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng.

c/ Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm.

+ Nếu có phản ứng ngưng kết: Hồng cầu bệnh phẩm cho phản ứng ngưng kết với loại thuốc thử kháng globulin đơn giá nào chứng tỏ trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm cảm nhiễm với kháng thể và/ hoặc thành phần bổ thể loại đó. Ví dụ: Nếu hồng cầu bệnh phẩm cho phản ứng ngưng kết với anti-IgG, chứng tỏ kháng thể trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm có bản chất là IgG.

+ Lưu ý: Chứng control phải không ngưng kết, nếu chứng control cho phản ứng ngưng kết thì kết quả xét nghiệm không được công nhận.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Nhiễm chéo mẫu từ cột gel này sang cột gel khác.

Xử trí: Mở tấm phủ lên cột gel đúng cách, thay đầu côn khi nhỏ mẫu huyết thanh vào mỗi giếng gelcard.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng sản xuất.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.6. Direct Antiglobulin Test (DAT), 760 – 761.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

114. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ MIỄN DỊCH CHỐNG KHÁNG NGUYÊN HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ kháng thể miễn dịch chống kháng nguyên hồng cầu trong huyết thanh của người bệnh/ sản phụ với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng đọc bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hiệu kháng thể miễn dịch là một phương pháp bán định lượng để xác định nồng độ kháng thể miễn dịch trong huyết thanh. Huyết thanh được pha loãng theo tỷ lệ 1:2, 1:4, 1:8 … sau đó cho phản ứng với hồng cầu mang kháng nguyên tương ứng với kháng thể cần hiệu giá ở điều kiện có kháng globulin người. Nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng ngưng kết với hồng cầu được gọi là hiệu giá kháng thể. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Hồng cầu mang kháng nguyên tương ứng với kháng thể cần hiệu giá (tốt nhất là hồng cầu mang kháng nguyên ở trạng thái đồng hợp tử).
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.

- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 01 ống máu tĩnh mạch không chống đông, thể tích 3-5 ml không bị tan máu.
- Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin của bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a/ Pha hồng cầu 5%

- Rửa hồng cầu mẫu 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu 5% bằng nước muối sinh lý.

b/ Pha loãng huyết thanh của bệnh phẩm

- Chuẩn bị 11 ống nghiệm, ghi thông tin người bệnh và tỉ lệ pha loãng: 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 lên ống nghiệm.
- Nhỏ 1.000 µl dung dịch nước muối sinh lý vào 10 ống nghiệm đã ghi nhãn từ 1:2 đến 1:1024.

- Nhỏ 1.000 µl huyết thanh vào ống nghiệm 1 và ống1:2.

- Trộn đều ống 1:2 và hút 1.000 µl huyết thanh đã pha ở ống này cho vào ống nghiệm pha loãng 1:4.

- Trộn đều ống 1:4 và hút 1.000 µl cho vào ống nghiệm pha loãng 1:8.

- Tiếp tục pha loãng huyết thanh tương tự như trên cho đến ống nghiệm cuối cùng (1:1024).

c/ Cho huyết thanh pha loãng phản ứng với hồng cầu

- Chuẩn bị 11 ống nghiệm sạch, khô, ghi nhãn 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 và thông tin người bệnh để làm xét nghiệm.

- Lấy 2 giọt huyết thanh từ các ống nghiệm đã pha loãng nhỏ vào các ống nghiệm đã ghi tỷ lệ pha loãng tương ứng.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% vào các ống nghiệm trên.

- Ủ các ống nghiệm trên ở 37ºC trong 30 - 45 phút (nếu nhỏ 2 giọt dung dịch đệm LISS trước ủ thì chỉ ủ trong vòng 15 phút).

d/ Phản ứng với huyết thanh Coombs

- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm trên 3 lần bằng nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào các ống nghiệm trên.

- Ly tâm các ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Với các ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, rồi khi ly tâm, sẽ có ngưng kết; nếu vẫn âm tính thì phải xét nghiệm lại.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Âm tính: Huyết thanh người bệnh không cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu ở tất cả các độ pha loãng.

+ Dương tính: Huyết thanh người bệnh cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu. Hiệu giá kháng thể là nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng với hồng cầu. Ví dụ: huyết thanh pha loãng 1:16 là mức pha loãng cao nhất có ngưng kết với hồng cầu thì hiệu giá kháng thể là 16.

Lưu ý:

- Nếu huyết thanh pha loãng đến tỷ lệ 1:1024 vẫn ngưng kết với hồng cầu thì tiếp tục pha loãng huyết thanh đến tỷ lệ 1:2048, 1:4096 … để làm xét nghiệm.

- Trong trường hợp hiệu giá kháng thể chống A hoặc chống B miễn dịch, cần khử hết kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B trong huyết thanh trước khi tiến hành xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu.

Xử trí : Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng theo (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.7. Antibody titration, 761 – 764.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 1.8. Reading and grading tube agglutination, 728 – 729.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

115. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ MIỄN DỊCH CHỐNG KHÁNG NGUYÊN HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ kháng thể miễn dịch chống kháng nguyên hồng cầu trong huyết thanh của người bệnh/ sản phụ dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hiệu kháng thể miễn dịch là một phương pháp bán định lượng để xác định nồng độ kháng thể miễn dịch trong huyết thanh. Huyết thanh được pha loãng theo tỷ lệ 1:2, 1:4, 1:8 … sau đó cho phản ứng với hồng cầu mang kháng nguyên tương ứng với kháng thể cần hiệu giá ở điều kiện có kháng globulin người. Nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng ngưng kết với hồng cầu được gọi là hiệu giá kháng thể.

Cho hồng cầu và huyết thanh phản ứng trên bề mặt cột gel, rồi ly tâm; cột gel chứa các hạt nhỏ sắp xếp tạo khe nhỏ chỉ cho hồng cầu tự do đi qua và giữ lại trên bề mặt các đám ngưng kết; hiện tượng ngưng kết được đọc bằng máy nên đảm bảo tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Hồng cầu có kháng nguyên tương ứng với kháng thể cần hiệu giá (tốt nhất là sử dụng hồng cầu mang kháng nguyên ở trạng thái đồng hợp tử).
- Gelcard AHG (gelcard có thuốc thử kháng globulin người).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch tráng kim.
- Dung dịch tráng máy.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 01 ống máu tĩnh mạch không chống đông, thể tích 3-5 ml không bị tan máu.
- Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.

- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

b. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

- Pha hồng cầu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Pha loãng huyết thanh của người bệnh trong dung dịch nước muối sinh lý theo tỉ lệ 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024. Cách thức làm như sau:

+ Chuẩn bị 11 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin người bệnh và tỉ lệ pha loãng của huyết thanh: 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 lên ống nghiệm.

+ Nhỏ 1.000 µl dung dịch nước muối sinh lý vào 10 ống nghiệm đã ghi nhãn từ 1:2 đến 1:1024.

+ Nhỏ 1.000 µl huyết thanh vào ống nghiệm 1 và ống1:2.

+ Trộn đều ống 1:2 và hút 1.000 µl huyết thanh đã pha ở ống này cho vào ống nghiệm pha loãng 1:4.

+ Hút 1.000 µl huyết thanh ở ống nghiệm đã pha loãng theo tỷ lệ 1:4 vào ống nghiệm pha loãng 1:8.

+ Tiếp tục pha loãng huyết thanh tương tự như trên cho đến ống nghiệm cuối cùng (1:1024).

- Ghi thông tin người bệnh và tỉ lệ pha loãng lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% vào các cột gel.
- Lấy 25 µl huyết thanh từ các ống nghiệm đã pha loãng nhỏ vào các cột gel đã ghi tỷ lệ pha loãng tương ứng.
- Ủ các tấm gelcard ở 37ºC trong vòng 15 phút bằng máy ủ chuyên dụng.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Âm tính: Huyết thanh người bệnh không cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu ở tất cả các độ pha loãng.

+ Dương tính: Huyết thanh người bệnh cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu. Hiệu giá kháng thể là nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng với hồng cầu. Ví dụ: huyết thanh pha loãng 1:16

là mức pha loãng cao nhất cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu thì hiệu giá kháng thể là 16.

Lưu ý:

- Nếu huyết thanh pha loãng đến tỷ lệ 1:1024 vẫn cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu thì tiếp tục pha loãng huyết thanh đến tỷ lệ 1:2048, 1:4096 … để làm xét nghiệm.

- Trong trường hợp hiệu giá kháng thể miễn dịch chống A hoặc chống B, cần khử hết kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B trong huyết thanh trước khi tiến hành xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng theo (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.7. Antibody titration, 761 – 764.

Hướng dẫn sử dụng gelcard AHG của hãng Tulip, hãng Grifols và Ortho.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

116. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ TỰ NHIÊN CHỐNG A HOẶC CHỐNG B BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B trong huyết thanh của người bệnh/ sản phụ với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng đọc bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hiệu kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B là một phương pháp bán định lượng để xác định nồng độ kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B trong huyết thanh. Huyết thanh được pha loãng theo tỷ lệ 1:2, 1:4, 1:8 … sau đó cho phản ứng với hồng cầu mang kháng nguyên A hoặc kháng nguyên ở điều kiện nhiệt độ phòng. Nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng ngưng kết với hồng cầu được gọi là hiệu giá kháng thể. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Hồng cầu mẫu A hoặc hồng cầu mẫu B.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 01 ống máu tĩnh mạch không chống đông, thể tích 3-5 ml không bị tan máu.
- Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Pha loãng huyết thanh của người bệnh trong dung dịch nước muối sinh lý theo tỉ lệ 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024. Cách thức làm như sau:

+ Chuẩn bị 11 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin người bệnh và tỉ lệ pha loãng của huyết thanh: 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 lên ống nghiệm.

+ Nhỏ 1.000 µl dung dịch nước muối sinh lý vào 10 ống nghiệm đã ghi nhãn từ 1:2 đến 1:1024.

+ Nhỏ 1.000 µl huyết thanh vào ống nghiệm pha loãng 1:2, trộn đều.

+ Hút 1.000 µl huyết thanh ở ống nghiệm đã pha loãng theo tỷ lệ 1:2 vào ống nghiệm pha loãng 1:4.

+ Hút 1.000 µl huyết thanh ở ống nghiệm đã pha loãng theo tỷ lệ 1:4 vào ống nghiệm pha loãng 1:8.

+ Tiếp tục pha loãng huyết thanh tương tự như trên cho đến ống nghiệm cuối cùng (1:1024).

+ Riêng ống nghiệm ghi nhãn 1 chỉ nhỏ 1.000 µl huyết thanh của người bệnh.

- Chuẩn bị 11 ống nghiệm sạch, khô, ghi nhãn 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 và thông tin người bệnh để làm xét nghiệm.

- Lấy 2 giọt huyết thanh từ các ống nghiệm đã pha loãng nhỏ vào các ống nghiệm đã ghi tỷ lệ pha loãng tương ứng.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% vào các ống nghiệm trên.

- Ủ các ống nghiệm trên ở nhiệt độ phòng trong vòng 5 phút.

- Ly tâm các ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Âm tính: Huyết thanh người bệnh không cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu ở tất cả các độ pha loãng.

+ Dương tính: Huyết thanh người bệnh cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu. Hiệu giá kháng thể là nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng ngưng kết với hồng cầu. Ví dụ: huyết thanh pha loãng 1:16 là mức pha loãng cao nhất cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu thì hiệu giá kháng thể là 16.

Lưu ý:

- Nếu huyết thanh pha loãng đến tỷ lệ 1:1024 vẫn cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu thì tiếp tục pha loãng huyết thanh đến tỷ lệ 1:2048, 1:4096 … để làm xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu.

Xử trí : Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng theo (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.7. Antibody titration, 761 – 764.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 1.8. Reading and grading tube agglutination, 728 – 729.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

117. XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ KHÁNG THỂ TỰ NHIÊN CHỐNG A HOẶC CHỐNG B BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B trong huyết thanh của người bệnh/ sản phụ dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và tính khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hiệu kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B là một phương pháp bán định lượng để xác định nồng độ kháng thể tự nhiên chống A hoặc chống B trong huyết thanh. Huyết thanh được pha loãng theo tỷ lệ 1:2, 1:4, 1:8 … sau đó cho phản ứng với hồng cầu mang kháng nguyên A hoặc kháng nguyên B ở điều kiện nhiệt độ phòng. Nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng ngưng kết với hồng cầu được gọi là hiệu giá kháng thể.

Cho hồng cầu và huyết thanh phản ứng trên bề mặt cột gel, rồi ly tâm; cột gel chứa các hạt nhỏ sắp xếp tạo khe nhỏ chỉ cho hồng cầu tự do đi qua và giữ lại trên bề mặt các đám ngưng kết; hiện tượng ngưng kết được đọc bằng máy nên đảm bảo tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Hồng cầu mẫu A hoặc hồng cầu mẫu B.
- Gelcard neutral.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.

- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 01 ống máu tĩnh mạch không chống đông, thể tích 3-5 ml không bị tan máu.
- Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

b. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

- Pha hồng cầu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Pha loãng huyết thanh của người bệnh trong dung dịch nước muối sinh lý theo tỉ lệ 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024. Cách thức làm như sau:

+ Chuẩn bị 11 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin người bệnh và tỉ lệ pha loãng của huyết thanh: 1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 lên ống nghiệm.

+ Nhỏ 1.000 µl dung dịch nước muối sinh lý vào 10 ống nghiệm đã ghi nhãn từ 1:2 đến 1:1024.

+ Nhỏ 1.000 µl huyết thanh vào ống nghiệm pha loãng 1:2, trộn đều.

+ Hút 1.000 µl huyết thanh ở ống nghiệm đã pha loãng theo tỷ lệ 1:2 vào ống nghiệm pha loãng 1:4.

+ Hút 1.000 µl huyết thanh ở ống nghiệm đã pha loãng theo tỷ lệ 1:4 vào ống nghiệm pha loãng 1:8.

+ Tiếp tục pha loãng huyết thanh tương tự như trên cho đến ống nghiệm cuối cùng (1:1024).

+ Riêng ống nghiệm ghi nhãn 1 chỉ nhỏ 1.000 µl huyết thanh của người bệnh.

- Ghi thông tin người bệnh và tỉ lệ pha loãng lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% vào các cột gel.
- Lấy 25 µl huyết thanh từ các ống nghiệm đã pha loãng nhỏ vào các cột gel đã ghi tỷ lệ pha loãng tương ứng.
- Ủ các tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cốt gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Âm tính: Huyết thanh người bệnh không cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu ở tất cả các độ pha loãng.

+ Dương tính: Huyết thanh người bệnh cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu. Hiệu giá kháng thể là nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất của huyết thanh tạo ra phản ứng 1+ với hồng cầu. Ví dụ: huyết thanh pha loãng

1:16 là mức pha loãng cao nhất cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu thì hiệu giá kháng thể là 16.

Lưu ý:

- Nếu huyết thanh pha loãng đến tỷ lệ 1:1024 vẫn cho phản ứng ngưng kết với hồng cầu thì tiếp tục pha loãng huyết thanh đến tỷ lệ 1:2048, 1:4096 … để làm xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Tan máu

+ Tăng protein bất thường trong máu

+ Fibrin trong mẫu máu

Xử trí: Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm. Đối với mẫu máu tăng protein bất thường cần pha loãng huyết thanh bằng dung dịch nước muối sinh lý đến khi huyết thanh không gây hình ảnh hồng cầu chuỗi tiền. Ly tâm mẫu máu trước khi làm xét nghiệm để làm lắng fibrin.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Nhiễm chéo mẫu từ cột gel này sang cột gel khác.

Xử trí: Mở tấm phủ lên cột gel đúng cách, thay đầu côn khi nhỏ mẫu huyết thanh vào mỗi giếng gelcard.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.7. Antibody titration, 761 – 764.
- Hướng dẫn sử dụng gelcard AHG của một số hãng sản xuất.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

118. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN NHÓM MÁU HỒNG CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC PHÂN TỬ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định kháng nguyên nhóm máu bằng phương pháp sinh học phân tử trong các trường hợp khó xác định được nhóm máu bằng phương pháp huyết thanh học (người bệnh mới truyền máu, mẫu có Coombs trực tiếp dương tính, hoặc bất đồng giữa phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu …)

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên kỹ thuật PCR-SSP (Kỹ thuật PCR với những đoạn mồi có trình tự đặc hiệu với alen): Phản ứng chuỗi polymerase (PCR) cho phép khuếch đại trình tự ADN đã được xác định, sau khi khuếch đại thành công, chuỗi ADN đích được nhân lên với lượng vừa đủ. Những mẫu PCR gắn với đoạn mồi đặc hiệu sẽ được khuếch đại sau phản ứng PCR, trong khi những mẫu không gắn với đoạn mồi đặc hiệu thì sẽ không được khuếch đại sau phản ứng PCR. Việc phát hiện của các sản phẩm PCR được thực hiện bằng cách đo các tín hiệu huỳnh quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Bộ kít để chiết tách AND.
- Bộ kít để xác định kháng nguyên nhóm máu bằng phương pháp PCR-SSP. Một bộ kít trên bao gồm:

+ Ống Fluomix: Gồm dNTPs, PCR buffer và Taq Polymerase.

+ Nước cất (không có huỳnh quang).

+ Miếng dán bảo vệ trong suốt.

+ Phiến PCR 96 giếng (màu trắng, được dán barcode): Mỗi giếng chứa hỗn hợp oligonucleotide được chia nhỏ và đông khô cho phép khuếch đại những gen đích. Mỗi phần của hỗn hợp này bao gồm đoạn mồi và đoạn dò được gắn tín hiệu huỳnh quang khác nhau:

- Một đầu dò đặc hiệu với alen (tín hiệu huỳnh quang 1).
- Một đầu dò đặc hiệu HGH để khuếch đại chứng nội kiểm (tín hiệu huỳnh quang 2).
- Có thể thêm một đầu dò đặc hiệu trong trường hợp nhiều phản ứng (tín hiệu huỳnh quang 3).

- Mẫu nội kiểm (nếu có).

- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm eppendorf 1,5 ml, 2 ml.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn có phin lọc các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy đọc huỳnh quang.
- Phần mềm đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống eppendorf.
- Máy lắc ủ nhiệt.
- Máy vortex.
- Máy OD đo nồng độ ADN chuyên dụng.
- Khay nén để làm xét nghiệm PCR.
- Dụng cụ ấn tấm bảo vệ lên trên mặt khay PCR.
- Máy Thermal cycler.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1,5-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 72 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Tách ADN từ mẫu máu toàn phần của người bệnh:

- Chuẩn bị một ống eppendorf loại 1,5 ml, ghi tên người bệnh lên nắp và thân ống.
- Nhỏ vào ống eppendorf đã chuẩn bị ở trên 200 µl máu toàn phần.
- Thêm vào ống eppendorf trên 50 µl dung dịch elution buffer.
- Thêm 25 µl dung dịch OB protease solution và 250 µl dung dịch BL buffer vào ống eppendorf trên. Trộn mạnh các sinh phẩm trong ống eppendorf bằng máy máy vortex trong vòng 10 giây.
- Ủ ống nghiệm trên ở 65^{o}C, lắc ống với tốc độ 300 vòng/ phút trong vòng 10 phút bằng máy lắc ủ nhiệt.
- Thêm 260 µl cồn 96%, trộn đều trong vòng 10 giây.
- Chuẩn bị cột chiết tách ADN, ghi tên người bệnh lên nắp cột.
- Chuyển toàn bộ dịch trong ống eppendorf lên cột chiết tách ADN.
- Ly tâm cột chiết tách ADN với tốc độ 13.000 vòng/ phút trong vòng 1 phút, chuyển cột chiết tách ADN sang ống eppendorf mới loại 2 ml.
- Thêm 500 µl dung dịch HCB buffer.
- Ly tâm với tốc độ 13.000 vòng/ phút trong 1 phút, loại bỏ dịch qua cột.
- Thêm 700 µl DNA wash buffer.
- Ly tâm cột chiết tách ADN với tốc độ 13.000 vòng/ phút trong vòng 1 phút, loại bỏ dịch qua cột. Chuyển cột chiết tách ADN sang ống eppendorf mới loại 2 ml.
- Ly tâm với tốc độ 14.000 vòng/ phút trong vòng 2 phút.
- Chuẩn bị một ống eppendorf mới, ghi tên người bệnh lên nắp và thành ống. Chuyển cột chiết tách ADN sang ống eppendorf mới đã chuẩn bị ở trên.
- Thêm 100 µl dung dịch elution buffer vào ống eppendorf trên, ủ ống eppendorf trên ở nhiệt độ phòng trong vòng 5 phút.
- Ly tâm ống eppendorf với tốc độ 14.000 vòng/ phút trong 1 phút.
- Dung dịch thu được là ADN.

4.1.3. Đo nồng độ và độ tinh sạch ADN:

- Bật máy đo OD chuyên dụng.
- Chọn chương trình đo ADN.
- Pha loãng ADN theo tỷ lệ 1: 20 với thể tích 100 µl.
- Chuẩn máy về blank sử dụng dung dịch nước cất.
- Nhập tỷ lệ pha loãng vào máy.
- Cho mẫu vào máy đo. Máy OD sẽ hiển thị các thông số: nồng độ của mẫu (µg/ml), tỷ lệ pha loãng, độ tinh sạch mẫu thông qua tỷ lệ A260/A280 (mẫu đạt tiêu chuẩn tinh sạch khi tỷ lệ A260/A280 ở trong giới hạn từ 1,7 đến 2).
- In kết quả sau khi kết thúc và tắt máy.

4.1.4. Phản ứng PCR:

- Rã đông khay PCR, dung dịch fluoMix và mẫu ADN.
- Trước khi bóc tấm bảo vệ phủ lên phiến PCR, kiểm tra về số lô và hạn sử dụng của bộ kít.
- Trước khi thêm ADN, lắc đều FluoMix và nhỏ 7,5 µl vào giếng chứa chứng âm và chứng dương.
- Thêm 7,5 µl nước cất (không có huỳnh quang) vào giếng chứa chứng âm.
- Sau đó, thêm ADN pha loãng (nồng độ 1 ng/µl ± 50%) vào ống FluoMix còn lại, lắc trộn kỹ và nhỏ 15 µl vào các giếng phản ứng hoặc có thể nhỏ trực tiếp ADN vào ống FluoMix và pha loãng với nước để được thể tích cuối cùng.
- Phủ phiến PCR bằng tấm bảo vệ trong suốt, tránh dấu vân tay và làm bẩn tấm bảo vệ.
- Gõ nhẹ khay PCR để đảm bảo tất cả dung dịch rơi xuống đáy của giếng phản ứng, tránh để dung dịch bắn và dính vào tấm bảo vệ trong suốt quá trình thao tác.
- Việc đọc trước phản ứng phải được thực hiện trong vòng 15 phút sau khi thiết lập phản ứng PCR. Chuyển phiến vào máy đọc huỳnh quang và thực hiện việc đọc trước phản ứng.
- Chuyển khay PCR vào máy Thermalcycler, đậy lại bằng một miếng đệm nén sạch và khởi động chương trình PCR.

4.1.5. Đọc huỳnh quang:

Đo huỳnh quang điểm cuối thực hiện trên máy đọc huỳnh quang. Đảm bảo hơi nước không đọng trên tấm bảo vệ và việc đọc kết quả cần thực hiện trong vòng 15 phút sau chu trình nhiệt.

4.1.6. Tính toán số liệu: Được thực hiện tự động bằng phần mềm đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả:

- Phản ứng dương tính: Có sản phẩm PCR, phát tín hiệu huỳnh quang và được phát hiện bằng máy đọc huỳnh quang: Có kháng nguyên cần xác định trên hồng cầu.
- Phản ứng âm tính: Không có sản phẩm PCR, không phát tín hiệu huỳnh quang: Không có kháng nguyên cần xác định trên hồng cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

119. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN H BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và tính khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng nguyên H là chất tiền thân của kháng nguyên A và kháng nguyên B. Trên bề mặt hồng cầu của người bình thường lượng kháng nguyên H khác nhau giữa các nhóm (sắp xếp theo thứ tự lượng kháng nguyên H giảm dần: O > A_2 > B > A_2B > A_1 > A_1B). Nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên H thì được gọi là nhóm máu Bombay và trong huyết thanh có kháng thể tự nhiên chống H.

Kỹ thuật xác định kháng nguyên H được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết cột gel. Sử dụng thuốc thử là anti-H để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên H thì anti-H sẽ gây ngưng kết với hồng cầu, các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel. Nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên H thì anti-H sẽ không gây ngưng kết với hồng cầu, hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Do vậy, kỹ thuật ngưng kết cột gel làm tăng độ nhạy của xét nghiệm. Ngoài ra, hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả nên tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-H.
- Gelcard neutral.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.

- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.
+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard.
- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% vào cột gel.
- Thêm 50 µl anti-H vào cột gel.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-H của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

120. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN H BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng đọc bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng nguyên H là chất tiền thân của kháng nguyên A và kháng nguyên B. Trên bề mặt hồng cầu của người bình thường lượng kháng nguyên H khác nhau giữa các nhóm (sắp xếp theo thứ tự lượng kháng nguyên H giảm dần: O > A_2 > B > A_2B > A_1 > A_1B). Nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên H thì được gọi là nhóm máu Bombay và trong huyết thanh có kháng thể tự nhiên chống H.

Kỹ thuật xác định kháng nguyên H được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Sử dụng thuốc thử là anti-H để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên H thì anti-H sẽ gây ngưng kết với hồng cầu, nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên H thì anti-H sẽ không gây ngưng kết với hồng cầu. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-H.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.

- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm …

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-H vào ống nghiệm.
- Ủ ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên H trên bề mặt hồng cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu,...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-H của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

121. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN D YẾU CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên D yếu trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và tính khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Rh(D) yếu (D^u): Số lượng kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu D^u ít hơn so với hồng cầu cầu Rh(D) dương bình thường, hồng cầu không cho phản ứng ngưng kết với anti-D IgM ở nhiệt độ phòng xét nghiệm, môi trường nước muối sinh lý mà chỉ cho phản ứng ngưng kết với anti-D IgG ở nhiệt độ 37^{o}C và có sử dụng kháng globulin người.

Kỹ thuật xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết cột gel. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên D, anti-D IgG sẽ gắn với kháng nguyên D nhưng không tạo thành hiện tượng ngưng kết (hiện tượng cảm nhiễm), thuốc thử kháng globulin người sẽ làm "cầu nối" để nối các hồng cầu đã gắn anti-D IgG và tạo thành hiện tượng ngưng kết. Các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel. Ngược lại, nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên D, sẽ không có hiện tượng ngưng kết, hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Do vậy, kỹ thuật ngưng kết cột gel làm tăng độ nhạy của xét nghiệm. Ngoài ra, hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả nên tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-D IgG hoặc anti-D IgM/ IgG.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).

- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy ủ gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.
- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.
- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.
- Thêm 50 µl anti-D loại IgG vào giếng gelcard.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do nằm ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do nằm ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Nhóm máu Rh(D) yếu.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Nhóm máu Rh(D) âm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.9. Test for Weak D, 741 – 743.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

122. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN D YẾU CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên D yếu trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng đọc bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Rh(D) yếu (D^u): Số lượng kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu D^u ít hơn so với hồng cầu cầu Rh(D) dương bình thường, hồng cầu không cho phản ứng ngưng kết với anti-D IgM ở nhiệt độ phòng xét nghiệm, môi trường nước muối sinh lý mà chỉ cho phản ứng ngưng kết với anti-D IgG ở nhiệt độ 37^{o}C và có sử dụng kháng globulin người.

Kỹ thuật xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên D, anti-D IgG sẽ gắn với kháng nguyên D nhưng không tạo thành hiện tượng ngưng kết (hiện tượng cảm nhiễm), thuốc thử kháng globulin người sẽ làm "cầu nối" để nối các hồng cầu đã gắn anti-D IgG và tạo thành hiện tượng ngưng kết. Ngược lại, nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên D, sẽ không có hiện tượng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm…

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-D IgG hoặc anti-D IgG/IgM.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên D yếu

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 1 giọt anti-D loại IgG vào ống nghiệm.

- Ủ ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

- Ly tâm các ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu có phản ứng ngưng kết thì dừng xét nghiệm và kết luận: Nhóm máu Rh(D) yếu.

- Nếu không ngưng kết, tiến hành làm các bước xét nghiệm tiếp theo như sau:

+ Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

+ Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.

+ Ly tâm các ống nghiệm.

+ Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Với các ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, rồi khi ly tâm, sẽ có ngưng kết; nếu vẫn âm tính thì phải xét nghiệm lại.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu, kết nhóm: Nhóm máu Rh(D) yếu

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Nhóm máu Rh(D) âm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 2.9. Test for Weak D, 741 – 743.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

123. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN A_1 BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và tính khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kỹ thuật xác định kháng nguyên A_1 được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết cột gel. Sử dụng thuốc thử là anti- A_1 để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên A_1 thì anti- A_1 sẽ gây ngưng kết với hồng cầu, các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel. Nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên A_1 thì anti- A_1 sẽ không gây ngưng kết với hồng cầu, hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Do vậy, kỹ thuật ngưng kết cột gel làm tăng độ nhạy của xét nghiệm. Ngoài ra, hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả nên tăng tính khách quan của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-A_1.
- Gelcard neutral.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.

- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard.
- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% vào cột gel.
- Thêm 50 µl anti- A_1 vào cột gel.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).

- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

124. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN A_1 BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến với phương pháp phát hiện ngưng kết bằng đọc bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kỹ thuật xác định kháng nguyên A_1 được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Sử dụng thuốc thử là anti- A_1 để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu. Nếu trên bề mặt hồng cầu có kháng nguyên A_1 thì anti- A_1 sẽ gây ngưng kết với hồng cầu, nếu trên bề mặt hồng cầu không có kháng nguyên A_1 thì anti- A_1 sẽ không gây ngưng kết với hồng cầu. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-A_1.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-A_1 vào ống nghiệm.
- Ủ ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên A_1 trên bề mặt hồng cầu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm không ổn định (vận tốc không đảm bảo, thời gian ly tâm không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

125. XÉT NGHIỆM LỰA CHỌN ĐƠN VỊ MÁU PHÙ HỢP BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL TRONG TRƯỜNG HỢP KHÔNG CẤP PHÁT ĐƯỢC BẰNG QUY TRÌNH THÔNG THƯỜNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Lựa chọn đơn vị máu hòa hợp về mặt miễn dịch cho người bệnh dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm, thích hợp cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết cột gel. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard neutral.
- Gelcard AHG (gelcard có thuốc thử kháng globulin người).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.

- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Khay pha loãng.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch của người bệnh:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

+ Mẫu máu của 10 đơn vị khối hồng cầu phù hợp nhóm máu hệ ABO, Rh(D) với người bệnh.

- Tiêu chuẩn mẫu của người bệnh:

+ Ống chống đông EDTA: thể tích 1-2ml, không bị đông dây hoặc tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

- Tiêu chuẩn mẫu của 10 đơn vị khối hồng cầu:

+ Thể tích 0,5 - 1 ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị khối hồng cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.
- Chuẩn bị 10 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị khối hồng cầu hoặc dán barcode đơn vị khối hồng cầu lên ống nghiệm.
- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị khối hồng cầu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.
- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.2.2. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

- Pha hồng cầu người cho 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Lựa chọn đơn vị máu phù hợp ở điều kiện nhiệt độ phòng:

+ Ghi thông tin của người bệnh và các đơn vị máu lên tấm gelcard neutral.

+ Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel.

+ Nhỏ lần lượt 50 µl hồng cầu 1% của các đơn vị khối hồng cầu đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard đã ghi thông tin đơn vị máu.

+ Thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm vào các giếng gelcard trên.

+ Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.

+ Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng trong vòng 10 phút.

+ Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Lựa chọn đơn vị máu phù hợp ở điều kiện điều kiện 37^0C và kháng globulin người

+ Ghi thông tin của người bệnh và các đơn vị máu lên tấm gelcard AHG.

+ Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel.

+ Nhỏ lần lượt 50 µl hồng cầu 1% của các đơn vị khối hồng cầu đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard đã ghi thông tin đơn vị máu.

+ Thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm vào các giếng gelcard trên.

+ Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^oC trong vòng 15 phút.

+ Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng trong vòng 10 phút.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Chọn được đơn vị máu hòa hợp: Khi kết quả xét nghiệm giữa huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu của đơn vị máu âm tính ở tất cả các điều kiện (22^{o}C, 37^{o}C và kháng globulin người).

+ Không chọn được đơn vị máu hòa hợp: Khi kết quả phản ứng hòa hợp giữa huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu của 10 đơn vị máu đều dương tính ở một hoặc bất cứ điều kiện xét nghiệm nào.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

Trường hợp không chọn được đơn vị máu hòa hợp: Thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để bác sĩ điều trị xem xét, chỉ định các xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường và lựa chọn đơn vị máu hòa hợp lần 2, lần 3 … hoặc quyết định áp dụng biện pháp điều trị thích hợp cho người bệnh.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc bị khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005).

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (Tái bản lần 2), Nhà xuất bản y học năm 2013.

126. XÉT NGHIỆM LỰA CHỌN ĐƠN VỊ MÁU PHÙ HỢP BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM TRONG TRƯỜNG HỢP KHÔNG CẤP PHÁT ĐƯỢC BẰNG QUY TRÌNH THÔNG THƯỜNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Lựa chọn đơn vị máu hòa hợp về mặt miễn dịch cho người bệnh dựa trên đọc phản ứng ngưng kết chỉ bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Nếu trong huyết thanh của người bệnh có kháng thể tương ứng với kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của người cho thì sẽ tạo thành hiện tượng ngưng kết và ngược lại. Hiện tượng ngưng kết/không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch của người bệnh:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

+ Mẫu máu của 10 đơn vị khối hồng cầu phù hợp nhóm máu hệ ABO, Rh(D) với người bệnh.

- Tiêu chuẩn mẫu của người bệnh:

+ Ống chống đông EDTA: thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

- Tiêu chuẩn mẫu của 10 đơn vị khối hồng cầu:

+ Thể tích 0,5 - 1 ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị khối hồng cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm 02 ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

- Chuẩn bị 10 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị khối hồng cầu hoặc dán barcode đơn vị khối hồng cầu lên ống nghiệm.

- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị khối hồng cầu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.

- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu người cho 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.

- Lựa chọn đơn vị máu phù hợp ở điều kiện nhiệt độ phòng:

+ Chuẩn bị 10 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin của người bệnh và các đơn vị máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ lần lượt 1 giọt hồng cầu 5% của các đơn vị khối hồng cầu đã chuẩn bị ở trên vào các ống nghiệm đã ghi thông tin đơn vị máu.

+ Thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào các ống nghiệm trên.

+ Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 5 phút.

+ Ly tâm các ống nghiệm.

+ Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Lựa chọn đơn vị máu phù hợp ở điều kiện điều kiện 37^0C và kháng globulin người

+ Chuẩn bị 10 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin của người bệnh và các đơn vị máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ lần lượt 1 giọt hồng cầu 5% của các đơn vị khối hồng cầu đã chuẩn bị ở trên vào các ống nghiệm đã ghi thông tin đơn vị máu.

+ Thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào các ống nghiệm trên.

+ Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^oC trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

+ Ly tâm các ống nghiệm.

+ Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

+ Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

+ Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào các ống nghiệm trên.

+ Ly tâm các ống nghiệm.

+ Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

+ Với những ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, các ống nghiệm phải cho phản ứng ngưng kết, những ống nghiệm nào sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Chọn được đơn vị máu hòa hợp: Khi kết quả xét nghiệm giữa huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu của đơn vị máu âm tính ở tất cả các điều kiện (22^oC, 37^oC và kháng globulin người).

+ Không chọn được đơn vị máu hòa hợp: Khi kết quả phản ứng hòa hợp giữa huyết thanh bệnh phẩm với hồng cầu của 10 đơn vị máu đều dương tính/ tan máu ở một hoặc bất cứ điều kiện xét nghiệm nào.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

Trường hợp không chọn được đơn vị máu hòa hợp: Thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để bác sĩ điều trị xem xét, chỉ định các xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường và lựa chọn đơn vị máu hòa hợp lần 2, lần 3 … hoặc quyết định áp dụng biện pháp điều trị thích hợp cho người bệnh.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005).

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (Tái bản lần 2), Nhà xuất bản y học năm 2013.

127. XÉT NGHIỆM COOMBS GIÁN TIẾP BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự tồn tại của kháng thể và các thành phần bổ thể (C3b, C3d...) lưu hành trong huyết thanh của người bệnh/ người hiến máu dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa trên phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Sử dụng thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch và các thành phần bổ thể (C3b, C3d…) lưu hành trong huyết thanh của người bệnh. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa thuốc thử kháng globulin người với hồng cầu O đã cảm nhiễm kháng thể/ thành phần bổ thể trong huyết thanh người bệnh thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard AHG đa giá.
- Hồng cầu O.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch tráng kim.
- Dung dịch tráng máy.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Khay pha loãng.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch không chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Pha hồng cầu O 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.2.2. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

- Pha hồng cầu O 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin của người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu O 1% vào cột gel.
- Thêm 25 µl huyết thanh của người bệnh.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng trong vòng 10 phút.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs gián tiếp dương tính.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs gián tiếp âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.2. Indirect Antiglobulin Test (IAT) for the detection of antibodies to red cell antigens, 752 – 754.

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

128. XÉT NGHIỆM COOMBS GIÁN TIẾP BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự tồn tại của kháng thể và các thành phần bổ thể (C3b, C3d...) lưu hành trong huyết thanh của người bệnh/ người hiến máu dựa trên đọc phản ứng ngưng kết chỉ bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa trên phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Sử dụng thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch và các thành phần bổ thể (C3b, C3d…) lưu hành trong huyết thanh của người bệnh. Nếu trong huyết thanh người bệnh có kháng thể/thành phần bổ thể tương ứng với kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu O, kháng thể/thành phần bổ thể sẽ cảm nhiễm lên bề bặt hồng cầu O, với sự có mặt của thuốc thử kháng globulin người sẽ tạo thành hiện tượng ngưng kết và ngược lại. Hiện tượng ngưng kết/không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu O.
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.

- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch không chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Rửa hồng cầu O ba lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu O 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Ghi thông tin của người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu O 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào ống nghiệm.

- Ủ ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng vào ống nghiệm. Sau khi ly tâm, ống nghiệm phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs gián tiếp dương tính.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs gián tiếp âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.2. Indirect Antiglobulin Test (IAT) for the detection of antibodies to red cell antigens, 752 – 754.

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

129. XÉT NGHIỆM COOMBS TRỰC TIẾP BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự tồn tại của kháng thể và các thành phần bổ thể (C3b, C3d...) cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người hiến máu dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa trên phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Sử dụng thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch và các thành phần bổ thể (C3b, C3d…) cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của người bệnh. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa thuốc thử kháng globulin người với hồng cầu bệnh phẩm đã cảm nhiễm kháng thể/ thành phần bổ thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard AHG đa giá.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Dung dịch tráng kim.
- Dung dịch tráng máy.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Khay pha loãng.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.
- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.2.2. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi thông tin của người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% của người bệnh vào cột gel.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng trong vòng 10 phút.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs trực tiếp dương tính.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs trực tiếp âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng Tulip.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.6. Direct Antiglobulin Test (DAT), 760 – 761.

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

130. XÉT NGHIỆM COOMBS TRỰC TIẾP BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự tồn tại của kháng thể và các thành phần bổ thể (C3b, C3d...) cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người hiến máu dựa trên đọc phản ứng ngưng kết chỉ bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa trên phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Sử dụng thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch và các thành phần bổ thể (C3b, C3d…) cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của người bệnh. Nếu trên bề mặt hồng cầu bệnh phẩm đã cảm nhiễm kháng thể/ thành phần bổ thể, với sự có mặt của thuốc thử kháng globulin người sẽ tạo thành hiện tượng ngưng kết và ngược lại. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.

- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Ghi thông tin của người bệnh lên ống nghiệm là xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% của người bệnh vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng vào ống nghiệm. Sau khi ly tâm, ống nghiệm phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs trực tiếp dương tính.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Nghiệm pháp Coombs trực tiếp âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005), Method 3.6. Direct Antiglobulin Test (DAT), 760 – 761.

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

131. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH MÔI TRƯỜNG NƯỚC MUỐI SINH LÝ, NHIỆT ĐỘ DƯỚI 10ºC BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp của các hệ thống nhóm máu mà kháng thể thích hợp hoạt động ở nhiệt độ dưới 10ºC giữa người bệnh và đơn vị chế phẩm máu của người cho dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa vào phản ứng ngưng kết trực tiếp giữa kháng nguyên và kháng thể loại IgM. Nếu có hiện tượng ngưng kết kháng nguyên – kháng thể sẽ quan sát được bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Kéo.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.

- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh 2-8^{o}C.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm

+ Người bệnh: Máu tĩnh mạch:

✓ 01 ống chống đông EDTA

✓ 01 ống không có chất chống đông.

+ Người cho máu:

✓ Máu tĩnh mạch từ dây máu với các chế phẩm máu là khối hồng cầu, khối bạch cầu, máu toàn phần

✓ Huyết tương từ dây máu với các chế phẩm máu là huyết tương, tiểu cầu, tủa lạnh và máu toàn phần

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu người bệnh

✓ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

✓ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

✓ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

+ Mẫu người cho máu:

✓ Thể tích 0,5 – 1 ml.

✓ Máu không bị đông dây, tan máu.

✓ Mẫu huyết tương không bị tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Mẫu của người bệnh:

+ Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

+ Ly tâm các ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

- Mẫu của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin hoặc dán barcode của đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Lấy 1-2 đoạn đây của đơn vị chế phẩm máu, dùng kéo cắt chế phẩm máu vào ống nghiệm.

+ Ly tâm các ống máu để lắng hồng cầu hoặc fibrin.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi người bệnh có chỉ định truyền máu toàn phần, khối bạch cầu (thực hiện cả xét nghiệm hòa hợp ống 1 và ống 2)

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Pha hồng cầu 5% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

+ Chuẩn bị 02 ống nghiệm sạch, khô, đánh số 1, 2 và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ mẫu:

+ Ống 1: Nhỏ 02 giọt huyết thanh bệnh phẩm và 01 giọt hồng cầu của đơn vị chế phẩm máu đã pha loãng 5%.

+ Ống 2: Nhỏ 02 giọt huyết tương của đơn vị máu và 01 giọt hồng cầu bệnh phẩm đã pha loãng 5%.

- Ủ các ống nghiệm ở tủ lạnh dưới 10^oC trong vòng 30-45 phút.

- Ly tâm các ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

b. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi người bệnh có chỉ định truyền khối hồng cầu (thực hiện xét nghiệm hòa hợp ống 1)

- Pha hồng cầu 5% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô, đánh số 1 và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ 02 giọt huyết thanh bệnh phẩm và 01 giọt hồng cầu của đơn vị chế phẩm máu đã pha loãng 5%.

- Ủ các ống nghiệm ở tủ lạnh dưới 10^oC trong vòng 15 – 30 phút.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

c. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi người bệnh có chỉ định truyền chế phẩm huyết tương/ tiểu cầu/ tủa lạnh (thực hiện xét nghiệm hòa hợp ống 2)

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch khô, đánh số 2 và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ 02 giọt huyết tương của đơn vị chế phẩm máu và 01 giọt hồng cầu bệnh phẩm đã pha loãng 5%.

- Ủ các ống nghiệm ở tủ lạnh dưới 10^oC trong vòng 30-45 phút.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Không hòa hợp.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Hòa hợp.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005).

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

132. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH MÔI TRƯỜNG NƯỚC MUỐI SINH LÝ, NHIỆT ĐỘ PHÒNG BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp của các hệ thống nhóm máu mà kháng thể thích hợp hoạt động ở nhiệt độ phòng giữa người bệnh và đơn vị chế phẩm máu của người cho dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường và kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa vào phản ứng ngưng kết trực tiếp giữa kháng nguyên và kháng thể loại IgM. Nếu có hiện tượng ngưng kết kháng nguyên – kháng thể sẽ quan sát được bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Kéo.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.

- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh 2-8^{o}C.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm

+ Người bệnh: Máu tĩnh mạch:

✓ 01 ống chống đông EDTA

✓ 01 ống không có chất chống đông.

+ Người cho máu:

✓ Máu tĩnh mạch từ dây máu với các chế phẩm máu là khối hồng cầu, khối bạch cầu, máu toàn phần

✓ Huyết tương từ dây máu với các chế phẩm máu là huyết tương, tiểu cầu, tủa lạnh và máu toàn phần

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu người bệnh

✓ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

✓ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

✓ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

+ Mẫu người cho máu:

✓ Thể tích 0,5 – 1 ml.

✓ Máu không bị đông dây, tan máu.

✓ Mẫu huyết tương không bị tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Mẫu của người bệnh:

+ Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

+ Ly tâm các ống máu để tách huyết thanh và huyết tương.

- Mẫu của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin hoặc dán barcode của đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Lấy 1-2 đoạn đây của đơn vị chế phẩm máu, dùng kéo cắt chế phẩm máu vào ống nghiệm.

+ Ly tâm các ống máu để lắng hồng cầu hoặc fibrin.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

a. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi truyền máu toàn phần, khối bạch cầu (thực hiện cả xét nghiệm hòa hợp ống 1 và ống 2)

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Ghi thông tin người bệnh lên 01 ống nghiệm sạch, khô.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Pha hồng cầu 5% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên 01 ống nghiệm sạch, khô.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

+ Chuẩn bị 02 ống nghiệm sạch, khô, đánh số 1, 2 và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ mẫu:

+ Ống 1: Nhỏ 02 giọt huyết thanh bệnh phẩm và 01 giọt hồng cầu của đơn vị chế phẩm máu đã pha loãng 5%.

+ Ống 2: Nhỏ 02 giọt huyết tương của đơn vị máu và 01 giọt hồng cầu bệnh phẩm đã pha loãng 5%.

- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.

- Ly tâm các ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

b. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi truyền khối hồng cầu (thực hiện xét nghiệm hòa hợp ống 1)

- Pha hồng cầu 5% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Chuẩn bị 01 ống nghiệm sach, khô, đánh số 1 và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ 02 giọt huyết thanh bệnh phẩm và 01 giọt hồng cầu của đơn vị chế phẩm máu đã pha loãng 5%.

- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

c. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi truyền chế phẩm huyết tương/ tiểu cầu/ tủa lạnh (thực hiện xét nghiệm hòa hợp ống 2)

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch nước muối sinh lý.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch khô, đánh số 2 và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ 02 giọt huyết tương của đơn vị chế phẩm máu và 01 giọt hồng cầu bệnh phẩm đã pha loãng 5%.

- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Không hòa hợp.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Hòa hợp.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

Nếu kết quả không hòa hợp, thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để thực hiện các xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường và lựa chọn đơn vị máu phù hợp ngoài hệ ABO, Rh(D) (đây là trường hợp không cấp phát được bằng quy trình thông thường).

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

AABB Technical Manual 15th Edition (2005).

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

133. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH MÔI TRƯỜNG NƯỚC MUỐI SINH LÝ, NHIỆT ĐỘ PHÒNG BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp của các hệ thống nhóm máu mà kháng thể thích hợp hoạt động ở nhiệt độ phòng giữa người bệnh và đơn vị chế phẩm máu của người cho dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm, thích hợp cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm dựa vào phản ứng ngưng kết trực tiếp giữa kháng nguyên và kháng thể loại IgM. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Kéo.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard neutral,
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch tráng kim.
- Dung dịch tráng máy.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch rửa
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.

- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Khay pha loãng.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm

+ Người bệnh: Máu tĩnh mạch:

✓ 01 ống chống đông EDTA

✓ 01 ống không có chất chống đông.

+ Người cho máu:

✓ Máu tĩnh mạch từ dây máu với các chế phẩm máu là khối hồng cầu, khối bạch cầu, máu toàn phần

✓ Huyết tương từ dây máu với các chế phẩm máu là huyết tương, tiểu cầu, tủa lạnh và máu toàn phần

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu người bệnh

✓ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

✓ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

✓ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

+ Mẫu người cho máu:

✓ Thể tích 0,5 – 1 ml.

✓ Máu không bị đông dây, tan máu.

✓ Mẫu huyết tương không bị tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.

- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Mẫu của người bệnh:

+ Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

+ Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

- Mẫu của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin hoặc dán barcode của đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Lấy 1-2 đoạn đây của đơn vị chế phẩm máu, dùng kéo cắt chế phẩm máu vào ống nghiệm.

+ Nếu mẫu người cho là huyết tương: Ly tâm ống máu để lắng fibrin.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.

- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.

- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.2.2. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

a. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi truyền máu toàn phần, khối bạch cầu (thực hiện cả xét nghiệm hòa hợp ống 1 và ống 2)

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Pha hồng cầu 1% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh, đánh số 1 và 2 lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ mẫu:

+ Cột gel đánh số 1: Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% của đơn vị chế phẩm máu và 25 µl huyết thanh bệnh phẩm.

+ Cột gel đánh số 2: Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% và 25 µl huyết tương của đơn vị chế phẩm máu.

- Ủ tấm gelcard trong vòng 15 phút ở nhiệt độ phòng xét nghiệm.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng trong vòng 10 phút.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

b. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi truyền khối hồng cầu (thực hiện xét nghiệm hòa hợp ống 1)

- Pha hồng cầu 1% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% của đơn vị chế phẩm máu vào giếng gelcard
- Thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm vào giếng gelcard.
- Ủ tấm gelcard trong vòng 15 phút ở nhiệt độ phòng xét nghiệm.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng trong vòng 10 phút.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

c. Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi truyền chế phẩm huyết tương/ tiểu cầu/ tủa lạnh (thực hiện xét nghiệm hòa hợp ống 2)

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.
- Thêm 25 µl huyết tương của đơn vị chế phẩm máu vào giếng gelcard.
- Ủ tấm gelcard trong vòng 15 phút ở nhiệt độ phòng xét nghiệm.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng trong vòng 10 phút.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Không hòa hợp.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Hòa hợp.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

Nếu kết quả không hòa hợp, thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để thực hiện các xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường và lựa chọn đơn vị máu phù hợp ngoài hệ ABO, Rh(D) (đây là trường hợp không cấp phát được bằng quy trình thông thường).

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của mốt số hãng

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

134. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH Ở NHIỆT ĐỘ 37ºC VÀ CÓ SỬ DỤNG KHÁNG GLOBULIN NGƯỜI BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp của các hệ thống nhóm máu mà kháng thể thích hợp hoạt động ở nhiệt độ 37ºC giữa huyết thanh người bệnh và hồng cầu của người cho dựa trên đọc phản ưng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Phản ứng hòa hợp có sử dụng kháng globulin người dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Khi ủ ở điều kiện nhiệt độ 37ºC, kháng thể loại IgG trong huyết thanh người bệnh sẽ gắn với kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu của người cho. Thuốc thử kháng globulin người sẽ làm cầu nối để nối các hồng cầu đã cảm nhiễm kháng thể và tạo thành hiện tượng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Kéo.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS (nếu có).
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.

- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh 2-8^{o}C.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm

+ Người bệnh: Máu tĩnh mạch:

✓ 01 ống chống đông EDTA

✓ 01 ống không có chất chống đông.

+ Người cho máu: Máu tĩnh mạch từ dây máu với các chế phẩm máu là khối hồng cầu, khối bạch cầu, máu toàn phần

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu người bệnh

✓ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

✓ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

✓ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

+ Mẫu người cho máu: 0,5 – 1 ml, không bị đông dây hoặc tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Mẫu của người bệnh:

+ Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

+ Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

- Mẫu của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin hoặc dán barcode của đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Lấy 1-2 đoạn đây của đơn vị chế phẩm máu, dùng kéo cắt máu vào ống nghiệm.

+ Rửa hồng cầu người cho 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm hòa hợp khi người bệnh có chỉ định truyền khối hồng cầu, máu toàn phần, khối bạch cầu.

- Pha hồng cầu 5% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% của đơn vị chế phẩm máu vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh bệnh phẩm vào ống nghiệm.

- Ủ ống nghiệm ở nhiệt độ 37^0C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

- Rửa hồng cầu trong các ống nghiệm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào các ống nghiệm trên.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Với các ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, rồi khi ly tâm, sẽ có ngưng kết; nếu vẫn âm tính thì phải xét nghiệm lại

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Không hòa hợp.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Hòa hợp.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

Nếu kết quả không hòa hợp, thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để thực hiện các xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường và lựa chọn đơn vị máu phù hợp ngoài hệ ABO, Rh(D) (đây là trường hợp không cấp phát được bằng quy trình thông thường).

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005).

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

135. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH Ở NHIỆT ĐỘ 37ºC VÀ CÓ SỬ DỤNG KHÁNG GLOBULIN NGƯỜI BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp của các hệ thống nhóm máu mà kháng thể thích hợp hoạt động ở nhiệt độ 37ºC giữa huyết thanh người bệnh và hồng cầu của người cho dựa trên nguyên lý phản ứng ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm, thích hợp cho xét nghiệm hàng loạt mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Phản ứng hòa hợp có sử dụng kháng globulin người dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Khi ủ ở điều kiện nhiệt độ 37ºC, kháng thể loại IgG trong huyết thanh người bệnh sẽ gắn với kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu của người cho. Thuốc thử kháng globulin người sẽ làm cầu nối để nối các hồng cầu đã cảm nhiễm kháng thể và tạo thành hiện tượng ngưng kết. Dưới tác dụng của lực ly tâm, các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, còn hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.
- Hỗ trợ: 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (nếu có).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Kéo.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Gelcard AHG (gelcard có thuốc thử kháng globulin người).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.

- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Khay pha loãng.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tự động hoặc hệ thống máy bán tự động bao gồm: Máy ủ gelcard, máy ly tâm gelcard, máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm

+ Người bệnh: Máu tĩnh mạch:

✓ 01 ống chống đông EDTA

✓ 01 ống không có chất chống đông.

+ Người cho máu: Máu tĩnh mạch từ dây máu với các chế phẩm máu là khối hồng cầu, khối bạch cầu, máu toàn phần

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Mẫu người bệnh

✓ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông, tan máu.

✓ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, không bị tan máu.

✓ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

+ Mẫu người cho máu: 0,5 - 1 ml, máu không bị đông dây hoặc tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Mẫu của người bệnh:

+ Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.

+ Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

+ Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

+ Ly tâm ống máu để tách huyết thanh.

- Mẫu của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi thông tin hoặc dán barcode của đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Lấy 1-2 đoạn đây của đơn vị chế phẩm máu, dùng kéo cắt máu vào ống nghiệm.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Thực hiện xét nghiệm trên máy tự động

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.

- Xếp hóa chất, sinh phẩm, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.

- Chọn chương trình xét nghiệm phù hợp trên máy.

4.1.2.2. Thực hiện xét nghiệm trên hệ thống máy bán tự động

- Pha hồng cầu 1% của đơn vị chế phẩm máu:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu 1% của đơn vị chế phẩm máu vào giếng gelcard

- Thêm 25 µl huyết thanh bệnh phẩm vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard trong vòng 15 phút ở nhiệt độ 37^{o}C bằng máy ủ gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng trong vòng 10 phút.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Không hòa hợp.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Hòa hợp.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

Nếu kết quả không hòa hợp, thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để thực hiện các xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường và lựa chọn đơn vị máu phù hợp ngoài hệ ABO, Rh(D) (đây là trường hợp không cấp phát được bằng quy trình thông thường).

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm, máy ủ không ổn định (vận tốc không đảm bảo, nhiệt độ ủ không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

AABB Technical Manual 15th Edition (2005).

Denise M Harmening (2012), Modern blood banking and transfusion practices

136. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP TIỂU CẦU BẰNG KỸ THUẬT ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự hòa hợp của các hệ thống nhóm máu tiểu cầu giữa người bệnh và đơn vị tiểu cầu của người cho.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Tiểu cầu của người cho được gắn vào bề mặt của giếng polystyrene microplate. Huyết thanh/ huyết tương của người bệnh được thêm vào giếng và ủ với tiểu cầu của người cho, nếu trong huyết thanh của người bệnh có kháng thể kháng tiểu cầu thì các kháng thể này sẽ gắn với tiểu cầu của người cho. Các globulin miễn dịch không gắn lên tiểu cầu có trong giếng sẽ được rửa sạch, sau đó thêm vào giếng hồng cầu chỉ thị đã cảm nhiễm với anti-IgG. Ly tâm để các hồng cầu chỉ thị tiếp xúc được với các kháng thể kháng tiểu cầu có trong huyết thanh người bệnh đã được gắn với các tiểu cầu của người cho. Trong trường hợp người bệnh có kháng thể kháng tiểu cầu, phức hợp kháng nguyên, kháng thể kháng tiểu cầu và hồng cầu đã được gắn với anti-IgG (Hồng cầu chỉ thị) đã được hình thành ở trên sẽ ngăn cản sự di chuyển của các hồng cầu chỉ thị xuống đáy giếng khi được ly tâm, do vậy các hồng cầu chỉ thị sẽ bao phủ lên toàn bộ bề mặt giếng. Ngược lại trong trường hợp xét nghiệm âm tính, các hồng cầu chỉ thị sẽ không bị cản trở trong quá trình di chuyển, theo lực ly tâm sẽ lắng chặt xuống đáy giếng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Đồng hồ hẹn giờ.
- Tấm chiếu sáng.
- Giá cắm ống nghiệm…

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Giếng làm xét nghiệm.
- Dung dịch đệm LISS.
- Hồng cầu chỉ thị.
- Chứng dương.
- Chứng âm.
- Dung dịch đệm phosphate, pH 6.5-7.5/ dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm polypropylene hoặc polyethylene.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Ống không chống đông.
- Bơm kim tiêm …

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm phiến microplate 96 giếng.
- Máy ủ khô 37°C.
- Máy rửa bán tự động.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm …

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm của người bệnh: Máu tĩnh mạch:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Ống chống đông EDTA: 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây hoặc tan máu.

+ Ống không có chất chống đông: 3-5ml, mẫu máu không bị tan máu.

+ Trên cả 2 ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

- Mẫu tiểu cầu của người cho: 0,5 - 1 ml, không bị tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương và huyết thanh.
- Chuẩn bị mẫu tiểu cầu làm xét nghiệm như sau:

+ Chuẩn bị 1 ống nghiệm polypropylene hoặc polyethylene sạch, khô, ghi mã của đơn vị khối tiểu cầu lên ống nghiệm.

+ Lấy 1 đoạn dây từ túi tiểu cầu của người hiến và cắt dây tiểu cầu vào ống nghiệm nhựa đã chuẩn bị ở trên.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Lấy số lượng giếng cần thiết để làm xét nghiệm từ túi bảo vệ.
- Dùng pipet nhựa hút 1-2 giọt (tương đương 50-100 µl) tiểu cầu của người cho nhỏ vào 3 giếng đầu tiên của hàng. Một giếng là chứng dương (yếu) và giếng thứ hai là chứng âm, giếng thứ ba là giếng làm xét nghiệm hòa hợp giữa tiểu cầu của người cho và huyết thanh/ huyết tương của người bệnh.
- Ly tâm phiến trong vòng 5 phút.
- Rửa tiểu cầu trong các giếng bằng máy rửa bán tự động để loại bỏ tiểu cầu và huyết tương thừa.
- Thêm 2 dung dịch đệm LISS vào mỗi giếng ngay sau khi rửa.
- Thêm 1 giọt chứng dương vào giếng đầu tiên của hàng.
- Thêm 1 giọt chứng âm vào giếng thứ hai của hàng.
- Thêm 1 giọt huyết tương hoặc huyết thanh của người bệnh vào giếng thứ ba của hàng.
- Chạm nhẹ nhàng liên tục vào cạnh của phiến để trộn huyết thanh/ huyết tương của người bệnh với dung dịch đệm LISS.
- Ủ các phiến ở 37°C trong vòng 30-60 phút.
- Rửa tiểu cầu trong các giếng bằng máy rửa chuyên dụng.
- Thêm 1 giọt hồng cầu chỉ thị vào mỗi giếng ngay sau khi rửa.
- Ly tâm phiến trong vòng 1 phút.
- Đặt phiến trên một mặt phẳng được chiếu sáng, đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Phản ứng ngưng kết: Các hồng cầu chỉ thị sẽ bao phủ lên toàn bộ bề mặt giếng.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Các hồng cầu chỉ thị lắng chặt xuống đáy giếng.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu có hiện tượng ngưng kết: Không hòa hợp.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Hòa hợp.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy ly tâm không ổn định (vận tốc không đảm bảo, thời gian không đúng).

Xử trí: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

137. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN C CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-C để xác định sự có mặt của kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-C.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.
+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-C vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên C: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên C: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

138. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN c CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-c để xác định sự có mặt của kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-c.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên c của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-c vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên c: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên c: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-c của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

139. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN E CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-E để xác định sự có mặt của kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-E.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên E của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-E vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên E: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên E: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-E của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

140. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN e CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-e để xác định sự có mặt của kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-e.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên e của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-e vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên e: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên e: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-e của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

141. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^a CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Fy^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm…

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti- Fy^a.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Fy^a của hệ Duffy

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Fy^a vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti- Fy^a của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7^{th} Edition.

142. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^b CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Fy^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti- Fy^b.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

.

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.
- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Fy^b của hệ Duffy

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.
- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.
- Thêm 25 µl anti-Fy^b vào giếng gelcard.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.
- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti- Fy^b của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7^{th} Edition.

143. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^a CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Jk^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti- Jk^a.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Jk^a của hệ Kidd

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Jk^a vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^oC trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti- Jk^a của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7^{th} Edition.

144. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^b CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Jk^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Jk^b.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Jk^b của hệ Kidd

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Jk^b vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti- Jk^b của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7^{th} Edition.

145. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN K CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-K để xác định sự có mặt của kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-K.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên K của hệ Kell

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-K vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên K: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên K: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti- K của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

146. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN k CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-k để xác định sự có mặt của kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-k.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên k của hệ Kell

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-k vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên k: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên k: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-k của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

147. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^a CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Le^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Le^a.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Le^a của hệ Lewis

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Le^a vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^oC trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-Le^a của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

148. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^b CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Le^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Le^b.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Le^b của hệ Lewis

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Le^b vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-Le^b của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

149. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^a CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Lu^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Lu^a.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Lu^a của hệ Lutheran

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Lu^a vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-Lu^a của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

150. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^b CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Lu^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Lu^b.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Lu^b của hệ Lutheran

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Lu^b vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-Lu^b của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

151. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Mi^a CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Mi^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Mi^a.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Mi^a của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-Mi^a vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Mi^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Mi^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-Mi^a của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

152. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN M CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-M để xác định sự có mặt của kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-M.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên M của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-M vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên M: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên M: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-M của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

153. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN N CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-N để xác định sự có mặt của kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-N.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên N của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-N vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên N: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên N: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-N của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

154. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-S để xác định sự có mặt của kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-S.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên S của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-S vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên S: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên S: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-S của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

155. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN s CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-s để xác định sự có mặt của kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-s.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên s của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-s vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên s: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên s: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-s của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

156. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN P_1 CỦA HỆ P1PK BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-P_1 để xác định sự có mặt của kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-P_1.
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên P_1 của hệ P1PK

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl anti-P_1 vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên P_1: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên P_1: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng anti-P_1 của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

157. XÁC ĐỊNH CÁC KHÁNG NGUYÊN KHÁC NGOÀI HỆ ABO, Rh(D) (C^w/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a…) BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên ngoài hệ ABO, Rh(D) (Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a…) trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan của xét nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-C^w/ anti-Di^a/ anti-Di^b/ anti-Kp^a/ anti-Kp^b/ anti-U/ anti-Xg^a … để xác định sự có mặt của kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì các đám ngưng kết được giữ lại trên bề mặt hoặc suốt chiều dài cột gel, nếu không có hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể thì hồng cầu tự do sẽ lắng xuống đáy cột gel. Hiện tượng ngưng kết/ không ngưng kết trên cột gel được đọc bằng máy đọc gelcard tự động, không bị ảnh hưởng bởi chủ quan người đọc kết quả, do đó tăng tính khách quan và độ nhạy của xét nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-C^w/ anti-Di^a/ anti-Di^b/ anti-Kp^a/ anti-Kp^b/ anti-U/ anti-Xg^a …
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- Gelcard AHG đa giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG và anti-C3d).
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).

- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm gelcard.
- Máy đọc kết quả.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đa giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ lên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên C^w/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a ...

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 1%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên tấm gelcard AHG đơn giá.

- Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.

- Nhỏ 50 µl hồng cầu bệnh phẩm 1% vào giếng gelcard.

- Thêm 25 µl kháng huyết thanh vào giếng gelcard.

- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- Ly tâm tấm gelcard bằng máy ly tâm gelcard chuyên dụng.

- Đọc kết quả: Thực hiện theo phần 4.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: các đám ngưng kết nằm trên bề mặt của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 trên của cột gel, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: các đám ngưng kết nằm ở 2/3 dưới của cột gel, có ít hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Ngưng kết 1+: các đám ngưng kết nằm ở 1/3 dưới của cột gel, có nhiều hồng cầu tự do ở đáy cột gel.

+ Không ngưng kết (0): hồng cầu tự do ở dưới đáy của cột gel.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a ... trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a...: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a... trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a...: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu, cột gel bị bọt khí hoặc khô ...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

158. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN C CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-C để xác định sự có mặt của kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-C.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-C vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên C: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên C: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

159. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN c CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-c để xác định sự có mặt của kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-c.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên c của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-c vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên c: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên c: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

160. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN E CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-E để xác định sự có mặt của kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-E.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên E của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:
+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.
+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.
+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.
+ Trộn đều.
- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-E vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:
+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.
+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.
- Nhận định kết quả:
+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên E: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên E: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

161. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN e CỦA HỆ Rh BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-e để xác định sự có mặt của kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-e.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên e của hệ Rh

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-e vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên e: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên e: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

162. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^a CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Fy^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Fy^a.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Fy^a của hệ Duffy

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Fy^a vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Fy^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

163. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy^b CỦA HỆ DUFFY BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Fy^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Fy^b.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Fy^b của hệ Duffy

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Fy^b vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Fy^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Fy^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

164. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^a CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Jk^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Jk^a.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Jk^a của hệ Kidd

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Jk^a vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

165. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk^b CỦA HỆ KIDD BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Jk^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Jk^b.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Jk^b của hệ Kidd

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Jk^b vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Jk^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

166. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN K CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-K để xác định sự có mặt của kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-K.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên K của hệ Kell

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:
+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.
+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.
+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.
+ Trộn đều.
- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-K vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:
+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.
+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.
- Nhận định kết quả:
+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên K: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên K: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

167. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN k CỦA HỆ KELL BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-k để xác định sự có mặt của kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-k.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên k của hệ Kell

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-k vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên k: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên k: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

168. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^a CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Le^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Le^a.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Le^a của hệ Lewis

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Le^a vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^oC trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Le^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

169. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le^b CỦA HỆ LEWIS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Le^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Le^b.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Le^b của hệ Lewis

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Le^b vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Le^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Le^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

170. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^a CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Lua trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Lu^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Lu^a.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Lu^a của hệ Lutheran

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:
+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.
+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.
+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.
+ Trộn đều.
- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Lu^a vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:
+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.
+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.
- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7^{th} Edition.

171. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Lu^b CỦA HỆ LUTHERAN BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Lu^b để xác định sự có mặt của kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Lu^b.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Lu^b của hệ Lutheran

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:
+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.
+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.
+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.
+ Trộn đều.
- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Lu^b vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:
+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.
+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.
+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.
- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^b: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu^b trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Lu^b: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

172. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN M CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-M để xác định sự có mặt của kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-M.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên M của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-M vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên M: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên M: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

173. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Mi^a CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-Mi^a để xác định sự có mặt của kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-Mi^a.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng người bệnh.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên Mi^a của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-Mi^a vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Mi^a: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Mi^a trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Mi^a: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7^{th} Edition.

174. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN N CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-N để xác định sự có mặt của kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-N.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên N của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-N vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên N: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên N: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

175. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-S để xác định sự có mặt của kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-S.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.

- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên S của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-S vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên S: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên S: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

176. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN s CỦA HỆ MNS BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-s để xác định sự có mặt của kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-s.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên s của hệ MNS

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-s vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên s: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên s: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

177. XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN P_1 CỦA HỆ P1PK BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-P_1 để xác định sự có mặt của kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-P_1.
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.
- Ly tâm ống nghiệm
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).
- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên P_1 của hệ P1PK

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.
- Thêm 1 giọt anti-P_1 vào ống nghiệm.
- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống nghiệm.
- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.
- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên P_1: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên P_1 trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên P_1: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

178. XÁC ĐỊNH CÁC KHÁNG NGUYÊN KHÁC NGOÀI HỆ ABO, Rh(D) (C^w/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a…) BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên ngoài hệ ABO, Rh(D) (Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a…) trên bề mặt hồng cầu của người bệnh/ người khỏe mạnh/ sản phụ/ đơn vị máu của người hiến dựa trên đọc phản ứng ngưng kết bằng mắt thường hoặc kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Sử dụng thuốc thử là anti-C^w/ anti-Di^a/ anti-Di^b/ anti-Kp^a/ anti-Kp^b/ anti-U/ anti-Xg^a … để xác định sự có mặt của kháng nguyên tương ứng trên bề mặt hồng cầu bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mắt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Cốc thuỷ tinh.
- Hộp đựng đầu côn.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Anti-C^w/ anti-Di^a/ anti-Di^b/ anti-Kp^a/ anti-Kp^b/ anti-U/ anti-Xg^a …
- Thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs).
- Hồng cầu chứng.
- Dung dịch đệm LISS.
- Dung dịch nước muối sinh lý.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm.
- Pipet nhựa.
- Đầu côn các loại.
- Mũ giấy.
- Khẩu trang.

- Găng tay.
- Quần áo bảo hộ.
- Ống chống đông EDTA.
- Bơm kim tiêm.

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Bình cách thủy.
- Máy ly tâm ống nghiệm.
- Máy tính.
- Máy in.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu không bị tan máu, không bị đông dây.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin định danh bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng… được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Nhận, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp đối với hồng cầu bệnh phẩm

- Rửa hồng cầu bệnh phẩm 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.
- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm.

- Ly tâm ống nghiệm

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp dương tính: Thực hiện kỹ thuật tách kháng thể đến khi xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính mới được sử dụng hồng cầu làm xét nghiệm (làm tiếp xét nghiệm theo bước 3).

- Nếu xét nghiệm Coombs trực tiếp âm tính: Làm tiếp xét nghiệm theo bước 3.

4.1.3. Bước 3. Thực hiện xét nghiệm xác định kháng nguyên $C^w/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a$ ...

- Pha hồng cầu bệnh phẩm 5%:

+ Chuẩn bị 01 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin hồng cầu bệnh phẩm lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào ống nghiệm 50 µl hồng cầu khối.

+ Trộn đều.

- Ghi thông tin người bệnh lên ống nghiệm làm xét nghiệm.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu bệnh phẩm 5% vào ống nghiệm.

- Thêm 1 giọt kháng huyết thanh vào ống nghiệm.

- Ủ các ống nghiệm ở nhiệt độ 37^{o}C trong vòng 30 - 45 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Rửa hồng cầu trong ống nghiệm trên 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý, lấy kiệt dịch nổi sau mỗi lần rửa.

- Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin người vào ống nghiệm trên.

- Ly tâm ống nghiệm.

- Đọc mức độ ngưng kết: Thực hiện theo phần 4.2.

- Nếu ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Sau khi ly tâm, phải cho phản ứng ngưng kết, nếu sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn duy nhất, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Không ngưng kết (0): Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

- Nhận định kết quả:

+ Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a ... trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a...: Dương tính.

+ Không có phản ứng ngưng kết: Không có kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a... trên bề mặt hồng cầu, kết luận: Kháng nguyên Cw/Di^a/Di^b/Kp^a/Kp^b/U/Xg^a...: Âm tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, lưu trữ hồ sơ trên phần mềm hoặc thủ công, thời gian lưu hồ sơ theo quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây.

Xử trí: Không sử dụng bệnh phẩm bị tan máu, đông dây để làm xét nghiệm.

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (nhiễm khuẩn, tan máu...).

Xử trí: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Xử trí: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Xử trí: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

179. ĐỊNH LƯỢNG CD 25 (IL-2R) HOÀ TAN TRONG HUYẾT THANH BẰNG KỸ THUẬT ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nồng độ CD25 hòa tan (solube CD25 hay sCD25) trong huyết thanh người bệnh. Kết quả giúp hỗ trợ chẩn đoán Hội chứng thực bào máu.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Để xác định mức độ hiện diện của CD25 hòa tan trong huyết thanh người bệnh, người ta sử dụng kháng thể (KT) kháng sCD25 để phát hiện và gián tiếp định lượng sự hiện diện của nó. Kháng thể kháng sCD25 được gắn sẵn trong giếng xét nghiệm. Khi thêm huyết thanh người bệnh vào giếng xét nghiệm, nếu trong huyết thanh đó có kháng nguyên (KN) sCD25, các KN này kết hợp đặc hiệu với các KT đã gắn sẵn, tạo nên phức hợp KN - KT. Sau khi ủ, rửa sạch, phức hợp này được bổ sung chất nhuộm màu TMB (Tetramethylbenzidine). Đo độ hấp thu quang OD và đọc kết quả.

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit định lượng CD25 hòa tan bằng kỹ thuật ELISA;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có)
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Đầu côn, ống Effendof;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Dàn máy Elisa (tự động hoặc bán tự động)
- Máy tính cho máy xét nghiệm
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Bộ lưu điện
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);

- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu máu toàn phần được đựng trong ống không chống đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra đầy đủ thông tin người bệnh (họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu, thời gian lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Li tâm ống máu 3500v/5 phút để tách huyết thanh.

4.1.2. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.3. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo quy định.
- Kiểm tra lại (nếu cần) kết quả xét nghiệm của người bệnh rồi in kết quả.

4.1.4. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định.

4.1.5. Tắt máy: Thực hiện theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi thực hiện xong xét nghiệm, kết quả trả cho người bệnh là nồng độ CD25 hòa tan trong huyết thanh người bệnh (đơn vị: U/ml). Bác sỹ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ in, trả và xem xét kết quả xét nghiệm theo quy định.
- Giá trị lâm sàng: Mẫu xét nghiệm có kết quả >2400 U/ml là một trong các tiêu chuẩn để chẩn đoán Hội chứng thực bào máu**.**

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

- Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

M. B. Jordan, A. Mattman, L. Y. C. Chen và cộng sự 2017; "Soluble interleukin-2 receptor is a sensitive diagnostic test in adult hemophagocytic lymphohistiocytosis"; *Blood Advances* 2017, Vol 1 (26): 2529–2534

180. PHÂN TÍCH DẤU ẤN/CD/MARKER MIỄN DỊCH MÁU NGOẠI VI BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY (LÀM CHO 1 DẤU ẤN/CD/MARKER)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không có mặt của dấu ấn CD/Marker miễn dịch máu ngoại vi hoặc dịch khác trên các dòng tế bào khác nhau bằng kỹ thuật Flow cytometry để làm căn cứ chẩn đoán bệnh hoặc thu thập thông tin cần khảo sát về các dấu ấn miễn dịch của tế bào máu.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong quá trình biệt hóa, các tế bào máu có sự xuất hiện hoặc là mất đi các dấu ấn miễn dịch. Mỗi một dòng tế bào, một giai đoạn tế bào sẽ có những dấu ấn miễn dịch đặc trưng. Vì vậy, có thể căn cứ vào sự có mặt hoặc không có mặt các dấu ấn miễn dịch có thể xác định được: dòng tế bào và giai đoạn biệt hóa của tế bào ung thư trong Lơ xê mi cấp và lơ xê mi kinh; phân biệt được các quần thể tế bào máu (tế bào dòng tuỷ, tế bào dòng lympho, lympho T, lympho B, tế bào NK và các dưới nhóm…). Bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng chống lại các dấu ấn miễn dịch đặc hiệu (kháng nguyên), và phân tích trên máy Flow cytometry có thể xác định được kiểu hình miễn dịch của các tế bào ung thư; xác định được các quần thể tế bào đặc trưng và dưới nhóm của chúng…

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm phân tích dấu ấn miễn dịch/CD/marker miễn dịch;
- Dung dịch đệm, dung dịch ly giải hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống thuỷ tinh;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy Vortex;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần lấy vào ống chứa chất chống đông (EDTA, ACD, hoặc Heparin).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị.

- Đếm và pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp (thường 1 x 10^6 tế bào/ml);
- Pha hóa chất;
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm;

- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể:

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin;
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm đã pha loãng vào ống chứa kháng thể;
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất;
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào mỗi ống;
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất;
- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu;
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy Xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Khi phân tích chủ yếu tập trung phân tích quần thể tế bào blast (nếu có). Trong một số trường hợp cụ thể (không phải bệnh máu ác tính), cần phân tích thêm các quần thể bạch cầu hạt, lympho, mono.
- Ngưỡng dương tính, âm tính của mỗi một CD tùy thuộc vào phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các tế bào bạch cầu nằm không đúng vùng tế bào trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy…

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm: Nếu nội kiểm "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục.
- Ngoại kiểm: thực hiện theo chương trình ngoại kiểm đăng kí hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J J M Van Dongen, L Lhermitte, S Bottcher, J Almeida, V H J van der Velden, J Flores-Montero et al. 2012. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia. 26, 1908-1975.

181. PHÂN TÍCH DẤU ẤN/CD/MARKER MIỄN DỊCH TỦY XƯƠNG, DỊCH KHÁC, MÔ VÀ TỔ CHỨC BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY (LÀM CHO 1 DẤU ẤN/CD/MARKER)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hoặc không của dấu ấn CD/Marker miễn dịch ở tế bào dịch tủy xương bằng kỹ thuật Flow cytometry để làm căn cứ chẩn đoán bệnh.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong quá trình biệt hóa, các tế bào máu tuỷ xương có sự xuất hiện hoặc là mất đi các dấu ấn miễn dịch. Mỗi một dòng tế bào, một giai đoạn tế bào sẽ có những dấu ấn miễn dịch đặc trưng. Vì vậy, có thể căn cứ vào sự có mặt hoặc không có mặt các dấu ấn miễn dịch có thể xác định được dòng tế bào và giai đoạn biệt hóa của tế bào ung thư trong Lơ xê mi cấp cũng như quan sát được các biểu hiện bình thường hoặc bất thường của các dòng tế bào, các quần thể tế bào trong dịch hút tuỷ xương để đánh giá tình trạng sinh máu của tuỷ xương cũng như đánh giá sự bình thường hay bất thường về đặc tínhtế bào trong dịch hút tuỷ xương.

Xét nghiệm này là sử dụng các kháng thể đơn dòng chống lại các dấu ấn miễn dịch đặc hiệu (kháng nguyên) có ở tế bào, và phân tích trên máy Flow cytometry để xác định kiểu hình miễn dịch của các tế bào ở tủy xương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.3. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm phân tích dấu ấn miễn dịch/CD/marker miễn dịch;
- Dung dịch đệm, dung dịch ly giải hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống thuỷ tinh;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;

- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy Vortex;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: mẫu dịch hút tủy xương được chống đông, dịch khác, mô và tổ chức mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công

4.1.2. Chuẩn bị.

- Đếm và pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp (thường là 1×10^6 tế bào/ml);
- Pha hóa chất;
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm;

- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể:

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin;
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm đã pha loãng vào ống chứa kháng thể;
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất;
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào mỗi ống;
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất;
- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu;
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy Xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Khi phân tích chủ yếu tập trung phân tích quần thể tế bào blast (nếu có). Trong một số trường hợp cụ thể (không phải bệnh máu ác tính), cần phân tích thêm các quần thể bạch cầu hạt, lympho, mono.
- Ngưỡng dương tính, âm tính của mỗi một CD tùy thuộc vào phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm.
- Hoàn thiện hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các tế bào bạch cầu nằm không đúng trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy…

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm: Nếu nội kiểm "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục.
- Ngoại kiểm: thực hiện theo chương trình ngoại kiểm đăng kí hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J J M Van Dongen, L Lhermitte, S Bottcher, J Almeida, V H J van der Velden, J Flores-Montero et al. 2012. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia. 26, 1908-1975.

182. XÁC ĐỊNH CÁC TẾ BÀO MIỄN DỊCH LYMPHO T, LYMPHO B, NK BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phân tích số lượng và tỉ lệ các dòng tế bào Lympho T, Lympho B, NK bằng kỹ thuật Flow cytometry để làm căn cứ chẩn đoán bệnh và đánh giá chức năng miễn dịch.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Mỗi tế bào miễn dịch đặc trưng bởi các dấu ấn miễn dịch. Do vậy, sử dụng kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy dùng các kháng thể đơn dòng kháng CD3, CD4, CD8, CD56, CD16, CD19, CD20…có gắn màu huỳnh quang khác nhau có thể đồng thời phát hiện chính xác loại tế bào, tỷ lệ phần trăm và số lượng tuyệt đối các tế bào miễn dịch có trong mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm phân tích dấu ấn miễn dịch tế bào lympho T, lympho B, NK;
- Dung dịch đệm, dung dịch ly giải hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có).
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống thuỷ tinh;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy Vortex;
- Bộ lưu điện;

- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần lấy vào ống chứa chất chống đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị

- Pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp (thường là $1x10^6$ tế bào/ml).
- Pha hóa chất.
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm;
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể:

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin.
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống chứa kháng thể.
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào mỗi ống.

- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu.
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy Xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Khi phân tích tập trung nhóm quần thể tế bào bất thường hoặc Lympho.
- Ngưỡng dương tính, âm tính của mỗi một CD tùy thuộc vào phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.
- Số lượng tuyệt đối và khoảng tham chiếu bình thường tùy thuộc vào phòng xét nghiệm. Đếm số lượng từng loại tế bào miễn dịch có trong mẫu xét nghiệm là số lượng tế bào được phát hiện dựa trên sự biểu hiện phù hợp giữa các CD/marker sử dụng để phân tích cho từng nhóm tế bào miễn dịch khác nhau.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm.
- Hoàn thiện hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các vùng tế bào lympho không nằm trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy…

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Autralasian Cytometry Society, 2017, “ACS Guideline for Clinical Flow Cytometry Laboratory Practice”

183. XÁC ĐỊNH DẤU ẤN MIỄN DỊCH TRÊN HỒNG CẦU ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH LÝ ĐÁI HUYẾT SẮC TỐ KỊCH PHÁT BAN ĐÊM BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY (CD55, CD59, CD14….)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phân tích sự có mặt, thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59, CD235a, FLAER… trên bề mặt hồng cầu để chẩn đoán bệnh đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm (PNH).

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trên bề mặt hồng cầu bình thường có đầy đủ CD55, CD59, CD235a, FLAER…, có tác dụng ngăn cản bổ thể tấn công màng hồng cầu. Trong PNH, màng hồng cầu thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59, CD235a, FLAER … dẫn tới hiện tượng bổ thể dễ dàng tấn công phá hủy hồng cầu và gây tan máu. Vì vậy, phân tích sự thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59, CD235a, FLAER … trên bề mặt hồng cầu có thể giúp chẩn đoán bệnh PNH.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.4. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm CD55, CD59, CD235a, FLAER...
- Dung dịch đệm, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống thuỷ tinh;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định**.**

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy (flow cytometry);
- Máy vortex;

- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần lấy vào ống chứa chất chống đông (EDTA, ACD, hoặc Heparin);.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị

- Pha loãng mẫu bằng dung dịch đệm 1X về nồng độ thích hợp (thường $1x10^6$ tế bào/ml)
- Pha hóa chất
- Chuẩn bị hồ sơ

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm
- Bật máy tính và máy xét nghiệm
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể

- Nhỏ kháng thể vào ống chạy máy đã ghi sẵn thông tin.
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm đã pha loãng vào ống đã chứa sẵn kháng thể.

- Trộn đều, ủ tối ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Rửa mẫu sau ủ kháng thể, đổ dịch nổi.
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Phân tích trên quần thể hồng cầu.
- Xác định % dương tính của CD55, CD59, CD235a, FLAER …
- Ngưỡng thiếu hụt/không thiếu hụt của mỗi CD tùy thuộc vào từng phòng xét nghiệm hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống máu, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Hút thiếu lượng kháng thể hoặc lượng mẫu đưa vào. Thời gian ủ mẫu chưa đủ nên các kháng thể chưa gắn hoàn toàn lên bề mặt tế bào gây nhận định kết quả nhầm.

Xử trí: yêu cầu hút đủ lượng kháng thể và lượng mẫu đưa vào. Thời gian ủ mẫu đúng theo hướng dẫn hóa chất sử dụng.

- Nhập thông tin nhầm;

Xử trí: yêu cầu có người rà soát lại việc nhập thông tin và đưa ống vào chạy máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra các mẫu người hiến máu khỏe mạnh, có CD55, CD59, CD235a, FLAER … không thiếu hụt.
- Nội kiểm: Nếu nội kiểm "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục.
- Ngoại kiểm: thực hiện chương trình ngoại kiểm đăng ký hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Laboratório de Citometria, Unidade de Diagnóstico Hematológico, Serviço de Hematologia Clínica, Hospital de Santo António (HSA); 10/3/2020; "Laboratory studies for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, with emphasis on flow cytometry", Practical Laboratory Medicine.

184. XÁC ĐỊNH DẤU ẤN MIỄN DỊCH TRÊN BẠCH CẦU ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH LÝ ĐÁI HUYẾT SẮC TỐ KỊCH PHÁT BAN ĐÊM BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY (CD55, CD59, CD14, CD15, CD64, FLAER….)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phân tích sự có mặt, thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59, CD14, CD15, CD64, FLAER… trên bạch cầu hạt hoặc bạch cầu mono để chẩn đoán bệnh đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm (PNH).

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trên tế bào bạch cầu bình thường có CD55, CD59, CD14, CD15, CD64, FLAER… đầy đủ, có tác dụng ngăn cản bổ thể tấn công màng tế bào. Trong bệnh đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm (PNH), bạch cầu hạt hoặc bạch cầu mono có sự thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59, CD14, CD15, CD64, FLAER…dẫn tới hiện tượng bổ thể dễ dàng tấn công phá hủy tế bào và gây tan máu. Vì vậy, phân tích sự thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59, CD14, CD15, CD64, FLAER…trên tế bào bạch cầu có thể giúp chẩn đoán bệnh PNH.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm.
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ.
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.5. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm CD55, CD59, CD14, CD15, CD64, FLAER…
- Dung dịch đệm, dung dịch phá vỡ hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy (flow cytometry);

- Máy vortex;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần lấy vào ống chứa chất chống đông (EDTA, ACD, hoặc Heparin).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2.0 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị.

- Pha hóa chất;
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể:

- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống chạy máy đã ghi sẵn thông tin;
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào ống;
- Trộn đều, ủ ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất;
- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu, đổ dịch nổi;

- Nhỏ kháng thể vào ống;
- Trộn đều, ủ tối ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất;
- Rửa mẫu sau ủ kháng thể, đổ dịch nổi;
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc;
- Nhập thông tin người bệnh
- Chạy máy xét nghiệm;
- Rửa máy, tắt máy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Phân tích trên quần thể bạch cầu hạt hoặc bạch cầu mono;
- Xác định % dương tính của CD55, CD59 CD14, CD15, CD64, FLAER…
- Ngưỡng thiếu hụt/không thiếu hụt của mỗi CD tùy thuộc vào từng phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống máu, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Hút thiếu lượng kháng thể hoặc lượng mẫu đưa vào. Thời gian ủ mẫu hay thời gian phá vỡ hồng cầu chưa đủ gây nhận định kết quả nhầm.

Xử trí: yêu cầu hút đủ lượng kháng thể và lượng mẫu đưa vào. Thời gian ủ mẫu, phá vỡ hồng cầu đúng theo hướng dẫn hóa chất sử dụng.

- Nhập thông tin nhầm;

Xử trí: yêu cầu có người rà soát lại việc nhập thông tin và đưa ống vào chạy máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Kiểm tra các mẫu người hiến máu khỏe mạnh, có CD55, CD59 CD14, CD15, CD64, FLAER…không thiếu hụt.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Laboratório de Citometria, Unidade de Diagnóstico Hematológico, Serviço de Hematologia Clínica, Hospital de Santo António (HSA); 10/3/2020; "Laboratory studies for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, with emphasis on flow cytometry", Practical Laboratory Medicine.

185. ĐẾM SỐ LƯỢNG TẾ BÀO NK BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phân tích số lượng, tỉ lệ dòng tế bào NK bằng kỹ thuật Flow cytometry để làm căn cứ đánh giá chức năng miễn dịch và chẩn đoán bệnh.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Mỗi tế bào miễn dịch đặc trưng bởi các dấu ấn miễn dịch. Do vậy, sử dụng kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy dùng các kháng thể đơn dòng kháng CD45, CD3, CD56, CD16, CD7…có gắn màu huỳnh quang khác nhau có thể đồng thời phát hiện chính xác loại tế bào NK, tỷ lệ phần trăm và số lượng tuyệt đối tế bào NK có trong mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm.
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ.
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm phân tích dấu ấn miễn dịch tế bào NK.
- Dung dịch đệm, dung dịch ly giải hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy.
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có).
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu.
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng.
- Ống thuỷ tinh.
- Ống chạy xét nghiệm.
- Đầu côn.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định**.**

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm.
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode.
- Máy đếm tế bào dòng chảy.
- Máy Vortex.
- Bộ lưu điện.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Máy scan;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần lấy vào ống chứa chất chống đông (EDTA, ACD, hoặc Heparin).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị.

- Pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp.
- Pha hóa chất.
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin.
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống chứa kháng thể.
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào mỗi ống.
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.

- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu.
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy Xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Ngưỡng dương tính, âm tính của mỗi một CD tùy thuộc vào phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.
- Phân tích mức độ dương tính và âm tính của CD/marker để khoanh vùng tách các nhóm tế bào khác nhau trong mẫu xét nghiệm.
- Đếm số lượng tế bào NK có trong mẫu xét nghiệm là số lượng tế bào NK được phát hiện dựa trên sự biểu hiện phù hợp giữa các CD sử dụng để phân tích.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm.
- Hoàn thiện hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các vùng tế bào lympho không nằm trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy…

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm: Nếu nội kiểm "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục.
- Ngoại kiểm: thực hiện theo chương trình ngoại kiểm đăng kí hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Autralasian Cytometry Society, 2017, "ACS Guideline for Clinical Flow Cytometry Laboratory Practice"

186. XÁC ĐỊNH TỒN LƯU TỐI THIỂU (MRD) DẤU ẤN MIỄN DỊCH TẾ BÀO BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định số lượng, tỉ lệ quần thể tế bào ung thư còn lại sau điều trị có trong dịch hút tuỷ xương bằng kỹ thuật Flow cytometry. Phân tích tồn lưu tối thiểu tế bào ung thư dựa trên đặc điểm biểu hiện các dấu ấn miễn dịch không thay đổi trước điều trị và sau điều trị, hoặc dựa trên các biểu hiện dấu ấn miễn dịch khác biệt so với bình thường.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong quá trình biệt hóa, các tế bào máu có sự xuất hiện hoặc là mất đi các dấu ấn miễn dịch. Mỗi một dòng tế bào, một giai đoạn tế bào sẽ có những dấu ấn miễn dịch đặc trưng. Vì vậy, có thể căn cứ vào sự có mặt hoặc không có mặt các dấu ấn miễn dịch có thể xác định được dòng tế bào và giai đoạn biệt hóa của tế bào ung thư trong lơ xê mi. Bằng cách sử dụng CD các kháng thể đơn dòng chống lại các dấu ấn miễn dịch đặc hiệu và phân tích trên máy Flow cytometry có thể phân tích được kiểu hình miễn dịch của các tế bào ung thư. Căn cứ vào kiểu hình miễn dịch quần thể tế bào ung thư để theo dõi số lượng tế bào ác tính còn tồn tại sau các chu kỳ điều trị. Số lượng tế bào ác tính còn tồn tại sau điều trị hay tồn lưu tối thiểu bệnh (MRD) giúp đánh giá hiệu quả điều trị và khả năng tái phát của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm phân tích dấu ấn miễn dịch;
- Dung dịch đệm, dung dịch ly giải hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống thuỷ tinh;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;

- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy Vortex;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: mẫu dịch hút tủy xương được chống đông (EDTA, ACD, hoặc Heparin).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị.

- Pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp.
- Pha hóa chất.
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm;

- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể:

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin.
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống chứa kháng thể.
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào mỗi ống.
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu.
- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.5. Thao tác trên máy Xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Ngưỡng dương tính, âm tính của mỗi một CD tùy thuộc vào phòng xét nghiệm.
- Căn cứ vào đặc điểm kiểu hình miễn dịch tế bào ác tính để phân tích, tính tỉ lệ, đếm số lượng tế bào ác tính còn tồn tại sau các chu kỳ điều trị. Giá trị MRD là tỉ lệ số lượng tế bào ác tính được phát hiện trong tổng số tế bào mẫu phân tích.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm.
- Hoàn thiện hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các vùng tế bào lympho không nằm trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy…

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm: Nếu nội kiểm "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục.
- Ngoại kiểm: thực hiện theo chương trình ngoại kiểm đăng kí hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- *ACS GUIDELINE FOR MINIMAL RESIDUAL DISEASE TESTING*, 2020, Australasian Cytometry Laboratory

187. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU TRỰC TIẾP VÀ GIÁN TIẾP BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

- Xác định có hay không **kháng thể (IgG, IgM, IgA) hoặc bổ thể (C3)** đang bám trực tiếp trên bề mặt tiểu cầu của bệnh.

- Xác định có hay không **kháng thể lưu hành tự do trong huyết tương/huyết thanh** của người bệnh, có khả năng bám vào tiểu cầu bình thường.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Kháng thể kháng tiểu cầu trực tiếp:

- Trên bề mặt tiểu cầu có các kháng nguyên tiểu cầu. Khi truyền tiểu cầu người khác cho người bệnh, cơ thể người bệnh có thể sinh ra kháng thể đồng loài có bất đồng miễn dịch. Bản chất của kháng thể này là IgG. Vì vậy có thể sử dụng kháng thể gắn huỳnh quang Mouse Anti-human IgG để phát hiện các kháng thể đã gắn trên bề mặt tiểu cầu bằng kỹ thuật Flow Cytometry.

- Tiểu cầu người bệnh sau khi pha loãng và rửa được ủ với kháng thể phát hiện tiểu cầu và IgG. Đánh giá kết quả dựa vào tỷ lệ mean của ống thử/mean ống chứng.

Kháng thể kháng tiểu cầu trực tiếp:

- Trên bề mặt tiểu cầu có các kháng nguyên tiểu cầu. Khi truyền tiểu cầu người khác cho người bệnh, cơ thể người bệnh có thể sinh ra kháng thể đồng loài kháng lại tiểu cầu truyền vào. Bản chất của kháng thể này là IgG. Vì vậy có thể sử dụng kháng thể gắn huỳnh quang Mouse Antin-human IgG để phát hiện các kháng thể kháng tiểu cầu trong huyết thanh người bệnh đã được gắn vào bề mặt tiểu cầu O bằng kỹ thuật Flowcytometry.

- Tiểu cầu O sau khi pha loãng và rửa được ủ với huyết thanh người bệnh (ống thử) và huyết thanh AB (ống chứng). Sau đó, phức hợp này tiếp tục được ủ với kháng thể phát hiện tiểu cầu và IgG. Đánh giá kết quả dựa vào tỷ lệ mean của ống thử/mean ống chứng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman;
- Bút marker, bút bi;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu;
- Ống nhựa chân không, ống Falcon, ống chạy xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kháng thể đơn dòng tương ứng với kháng nguyên trên bề mặt tiểu cầu;
- Dung dịch đệm;

- Hóa chất nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch rửa;
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư khác

- Đầu côn, giá cắm pipet;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn, dây garo, băng dính miếng (Băng cá nhân);
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định**.**

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Máy ly tâm, máy Vortex;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm là mẫu máu toàn phần được đựng trong ống không chống đông và ống chống đông Natri Citrat, có thể tích 1.5-2ml.
- Chọn mẫu làm chứng (Đối với quy trình kháng thể kháng tiểu cầu gián tiếp): Tiểu cầu nhóm máu O và huyết thanh chứng âm (Huyết thanh AB).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

-Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Thực hiện xét nghiệm

4.1.2.1. Các bước thực hiện với kháng thể kháng tiểu cầu trực tiếp

- Ly tâm ống máu người bệnh chống đông bằng natri citrate để tách huyết tương giàu tiểu cầu.
- Pha loãng tiểu cầu về nồng độ thích hợp.
- Cố định tiểu cầu.
- Sau khi cố định tiểu cầu, tiến hành rửa tiểu cầu bằng dung dịch đệm.
- Nhỏ kháng thể vào ống xét nghiệm và ống chứng
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm tiểu cầu đã cố định vào ống chứa kháng thể
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất
- Thêm dung dịch đệm vào mỗi ống, trộn đều đem đi chạy máy

4.1.2.2. Các bước thực hiện với kháng thể kháng tiểu cầu gián tiếp

- Tách huyết thanh người bệnh: Ly tâm ống không chống đông của người bệnh.
- Tách tiểu cầu chứng (nếu cần), cố định tiểu cầu chứng.
- Sau khi cố định tiểu cầu chứng, tiến hành rửa bằng dung dịch đệm.
- Đổ bỏ dịch nổi.
- Ủ tiểu cầu chứng với huyết thanh người bệnh và huyết thanh chứng.
- Thêm dung dịch đệm, vortex rồi ly tâm rửa , bỏ dịch nổi thu cặn. Lặp lại bước rửa 1 lần nữa (nếu cần).
- Thêm Mouse Anti-Human IgG và kháng thể phát hiện tiểu cầu vào cả 2 ống.
- Bù dung dịch đệm vào cả hai ống GT1 và ống GT2 và đem đi chạy máy.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị dung dịch chạy máy, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Thao tác trên máy xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi thực hiện xong xét nghiệm, máy đếm tế bào dòng chảy sẽ báo kết quả dưới dạng hình ảnh thô. Căn cứ tỉ lệ chênh lệch giữa mẫu xét nghiệm với ống chứng âm để kết luận mẫu dương tính hay âm tính. Giá trị ngưỡng dương tính, âm tính tùy thuộc vào từng phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.
- Kết quả trả cho người bệnh bao gồm: Kết luận kết quả xét nghiệm.
- Giá trị lâm sàng: Dựa và kết quả xét nghiệm, các triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác, bác sỹ điều trị sẽ ra quyết định chẩn đoán người bệnh có kháng thể kháng tiểu cầu hay không.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm
- Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm được thực hiện theo đúng quy định. Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hóa chất, thuốc thử, thiết bị,... và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.
- Thực hiện ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Mika Matsuhashi, Nelson Hirokazu Tsuno, 2018, *"Laboratory testing for the diagnosis of immune-mediated thrombocytopenia"*, ABO Annals Blood

188. ĐỊNH LƯỢNG GLYCOPROTEIN TIỂU CẦU (CD41, CD61, CD42a, CD42b, …) BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

- Chẩn đoán các rối loạn số lượng hoặc cấu trúc glycoprotein màng tiểu cầu.
- Hỗ trợ phân biệt giữa giảm tiểu cầu do tiêu hao và giảm do rối loạn di truyền.
- Giúp theo dõi sau ghép tế bào gốc hoặc sau điều trị miễn dịch.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trên bề mặt tiểu cầu bình thường có đầy đủ các kháng nguyên CD41, CD61, CD42a, CD42b,… phân tích sự thiếu hụt hoặc mất CD41, CD61, CD42a, CD42b,… trên bề mặt tiểu cầu giúp chẩn đoán một số bệnh lý chức năng tiểu cầu di truyền như : bệnh Glanzmann, hội chứng Bernard - Soulier.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman;
- Bút marker, bút bi;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu;
- Ống nhựa chân không, ống Falcon, ống chạy xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kháng thể đơn dòng tương ứng với kháng nguyên trên bề mặt tiểu cầu;
- Dung dịch đệm;
- Hóa chất nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Dung dịch rửa;
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư khác

- Đầu côn, giá cắm pipet;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn, dây garo, băng dính miếng (Băng cá nhân);
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Máy ly tâm, máy Vortex;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: mẫu máu toàn phần được đựng trong ống chống đông Natri Citrat, có thể tích 1.5-2ml.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

-Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Thực hiện xét nghiệm

- Ly tâm ống máu người bệnh chống đông bằng natri citrate để tách huyết tương giàu tiểu cầu;
- Pha loãng tiểu cầu về nồng độ thích hợp;
- Nhỏ thêm kháng thể có trên bề mặt tiểu cầu cần kiểm tra vào ống mẫu đã pha loãng;
- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Thêm dung dịch đệm vào mỗi ống, trộn đều đem đi chạy máy.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Thao tác trên máy xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.
- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi thực hiện xong xét nghiệm, máy đếm tế bào dòng chảy sẽ báo kết quả dưới dạng hình ảnh thô. Xác định % dương tính của CD41, CD61, CD42a, CD42b,… Ngưỡng thiếu hụt/không thiếu hụt của mỗi CD tùy thuộc vào từng phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.

- Kết quả trả cho người bệnh bao gồm: Kết luận kết quả xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm được thực hiện theo đúng quy định. Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hóa chất, thuốc thử, thiết bị,... và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

- Thực hiện ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Andrew L. Frelinger III, José Rivera, David E. Connor và CS, 12/2021, “Consensus recommendations on flow cytometry for the assessment of inherited and acquired disorders of platelet number and function: Communication from the ISTH SSC Subcommittee on Platelet Physiology” Journal of Thrombosis and Haemostasis, Volume 19, Issue12, Pages 3193 – 3202.

189. XÉT NGHIỆM KHÁNG THỂ KHÁNG BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt hay không của kháng thể kháng bạch cầu trên tế bào bạch cầu hoặc trong huyết thanh của người bệnh.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trên bề mặt bạch cầu có các kháng nguyên bạch cầu (HLA) và kháng nguyên nhóm máu ABO. Trong những điều kiện nhất định, cơ thể có thể sinh các tự kháng thể chống lại các kháng nguyên bạch cầu của chính mình (bệnh giảm bạch cầu miễn dịch) hoặc sinh kháng thể đồng loài chống các kháng nguyên bạch cầu truyền vào. Các kháng thể kháng bạch cầu có thể tồn tại tự do trong huyết tương hoặc đã gắn trên bề mặt bạch cầu. Hầu hết các kháng thể này là kháng thể miễn dịch có bản chất là IgG. Dùng kháng thể đơn dòng gắn huỳnh quang kháng IgG người có thể trực tiếp phát hiện được kháng thế kháng bạch cầu (kháng thể đã gắn lên bạch cầu) hoặc gián tiếp phát hiện kháng thể kháng bạch cầu (kháng thể tự do trong huyết tương).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ kháng thể đơn dòng tương ứng với kháng nguyên trên bề mặt bạch cầu;
- Dung dịch đệm, dung dịch ly giải hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống thuỷ tinh;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;

- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy;
- Máy Vortex;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Người bệnh: 1 ống máu toàn phần được chống đông; 1 ống máu không chống đông.
- Mẫu chứng: bạch cầu chứng; huyết thanh chứng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

-Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị

- Pha hóa chất;
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm;
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Với xét nghiệm kháng thể kháng bạch cầu trực tiếp

- Chuẩn bị bệnh phẩm

+ Ly giải hồng cầu thu cặn bạch cầu;

+ Rửa bạch cầu bằng dung dịch đệm;

+ Pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp.

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin

- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống chứa kháng thể

- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất

- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu

- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều

4.1.5. Với xét nghiệm kháng thể kháng bạch cầu gián tiếp

- Chuẩn bị bệnh phẩm

+ Chuẩn bị bạch cầu giá thể: Ly giải hồng cầu thu cặn bạch cầu; Rửa bạch cầu bằng dung dịch đệm; Pha loãng số lượng bạch cầu về nồng độ thích hợp.

+ Tách huyết thanh người bệnh.

- Mẫn cảm bạch cầu giá thể

+ Ủ bạch cầu giá thể với huyết thanh chứng âm, huyết thanh chứng dương và huyết thanh người bệnh.

+ Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.

+ Sau ủ rửa bạch cầu giá thể đã mẫn cảm huyết thanh người bệnh bằng dung dịch đệm.

+ Tái huyền dịch cặn bạch cầu giá thể đã mẫn cảm huyết thanh người bệnh trong dung dịch đệm.

- Nhỏ kháng thể vào ống đã ghi sẵn thông tin.

- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống chứa kháng thể.

- Trộn đều, ủ tối, ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.

- Rửa mẫu sau phá vỡ hồng cầu.

- Thêm dung dịch đệm 1X vào mỗi ống, trộn đều.

4.1.6. Thao tác trên máy Xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc;

- Nhập thông tin người bệnh;

- Chạy máy xét nghiệm;

- Rửa máy, tắt máy.

4.2. Nhận định kết quả:

- Quan sát trên quần thể bạch cầu, so sánh giữa ống xét nghiệm của người bệnh với ống chứng. Căn cứ tỉ lệ chênh lệch giữa mẫu xét nghiệm với ống chứng âm để kết luận mẫu dương tính hay âm tính.

- Sau khi thực hiện xong xét nghiệm, máy đếm tế bào dòng chảy sẽ báo kết quả dưới dạng hình ảnh thô. Căn cứ tỉ lệ chênh lệch giữa mẫu xét nghiệm với ống chứng âm để kết luận mẫu dương tính hay âm tính. Giá trị ngưỡng dương tính, âm tính tùy thuộc vào từng phòng xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo thực nghiệm nghiên cứu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả xét nghiệm.
- Hoàn thiện hồ sơ và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.
- Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.
- Giải pháp:
- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Vagner Castro, Universidade Estadual de Campinas, 2013, “Platelet antibody detection by flow cytometry: an effective method to evaluate and give transfusional support in platelet refractoriness”, Rev Bras Hematol Hemoter 35 (4).

190. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI CỐ ĐỊNH MIỄN DỊCH HUYẾT THANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI GEL THẠCH/MÀNG CELLULOSE ACETATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn thực hiện xét nghiệm điện di miễn dịch huyết thanh bằng phương pháp điện di gel thach/màng cellulose acetate nhằm phân loại kiểu Globulin đơn dòng, xác định kiểu miễn dịch (Immunotype). Hỗ trợ chẩn đoán, theo dõi điều trị một số bệnh lý tự miễn, nhiễm trùng mạn tính hoặc bệnh gan mạn.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong môi trường pH kiềm, các phân tử Protein tích điện âm sẽ di chuyển về cực dương dưới tác dụng của dòng điện 1 chiều. Các Protein đơn dòng trong huyết thanh (kháng nguyên) sẽ kết hợp với các kháng thể kháng Globulin đơn dòng, tạo nên hình ảnh đỉnh đơn dòng. Dựa vào sự xuất hiện đỉnh sẽ xác định được kiểu hình của Globulin đơn dòng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit Điện di miễn dịch trên gel thach/màng cellulose acetate;
- Dung dịch nhuộm, dung dịch tẩy, dung dịch rửa;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Đầu côn, ống nghiệm chuyên dụng (như Effendof), ống thủy tinh, pipet nhựa;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy điện di trên Gel;
- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần được đựng trong ống không chống đông

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm : họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm. Nhận mẫu, bàn giao mẫu trên phần mềm (nếu có) theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Li tâm ống máu 3500v/5 phút để tách huyết thanh.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.4. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo quy trình.
- Kiểm tra kết quả xét nghiệm của người bệnh rồi in kết quả.

4.1.5. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định.

4.1.6. Tắt máy: Thực hiện theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào kết quả điện di, bác sỹ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ phân tích và kết luận kết quả xét nghiệm theo quy định.

- Kết quả trả cho người bệnh bao gồm: hình ảnh điện di và kết luận kết quả xét nghiệm.

- Giá trị lâm sàng: Kết hợp với kết quả điện di protein, các triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác, bác sỹ điều trị sẽ ra quyết định chẩn đoán người bệnh có rối loạn đơn dòng hay không và kiểu hình rối loạn đơn dòng là gì.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

- Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

John O'Keefe Sha Robinson, Rita Ellerbrook, Jeff Spencer, 2011, *"An Immunofixation Tutorial"*, Helena Laboratories.

191. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI MIỄN DỊCH HUYẾT THANH TRÊN MÁY ĐIỆN DI MAO QUẢN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn thực hiện xét nghiệm điện di miễn dịch bằng phương pháp mao quản nhằm phát hiện có đỉnh protein đơn dòng hay không và đặc điểm miễn dịch của đỉnh đơn dòng trong huyết thanh để giúp chẩn đoán, phân loại bệnh lý đơn dòng.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong môi trường pH kiềm, các phân tử Protein tích điện âm sẽ di chuyển về cực dương dưới tác dụng của dòng điện 1 chiều. Các Protein đơn dòng trong huyết thanh (KN) sẽ kết hợp với các kháng thể kháng Globulin đơn dòng, tạo nên hình ảnh đỉnh đơn dòng. Dựa vào sự xuất hiện đỉnh sẽ xác định được Globulin đơn dòng đó thuộc tuýp Ig (IgG, IgA hay IgM).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit Điện di miễn dịch trên máy mao quản;
- Dung dịch đệm, dung dịch rửa máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Cup pha mẫu (nếu cần);
- Đầu côn, ống xét nghiệm chuyên dùng (như Effendof), rack bệnh phẩm;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định**.**

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy điện di mao quản;
- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần được đựng trong ống không chống đông**.**

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm : họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm. Nhận mẫu, bàn giao mẫu trên phần mềm (nếu có) theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Li tâm ống máu 3500v/5 phút để tách huyết thanh.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.4. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo quy định.
- Kiểm tra kết quả xét nghiệm của người bệnh rồi in kết quả.

4.1.5. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định.

4.1.6. Tắt máy: Thực hiện theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào kết quả điện di, bác sỹ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ phân tích và kết luận kết quả xét nghiệm theo quy định.
- Kết quả trả cho người bệnh bao gồm: hình ảnh điện di và kết luận kết quả xét nghiệm.

- Giá trị lâm sàng: Kết hợp với kết quả điện di protein, các triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác, bác sỹ điều trị sẽ ra quyết định chẩn đoán người bệnh có rối loạn đơn dòng hay không và kiểu hình rối loạn đơn dòng là gì.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...
- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp:

- Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).
- Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

John O'Keefe Sha Robinson, Rita Ellerbrook, Jeff Spencer, 2011, *"An Immunofixation Tutorial"*, Helena Laboratories.

192. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI PROTEIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP MAO QUẢN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn thực hiện xét nghiệm điện di protein bằng phương pháp mao quản để xác định tỷ lệ % các thành phần protein: Albumin, Globulin α1, α2, β, và γ ; tính tỷ lệ A/G ; phát hiện hình ảnh đơn dòng giúp chẩn đoán bệnh lý đơn dòng.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong môi trường pH kiềm, các phân tử Protein tích điện âm sẽ di chuyển về cực dương dưới tác dụng của dòng điện 1 chiều. Quá trình điện di sẽ làm phân tách thành 6 thành phần Protein: Albumin, α1, α2, β1, β2, γ-Globulin dựa vào điện tích của chúng; qua đó cho phép xác định và tính tỉ lệ các thành phần.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch đệm, dung dịch rửa máy;
- Hóa chất nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Cup pha mẫu (nếu cần);
- Đầu côn, ống xét nghiệm chuyên dùng (như Effendof), rack bệnh phẩm;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy điện di mao quản;
- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần được đựng trong ống không chống đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm : họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm. Nhận mẫu, bàn giao mẫu trên phần mềm (nếu có) theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp;
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm;
- Li tâm ống máu 3500v/5 phút để tách huyết thanh.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.4. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo quy định.
- Kiểm tra và chỉnh sửa lại (nếu cần) kết quả xét nghiệm của người bệnh rồi in kết quả.

4.1.5. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định.

4.1.6. Tắt máy: Thực hiện theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào kết quả điện di, bác sỹ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ phân tích và kết luận kết quả xét nghiệm theo quy định.

- Kết quả trả cho người bệnh bao gồm: hình ảnh điện di và kết luận kết quả xét nghiệm.

- Giá trị lâm sàng:

+ Đối với kết quả là hình ảnh đơn dòng: Kết hợp với kết quả điện di miễn dịch trong huyết thanh, các triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác, bác sỹ điều trị sẽ ra quyết định chẩn đoán người bệnh có rối loạn đơn dòng hay không.

+ Đối với kết quả là hình ảnh đa dòng: người bệnh có thể có tình trạng viêm mạn tính, nhiễm khuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

- Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Righetti, P. G., Hamdan, M., Antonucci, F., Verzola, B., and Bossi, A. (2004) *"Electrophoresis of proteins and peptides". J. Chromatogr. Libr*. **69B,** 633–668.

193. XÉT NGHIỆM ĐIỆN DI CỐ ĐỊNH PROTEIN HUYẾT THANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI GEL THẠCH/MÀNG CELLULOSE ACETATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn thực hiện xét nghiệm điện di protein bằng phương pháp điện di gel thạch/màng cellulose acetate dùng để xác định tỷ lệ % của các protein : Albumin, Globulin α1, α2, β, và γ ; tính tỷ lệ A/G; phát hiện hình ảnh đỉnh đơn dòng

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Trong môi trường pH kiềm, các phân tử Protein tích điện âm sẽ di chuyển về cực dương dưới tác dụng của dòng điện 1 chiều. Quá trình điện di sẽ làm phân tách thành 6 thành phần Protein: Albumin, α1, α2, β1, β2, γ-Globulin dựa vào điện tích của chúng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kit Điện di Protein trên gel thạch/màng cellulose acetate
- Dung dịch nhuộm, dung dịch tẩy, dung dịch rửa
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng; Đầu côn
- Ống xét nghiệm chuyên dùng (như Effendof), ống thủy tinh, pipet nhựa;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy điện di trên Gel;
- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Bộ lưu điện
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;

- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần được đựng trong ống không chống đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm : họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm. Nhận mẫu, bàn giao mẫu trên phần mềm (nếu có) theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp;
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm;
- Li tâm ống máu 3500v/5 phút để tách huyết thanh.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ nước thải trên máy xét nghiệm;
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.4. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo quy định.
- Kiểm tra và chỉnh sửa lại (nếu cần) kết quả xét nghiệm của người bệnh rồi in kết quả.

4.1.5. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định.

4.1.6. Tắt máy: Thực hiện theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào kết quả điện di, bác sỹ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ phân tích và kết luận kết quả xét nghiệm theo quy định.

- Kết quả trả cho người bệnh bao gồm: hình ảnh điện di và kết luận kết quả xét nghiệm.

- Giá trị lâm sàng:

+ Đối với kết quả là hình ảnh đơn dòng: Kết hợp với kết quả điện di miễn dịch trong huyết thanh, các triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác, bác sỹ điều trị sẽ ra quyết định chẩn đoán người bệnh có rối loạn đơn dòng hay không.

+ Đối với kết quả là hình ảnh đa dòng: người bệnh có thể có tình trạng viêm mạn tính, nhiễm khuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp: Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

- Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Righetti, P. G., Hamdan, M., Antonucci, F., Verzola, B., and Bossi, A. (2004) “Electrophoresis of proteins and peptides”. J. Chromatogr. Libr. 69B, 633–668.

194. XÉT NGHIỆM HLA-B27 BẰNG KỸ THUẬT FLOWCYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm HLA-B27 bằng flow cytometry nhằm phát hiện sự hiện diện của kháng nguyên HLA-B27 trên bề mặt tế bào lympho T. Kết quả giúp hỗ trợ chẩn đoán, tiên lượng và đánh giá nguy cơ mắc các bệnh lý cột sống huyết thanh âm tính, đặc biệt là viêm cột sống dính khớp.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Xét nghiệm dựa trên khả năng gắn kết của kháng thể đặc hiệu đơn dòng với kháng nguyên HLA-B27 biểu hiện trên bề mặt bạch cầu. Máu toàn phần được ủ với kháng thể kháng HLA-B27. Sau đó, các tế bào hồng cầu sẽ bị phá vỡ bằng dung dịch phá vỡ hồng cầu và thu bạch cầu (bạch cầu không bị ảnh hưởng bởi quá trình đó), đưa vào phân tích theo nguyên lý kỹ thuật Flow Cytometry.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y trung (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm hoá chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm HLA-B27;
- Dung dịch phá vỡ hồng cầu, dung dịch rửa máy, dung dịch chạy máy;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Ống chạy xét nghiệm;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định**.**

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính cho máy xét nghiệm;
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu quét mã barcode;
- Máy đếm tế bào dòng chảy (flow cytometry);
- Máy vortex;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm;
- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần lấy vào ống chứa chất chống đông.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Yêu cầu phiếu chỉ định xét nghiệm có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Chuẩn bị mẫu.

- Pha hóa chất.
- Chuẩn bị hồ sơ.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, đổ rác, nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.
- Chuẩn máy: Nếu chuẩn máy "đạt" tiếp tục chạy mẫu, nếu "không đạt" tiến hành các biện pháp khắc phục theo quy định.

4.1.4. Ủ mẫu với kháng thể:

- Nhỏ kháng thể vào ống chạy máy đã ghi sẵn thông tin.
- Nhỏ mẫu bệnh phẩm vào ống đã chứa sẵn kháng thể.
- Trộn đều, ủ tối ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.
- Thêm dung dịch phá vỡ hồng cầu 1X vào ống.
- Trộn đều, ủ tối ở nhiệt độ phòng, thời gian ủ theo hướng dẫn của hóa chất.

4.1.5. Thao tác trên máy xét nghiệm

- Kéo chương trình làm việc.

- Nhập thông tin người bệnh.
- Chạy máy xét nghiệm.
- Rửa máy, tắt máy theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Phân tích trên quần thể tế bào lympho, dựa vào giá trị trung bình của cường độ tín hiệu huỳnh quang (Mean) HLA-B27 (chú ý: gate phần cường độ tín hiệu tập trung) để nhận định kết quả HLAB27 âm tính hay dương tính.
- Ngưỡng giá trị Mean để nhận định HLAB27 âm tính hay dương tính tùy thuộc vào từng phòng xét nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống máu, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Hút thiếu lượng kháng thể hoặc lượng mẫu đưa vào. Thời gian ủ mẫu hay thời gian phá vỡ hồng cầu chưa đủ gây nhận định kết quả nhầm.

Xử trí: yêu cầu hút đủ lượng kháng thể và lượng mẫu đưa vào. Thời gian ủ mẫu, phá vỡ hồng cầu đúng theo hướng dẫn hóa chất sử dụng.

- Nhập thông tin nhầm;

Xử trí: yêu cầu có người rà soát lại việc nhập thông tin và đưa ống vào chạy máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Gửi mẫu so sánh liên phòng để kiểm tra chất lượng xét nghiệm.
- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

ACS GUIDELINE FOR HLA-B27 IMMUNOPHENOTYPING, Second Edition 2017, Australasian Cytometry Society

195. XÉT NGHIỆM PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HUYẾT SẮC TỐ BẰNG PHƯƠNG PHÁP MAO QUẢN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn thực hiện xét nghiệm điện di huyết sắc tố bằng phương pháp mao quản (Capillary Electrophoresis - CE) nhằm phân tách và định danh các thành phần huyết sắc tố trong máu. Kỹ thuật này giúp phát hiện các bất thường về huyết sắc tố như thalassemia, HbS, HbC, HbE và các hemoglobin biến thể khác.

Kết quả xét nghiệm hỗ trợ chẩn đoán, sàng lọc trước sinh và theo dõi điều trị các bệnh lý huyết học di truyền.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Mẫu máu toàn phần được pha loãng bằng dung dịch tán huyết, sau đó được hút vào đầu mao quản cực dương. Các phân tử sau đó sẽ được phân tách nhờ vào độ linh động điện di của chúng trong mao quản dưới điện trường tạo bởi điện áp cao thế và dòng điện thẩm thấu được tạo bởi dung dịch đệm. Các phân tử hemoglobin được phát hiện trực tiếp ở đầu cực âm của mao quản ở bước sóng hấp thụ thích hợp.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hoá chất

- Dung dịch đệm.
- Dung dịch phá vỡ hồng cầu.
- Dung dịch rửa.
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Đầu côn;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy điện di mao quản
- Máy tính cho máy xét nghiệm
- Máy tính có kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode .

- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lanh bảo quản hoá chất, sinh phẩm
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần được đựng trong ống chống đông EDTA.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm : họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm. Nhận mẫu, bàn giao mẫu trên phần mềm (nếu có) theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, bình chứa nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.4. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo hướng dẫn của nhà sản xuất
- Kiểm tra và xem xét kết quả xét nghiệm, in kết quả.

4.1.5. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định

4.1.6. Tắt máy: Thực hiện theo quy định

4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi thực hiện xong xét nghiệm, máy sẽ báo kết quả dưới dạng hình ảnh điện di. Dựa vào các thông tin trên bác sĩ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ phân tích và kết luận kết quả xét nghiệm theo quy định.

- Trị số bình thường của Huyết sắc tố: được đánh giá theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Ý nghĩa lâm sàng: Sau khi xác định được tỉ lệ phần trăm cho từng loại huyết sắc tố, người phân tích sẽ dựa vào giá trị bình thường của từng loại huyết sắc tố để xác định loại huyết sắc tố đó tăng hay giảm

+ Nếu chỉ có HbA2 giảm và không kèm theo huyết sắc tố bất thường khác thì nghĩ đến tình trạng mang gen alpha thalassemia hoặc thiếu máu thiếu sắt.

+ Nếu chỉ có HbA2 tăng và không có kèm theo huyết sắc tố bất thường khác thì nghĩ đến tình trạng mang gen beta thalassemia.

+ Nếu ngoài HbA1 và HbA2 mà có kèm theo huyết sắc tố bất thường khác thì nghĩ đến tình trạng bệnh thalassemia hoặc bệnh lý huyết sắc tố.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.

- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.

- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp:

- Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm theo đúng quy định (nếu có).

- Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo

khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bremansu Osa-Andrew, Nicole Desimone và CS, October 2021, "Screening for hemoglobinopathy with capillary electrophoresis in adult patients", *American Journal of Clinical Pathology,* Volume 156, Issue Supplement_1

2. Diabetes Diagnostic Laboratory University of Missouri School of Medicine 1 Hospital Dr. Columbia, MO 65212, April 16th 2020, "Sebia Capillary 2 Flex Piercing Hemoglobin Electrophoresis Assay", Laboratory Procedure Manual.

196. XÉT NGHIỆM PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN HUYẾT SẮC TỐ BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn thực hiện xét nghiệm phân tích huyết sắc tố trên máy Ultra2 để xác định tỷ lệ % của các thành phần huyết sắc tố: HbA1, HbA2, HbE, HbF, HbH và Hb Bart's và các biến thể huyết sắc tố khác. Hỗ trợ đánh giá thể bệnh đối với người bệnh Thalassaemia.

1.2. Nguyên lý, định nghĩa

Bệnh phẩm sau khi ly giải hồng cầu được bơm vào cột trao đổi ion đã được cân bằng về lực ion và pH. Dựa vào sự chênh lệch nồng độ của các dung dịch đệm chảy qua cột trao đổi ion, các hemoglobin lần lượt được tách ra và được đo ở bước sóng thích hợp, thể hiện trên đồ thị bằng các đỉnh tương ứng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư:

2.2.1. Dụng cụ

- Các loại pipet tự động phù hợp cho xét nghiệm;
- Cột sắc kí;
- Bút marker, bút bi, barcode, đồng hồ bấm giờ;
- Bàn để giá mẫu, giá chứa mẫu, cup 3ml.

2.2.2. Sinh phẩm, hoá chất

- Dung dịch đệm;
- Dung dịch phá vỡ hồng cầu;
- Dung dịch rửa;
- Hóa chất chuẩn máy, nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có);
- Nước cất, hoá chất khử trùng, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống chân không đựng mẫu;
- Bơm tiêm, bông tẩm cồn vô trùng, dây garo, băng dính miếng;
- Đầu côn, ống Effendof;
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ;
- Giấy lau, thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Bộ máy điện di HPLC
- Máy tính cho máy xét nghiệm
- Máy tính được kết nối phần mềm, máy in, đầu đọc barcode;
- Bộ lưu điện
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- Tủ lanh bảo quản hoá chất, sinh phẩm;

- Máy scan.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu dùng: máu toàn phần được đựng trong ống chống đông EDTA.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm : họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm. Nhận mẫu, bàn giao mẫu trên phần mềm (nếu có) theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mang bảo hộ cá nhân khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm xét nghiệm, dụng cụ, trang thiết bị và rửa tay theo quy định trước và sau khi thực hiện xét nghiệm xong.
- Đảm bảo các điều kiện an toàn về thực hành, điện và phòng tránh cháy nổ, an toàn hóa chất theo quy định.
- Thực hiện theo dõi, kiểm soát, đánh giá để đảm bảo các điều kiện môi trường liên quan đến xét nghiệm như: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin người bệnh trên mẫu bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm.
- Kiểm tra chất lượng và số lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bằng phần mềm hoặc thủ công.

4.1.2. Xử lý mẫu

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm phải trùng khớp.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Ly giải hồng cầu (nếu cần).

4.1.3. Khởi động máy

- Chuẩn bị hóa chất, bình chứa nước thải trên máy xét nghiệm.
- Bật máy tính và máy xét nghiệm.

4.1.4. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện xét nghiệm trên máy theo hướng dẫn của NSX.
- Kiểm tra và xem xét kết quả xét nghiệm, in kết quả.

4.1.5. Bảo dưỡng máy: Thực hiện theo quy định

4.1.6. Tắt máy: Thực hiện theo quy định

4.2. Nhận định kết quả

- Sau khi thực hiện xong xét nghiệm, máy Ultra2 sẽ báo kết quả dưới dạng hình ảnh điện di. Dựa vào các thông tin trên bác sĩ hoặc nhân viên có thẩm quyền sẽ phân tích và kết luận kết quả xét nghiệm theo quy định.

- Trị số bình thường của Huyết sắc tố: được đánh giá theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Ý nghĩa lâm sàng: Sau khi xác định được tỉ lệ phần trăm cho từng loại huyết sắc tố, người phân tích sẽ dựa vào giá trị bình thường của từng loại huyết sắc tố để xác định loại huyết sắc tố đó tăng hay giảm:

+ Nếu chỉ có HbA2 giảm và không kèm theo huyết sắc tố bất thường khác thì nghĩ đến tình trạng mang gen alpha thalassemia hoặc tình trạng thiếu máu thiếu sắt.

+ Nếu chỉ có HbA2 tăng và không có kèm theo huyết sắc tố bất thường khác thì nghĩ đến tình trạng mang gen beta thalassemia.

+ Nếu ngoài HbA1 và HbA2 mà có kèm theo huyết sắc tố bất thường khác thì nghĩ đến tình trạng bệnh thalassemia hoặc bệnh lý huyết sắc tố.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình SOP liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu mẫu, hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: Sai sót về mặt hành chính ở mẫu và giấy chỉ định, chất lượng mẫu không đạt...

- Không đảm bảo điều kiện vận chuyển như: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm.

=> Xử trí: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Thuốc thử không đảm bảo chất lượng.
- Máy xét nghiệm không ổn định.

=> Giải pháp:

- Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả.

=> Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

=> Giải pháp:

- Quản lý người bệnh, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.
- Kiểm tra thuốc thử, hoá chất trước khi sử dụng.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Nội kiểm thực hiện theo đúng quy định. Nếu kết quả không đạt cần kiểm tra lại hoá chất, thuốc thử, thiết bị… và chạy kiểm tra lại. Nếu kết quả chạy lần 2 vẫn không đạt, cần báo cáo lãnh đạo khoa, lập phiếu báo cáo sự không phù hợp và thực hiện hành động khắc phục. Chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi hoàn thành việc khắc phục.

- Ngoại kiểm thực hiện theo đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Henri Wajman, 2003, *"Analysis of Hemoglobins and Globin Chains by High-Performance Liquid Chromatography"*, Methods in Molecular Biology, pp 21-29.

197. ĐẾM SỐ LƯỢNG TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU CD34+ BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật:

Xác định số lượng tế bào gốc tạo máu trong đơn vị tế bào gốc thông qua dấu ấn miễn dịch CD34 bằng kỹ thuật flow cytometry.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý:

- Dựa trên nguyên lý kết hợp đặc hiệu của kháng nguyên và kháng thể, dùng chất màu huỳnh quang để phát hiện các mục tiêu cần tìm.

- Tế bào gốc có dấu ấn CD34 trên bề mặt tế bào, tế bào tạo máu có CD45, TBG tạo máu sẽ có đủ 2 dấu ấn này. 7-Amino-Actinomycin D (7-AAD) là chất huỳnh quang gắn với tế bào chết và không gắn vào tế bào sống. Ủ mẫu với kháng thể đã gắn chất màu huỳnh quang, đặc hiệu với CD34, CD45 và 7-AAD, khi phân tích trên hệ thống máy Flow Cytometry sẽ xác định đúng quần thể TBG tạo máu sống, qua đó tính được số lượng tế bào CD34+ trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ hoặc kỹ thuật y đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).
- Hỗ trợ: 01 nhân viên kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, thuốc thử

- Kit đếm số lượng tế bào CD34 bao gồm: Kháng thể kháng CD34 gắn màu huỳnh quang, Kháng thể kháng CD45 gắn màu huỳnh quang, 7-AAD, Isotype Control, hạt đếm. dung dịch phá hồng cầu NH4Cl Lysing:

+ Cần kiểm tra hạn sử dụng, kết quả đánh giá chất lượng kit đếm trước khi sử dụng.

+ Hạt đếm: trước khi sử dụng lắc đều nhẹ nhàng để trộn đều lọ đựng hoạt đếm (hoặc sử dụng loại ống nghiệm có sẵn hạt đếm).

- Dung dịch pha loãng mẫu: Sử dụng dung dịch Sheath hoặc PBS 1X.
- Hóa chất chuẩn máy.
- Mẫu nội kiểm.
- Hoá chất khử trùng.
- Dung dịch Sheath chạy máy.
- Dung dịch rửa máy.
- Nước cất.
- Mẫu ngoại kiểm.
- Các hóa chất đếm tế bào máu.

2.2.2. Dụng cụ

- Bộ micropipet các loại.
- Đầu côn có màng lọc các loại.
- Ống nhựa chạy máy Flow.
- Ống nhựa chứa chất chống đông EDTA, citrate.
- Găng tay, mũ, khẩu trang, túi đựng rác.

2.3. Trang thiết bị:

- Hệ thống máy Flow Cytometry có chương trình đếm số lượng tế bào CD34.
- Máy vortex.
- Máy tính có kết nối với máy quét barcode và phần mềm phân tích kết quả.
- Thiết bị bảo quản đông lạnh chuyên dụng.
- Tủ lạnh bảo quản mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm hóa chất.
- Bể ổn nhiệt.
- Trang thiết bị đếm tế bào máu;
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Mẫu bệnh phẩm, trang thiết bị

- Tối thiểu 2ml máu tĩnh mạch chống đông EDTA hoặc citrate hoặc heparin.
- Tối thiểu 0.5 ml máu dây rốn, dịch tủy xương, mô mỡ chống đông heparin, citrate hoặc EDTA.
- Tối thiểu 0.5 ml sản phẩm gạn tách từ máu ngoại vi huy động, chống đông citrate.
- Chuẩn bị với mẫu tươi: Từ kết quả đếm số lượng bạch cầu của mẫu, dùng dung dịch Sheath pha loãng mẫu sao cho số lượng bạch cầu còn khoảng 10-20 G/l.
- Chuẩn bị với mẫu rã đông:

+ Rã đông mẫu xét nghiệm trong bể nước ấm 37°C.

+ Từ kết quả đếm số lượng bạch cầu của mẫu, dùng dung dịch Sheath/PBS 1X pha loãng mẫu nếu cần.

2.5. Hồ sơ

Yêu cầu phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Khoa/ phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo blouse khi làm việc.
- Đeo găng tay trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu máu, hóa chất.
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô trước khi chạm vào thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, tìm các dấu hiệu tróc lớp cách điện. Thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành cho xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Ủ mẫu với kháng thể

- Thêm kháng thể vào các ống nhựa chạy máy:

+ Thêm 20 µl 7-AAD.

+ Thêm 20 µl kháng thể kháng CD34 và CD45.

- Hút 100 µl mẫu đã pha loãng vào ống nhựa chạy máy nói trên, vortex đều.
- Ủ hỗn hợp trong 20 phút, điều kiện tối, nhiệt độ phòng.

4.1.2. Phá hồng cầu

- Thêm 2 ml dung dịch NH_4Cl Lysing 1X vào hỗn hợp đã ủ vào ống nhựa chạy máy, trộn đều.
- Tiếp tục ủ trong 10 phút, điều kiện tối ở nhiệt độ phòng.

4.1.3. Trộn hạt đếm và chạy mẫu trên máy flow

- Lấy mẫu đã phá hồng cầu, thêm 100 µl hạt đếm vào ống nhựa chạy máy, trộn đều (không áp dụng nếu sử dụng loại ống đã có sẵn hạt đếm).
- Đặt ống vào đúng vị trí trong máy Flow.
- Chọn chương trình chạy phù hợp.
- Chạy máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Đối chiếu số lượng tế bào (SLTB) CD45+ với số đếm tế bào bạch cầu đếm bằng máy đếm tế bào tự động, kết quả cần phù hợp với nhau.
- Tế bào sống là tế bào âm tính với 7-AAD
- Tế bào CD34+ là tế bào dương tính với kháng thể kháng CD45, CD34, độ tán xạ (SCC-Side scatter) thấp tương đương với các tế bào đơn nhân.
- Cách tính:

SLTB CD34+ = Số đếm CD34+ x Số lần pha loãng x tỷ lệ tế bào sống.

$$\text{SLTB CD34+ trong túi sản phẩm} = \frac{\text{SLTB CD34+} \times \text{Thể tích túi sản phẩm}}{1000}$$

$$\text{Liều tế bào CD34} = \frac{\text{SLTB CD34+ trong túi sản phẩm}}{\text{Cân nặng người bệnh}}$$

* Đơn vị tính: SLTB CD34+, số đếm CD34+: *tế bào/µl*

SLTB CD34+ trong túi sản phẩm: *x 10^6 tế bào*
Thể tích túi sản phẩm: *ml*
Liều tế bào CD34+: *x 10^6 tế bào/kg*

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin
2	Chất lượng mẫu	Để mẫu quá lâu sau rã đông không phân tích, làm tỷ lệ tế bào chết tăng	Đối chiếu thời gian rã đông và thời gian xét nghiệm	Lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Trang thiết bị, dụng cụ	Do máy gặp trục trặc như tắc kim, bất thường hệ thống dịch, đầu cảm nhận huỳnh quang không bắt tín hiệu	Hệ thống máy báo lỗi hoặc không hoạt động	Sửa chữa, bảo dưỡng máy
		Máy tính toán không đúng, chọn sai quần thể	Cửa sổ phân tích trên phần mềm không chọn đúng quần thể	Điều chỉnh phần mềm tính toán
		Pipet hút không đủ lượng mẫu, hóa chất cần thiết	Số lượng tế bào CD45+ chênh lệch nhiều so với số đếm bạch cầu trên máy tự động	Hiệu chỉnh pipet
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất sinh phẩm không bảo quản đúng nhiệt độ, ánh sáng làm hỏng màu huỳnh quang	Tín hiệu huỳnh quang yếu hoặc không có	Kiểm tra lại sinh phẩm, hóa chất, đổi mới

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
3	Nhân viên xét nghiệm	Do kỹ thuật của người làm không tốt, trộn mẫu không tốt làm bạch cầu phân bố không đều trong ống, dẫn đến đếm sai kết quả	Số lượng tế bào CD34 ở chênh lệch quá 10% ở các lần chạy khác nhau	Đào tạo lại nhân viên

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Phân tích kết quả	Tính toán công thức cuối cùng không đúng	Số lượng tế bào CD45 chênh lệch nhiều so với số đếm bạch cầu trên máy tự động	Xem xét lại công thức tính toán

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kết quả chuẩn máy đạt yêu cầu.
- Kết quả được đánh giá đạt yêu cầu khi tín hiệu huỳnh quang không bị nhiễu, các quần thể tế bào phân tách rõ ràng.
- Kết quả nội kiểm đạt yêu cầu.
- Kết quả ngoại kiểm phù hợp với tổ chức ngoại kiểm (nếu có).

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo từ hãng.

Bộ Y tế (2014). Đếm tế bào gốc tạo máu CD34+ bằng máy phân tích tế bào dòng chảy. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành Huyết học – Truyền máu, Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, trang 121-123.

198. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ KHÁNG HLA BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Sàng lọc phát hiện sự có mặt kháng thể kháng HLA trong huyết thanh/huyết tương người bệnh bằng kỹ thuật Luminex.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên nguyên lý kết hợp đặc hiệu của kháng nguyên và kháng thể. sử dụng bộ kháng nguyên đã biết gắn sẵn trên bề mặt các hạt nhựa (hạt bead) (một hạt bead phủ nhiều loại kháng nguyên) để phát hiện các kháng thể kháng HLA có trong huyết thanh người bệnh, dùng chất màu huỳnh quang để phát hiện sự kết hợp kháng nguyên-kháng thể.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ hoặc kỹ thuật y đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).
- Hỗ trợ: 01 nhân viên kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, thuốc thử

- Hóa chất sàng lọc kháng thể kháng HLA:
+ Mẫu chứng âm. chứng dương.
+ Hạt (bead) gắn kháng nguyên,
+ Dung dịch rửa,
+ Hóa chất liên kết huỳnh quang.
- Hóa chất rửa huyết thanh.
- Hóa chất chuẩn máy.
- Dung dịch sheath chạy máy.
- Cồn 70°.
- Nước khử ion.
- Hoá chất khử trùng.
- Mẫu ngoại kiểm.

2.2.2. Dụng cụ

- Bộ micropipet các loại.
- Đầu côn có màng lọc các loại.
- Ống xét nghiệm chuyên dùng 1.5 ml.
- Khay 96 giếng có nắp đậy.
- Khay nhựa đựng ống xét nghiệm chuyên dùng.
- Ống nhựa chứa chất chống đông EDTA.
- Ống nhựa không chứa chất chống đông lấy huyết thanh.
- Găng tay, mũ, khẩu trang, túi đựng rác.

2.2. Trang thiết bị:

- Hệ thống Luminex.
- Máy ly tâm lạnh.
- Máy ly tâm ống máu.

- Máy trộn mẫu vortex có bộ phận lắc cho khay 96 giếng.
- Máy hút chân không.
- Máy tính và phần mềm kết nối với hệ thống Luminex.
- Tủ an toàn sinh học.
- Tủ lạnh bảo quản mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm hóa chất.
- Máy ủ nhiệt có bộ phận lắc liên tục.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.3. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm, trang thiết bị

- 0,5 ml huyết thanh/huyết tương của người bệnh.
- Bật máy tính, máy Luminex.
- Đối chiếu thông tin về người bệnh trên ống đựng mẫu và giấy chỉ định.
- Chuẩn bị giếng chạy mẫu:

+ Ghi mã của mẫu xét nghiệm vào bảng sơ đồ giếng tương ứng với vị trí sẽ tiến hành chạy máy trong hồ sơ.

+ Thêm 300µl nước cất vào mỗi giếng.

+ Sau 2 – 5 phút, loại bỏ dịch bằng máy hút chân không.

+ Chuẩn bị giếng chạy mẫu:

+ Thêm 40µl dung dịch rửa vào mỗi giếng.

+ Vortex ống hạt bead trong 1 phút.

+ Thêm 5µl hạt bead vào mỗi giếng tương ứng.

+ Chuẩn bị dung dịch nhuộm huỳnh quang.

2.4. Hồ sơ

Yêu cầu phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định của đơn vị.

2.5. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.6. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Khoa/ phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo blouse khi làm việc.
- Đeo găng tay trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu máu, hóa chất.
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô trước khi chạm vào thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, tìm các dấu hiệu tróc lớp cách điện. Thay thế nếu cần.

- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

- Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành cho xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Ủ mẫu

- Ủ mẫu với hạt bead gắn kháng nguyên:

+ Thêm 12,5µl huyết thanh chứng/huyết thanh người bệnh vào các giếng tương ứng.

+ Đậy phiến, ủ lắc 30 phút ở nhiệt độ phòng.

- Rửa mẫu:

+ Thêm 100µl dung dịch rửa mỗi giếng, trộn đều nhẹ nhàng bằng pipet.

+ Loại bỏ dịch bằng máy hút chân không.

+ Thêm 250µl dung dịch rửa vào mỗi giếng, sau đó hút chân không bỏ dịch (lặp lại 3 lần).

- Ủ mẫu với chất màu huỳnh quang:

+ Thêm 50µl dung dịch huỳnh quang đã pha vào mỗi giếng.

+ Đậy phiến, ủ lắc 30 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Thêm 130 – 150µl dung dịch rửa mỗi giếng để chạy máy.

4.1.4. Chạy mẫu trên máy Luminex

- Thiết lập chương trình chạy máy, chọn lot hóa chất đang sử dụng.
- Chuyển phiến nhựa chạy mẫu vào máy.
- Chạy máy.

4.1.5. Rửa huyết tương/huyết thanh (nếu cần)

- Chuẩn bị hóa chất rửa huyết thanh.
- Hút hóa chất rửa vào ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml, ghi mã lên ống.
- Chuyển mẫu huyết thanh (hoặc huyết tương) cần rửa vào ống đã có hóa chất rửa và vortex trong vòng 30 giây. Tỷ lệ thể tích hóa chất rửa và mẫu là 1:5.
- Ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trên máy lắc trong vòng 30 phút.
- Chuyển ống mẫu sau khi ủ lên máy ly tâm. Ly tâm 14.000 vòng/phút trong 5 phút.
- Hút 12,5µl huyết thanh sau khi ly tâm sang ống ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml mới để sử dụng.
- Làm lại mẫu đã rửa theo quy trình trên.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiêu chuẩn đạt yêu cầu:

+ Khi tín hiệu các mẫu tự chứng (tín hiệu huỳnh quang của các hạt bead chứng) trong giới hạn cho phép được quy định theo lô của nhà sản xuất và thể hiện trên bảng kết quả phân tích của phần mềm chạy máy.

+ Nếu mẫu bead chứng không đạt yêu cầu, tiến hành rửa huyết tương/ huyết thanh.

- Đánh giá kết quả dựa theo mức độ của tín hiệu phản ứng (theo nhận định kết quả):

+ Nếu mẫu sàng lọc dương tính chuyển tiếp làm xét nghiệm định danh kháng thể.

+ Nếu mẫu sàng lọc âm tính thì tiến hành hoàn thiện phiếu kết quả, duyệt và trả kết quả.

- Đối chiếu với kết quả tiền sử gần nhất: Tra cứu dữ liệu sàng lọc kháng thể kháng HLA của người bệnh làm trước đây và đối chiếu thông tin với kết quả hiện tại.

Bảng 1. Các tình huống đối chiếu kết quả tiền sử và cách xử lý

Kết quả tiền sử	**Kết quả hiện tại**	**Xử lý**	**Thông tin phản hồi**	**Kết luận kết quả**
Không có	Dương tính/âm tính	Không		Kết luận theo kết quả hiện tại
Âm tính	Âm tính	Không		Kết luận theo kết quả hiện tại
Dương tính	Dương tính (tương đương)	Không		Kết luận theo kết quả hiện tại
Âm tính	Dương tính	Liên hệ nơi gửi xét nghiệm	Không liên hệ được	Kết luận theo kết quả hiện tại
Dương tính	Dương tính mạnh hơn		Người bệnh có khả năng phơi nhiễm với bạch cầu giữa 2 thời điểm xét nghiệm (truyền máu, thai nghén, ghép tế bào gốc…) trong thời gian < 6 tháng	Kết luận theo kết quả hiện tại
			Người bệnh không có phơi nhiễm với bạch cầu trong thời gian < 6 tháng	Ghi chú: "*đề nghị gửi mẫu xét nghiệm lại nếu được"* vào phiếu trả kết quả
Dương tính	Âm tính	Liên hệ nơi gửi xét nghiệm	Không liên hệ được	Kết luận theo kết quả hiện tại
			Người bệnh được lọc huyết tương loại bỏ kháng thể trong cơ thể.	Kết luận theo kết quả hiện tại

Kết quả tiền sử	Kết quả hiện tại	Xử lý	Thông tin phản hồi	Kết luận kết quả
Dương tính	Dương tính yếu hơn		+ Thời gian xét nghiệm cách nhau ≥ 6 tháng mà không có phơi nhiễm với bạch cầu.	
			+ Người bệnh không có can thiệp gì hoặc + Vẫn phơi nhiễm với bạch cầu trong thời gian < 6 tháng.	Ghi chú: "*đề nghị gửi mẫu xét nghiệm lại nếu được"* vào phiếu trả kết quả

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, sai thông tin hành chính	Đối chiếu giấy chỉ định, ống mẫu khi bàn giao mẫu	Từ chối nhận mẫu
2	Chất lượng mẫu	Mẫu bị vỡ hồng cầu	Huyết thanh/huyết tương có màu hồng cánh sen	Từ chối nhận mẫu, đề nghị lấy lại mẫu
		Mẫu có nhiều chất gây nhiễu tín hiệu huỳnh quang, đặc biệt lớp lipid	Tín hiệu tự chứng không nằm trong giới hạn chuẩn	- Khi lấy huyết tương/huyết thanh cần tránh hút vào lớp lipid nổi ở bề mặt. - Rửa mẫu bằng hóa chất rửa Serum Cleaner.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Trang thiết bị, dụng cụ	Tắc kim hút mẫu hoặc hệ thống dịch lỏng trong máy Luminex	Máy báo áp lực hút bất thường Báo lỗi khi chuẩn máy.	Báo kỹ sư rửa, vệ sinh kim hút, hệ thống ống dẫn.
		Màng lọc của phiến chạy mẫu bị rò rỉ	Dịch bị rò rỉ ở bên dưới phiến	Thay giếng khác, chạy lại xét

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
			Hút mẫu không có hạt và không đếm được	nghiệm trên giếng mới.
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định	Mẫu nội kiểm không đạt yêu cầu	Chạy kiểm tra lại mẫu bằng hóa chất còn hạn sử dụng và bảo quản đúng.
3	Nhân viên xét nghiệm	Thao tác không tốt	Không lên tín hiệu	Làm lại

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Phân tích kết quả	Chưa cập nhật phần mềm chạy mẫu và phân tích	Máy không phân tích được kết quả	Cập nhật phần mềm chạy mẫu và phần mềm phân tích kết quả
		Chọn nhầm lot trên phần mềm	Kết quả không phù hợp	Chọn lot đúng

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kết quả nội kiểm đạt yêu cầu.
- Kết quả ngoại kiểm phù hợp với tổ chức ngoại kiểm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo từ hãng.

Julia Cunniffe, David Lowe, Kelly J. Cunniffe, David D. Gae (2017). Transfusion-induced HLA *antibodies* are transient and do not rebound following heart transplantation. *Human Immunology,* 78:58.

199. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG HLA VỚI PANEL PHẢN ỨNG (PRA) BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định danh kháng thể trong máu người bệnh kháng HLA đặc hiệu của người hiến với panel phản ứng (PRA) bằng kỹ thuật Luminex.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên nguyên lý kết hợp đặc hiệu của kháng nguyên và kháng thể. sử dụng bộ kháng nguyên đã biết gắn sẵn trên bề mặt các hạt (bead) (một hạt bead phủ một vài loại kháng nguyên) để phát hiện các kháng thể đặc hiệu có trong huyết thanh người bệnh, dùng chất màu huỳnh quang để phát hiện sự kết hợp kháng nguyên-kháng thể.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ hoặc kỹ thuật y đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).
- Hỗ trợ: 01 nhân viên kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, thuốc thử

- Hóa chất định danh panel kháng thể kháng HLA class I, class II:
+ Mẫu chứng âm, chứng dương,
+ Hạt bead gắn kháng nguyên (class I và class II),
+ Dung dịch rửa,
+ Hóa chất liên kết huỳnh quang
- Hóa chất rửa huyết thanh.
- Hóa chất chuẩn máy.
- Dung dịch sheath chạy máy.
- Cồn 70°.
- Nước khử ion.
- Hoá chất khử trùng.

2.2.2. Dụng cụ

- Bộ micropipet các loại.
- Đầu côn có màng lọc các loại.
- Ống xét nghiệm chuyên dụng 1,5ml.
- Khay 96 giếng có nắp đậy.
- Khay nhựa đựng ống xét nghiệm chuyên dùng
- Ống nhựa chứa chất chống đông EDTA.
- Ống nhựa không chứa chất chống đông lấy huyết thanh.
- Găng tay, mũ, khẩu trang, túi đựng rác.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống Luminex.
- Máy ly tâm lạnh.
- Máy ly tâm ống máu.

- Máy trộn mẫu vortex có bộ phận lắc cho khay 96 giếng.
- Máy hút chân không.
- Máy tính và phần mềm kết nối với hệ thống Luminex.
- Tủ an toàn sinh học.
- Tủ lạnh bảo quản mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm hóa chất.
- Máy ủ nhiệt có bộ phận lắc liên tục.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm, trang thiết bị

- 0,5ml huyết thanh/huyết tương của người bệnh.
- Bật máy tính, máy Luminex.
- Đối chiếu thông tin về người bệnh trên ống đựng mẫu và giấy chỉ định.
- Chuẩn bị giếng chạy mẫu:

+ Thêm 300µl nước cất vào mỗi giếng chạy mẫu trên phiến 96 giếng.
+ Sau 2 – 5 phút, loại bỏ dịch bằng máy hút chân không.

- Chuẩn bị giếng chạy mẫu:

+ Thêm 40µl dung dịch rửa vào mỗi giếng.
+ Vortex ống hạt bead trong 1 phút.
+ Thêm 5µl hạt bead vào mỗi giếng tương ứng.
+ Chuẩn bị dung dịch nhuộm huỳnh quang.

2.5. Hồ sơ

Yêu cầu phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Khoa/ phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo blouse khi làm việc.
- Đeo găng tay trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu máu, hóa chất.
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô trước khi chạm vào thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, tìm các dấu hiệu tróc lớp cách điện. Thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

- Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành cho xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Ủ mẫu

- Ủ mẫu với hạt bead gắn kháng nguyên:

+ Thêm 12,5µl huyết thanh chứng/huyết thanh người bệnh vào các giếng tương ứng.

+ Đậy phiến, ủ lắc 30 phút ở nhiệt độ phòng.

- Rửa mẫu:

+ Thêm 100µl dung dịch rửa mỗi giếng, trộn đều nhẹ nhàng bằng pipet.

+ Loại bỏ dịch bằng máy hút chân không.

+ Thêm 250µl dung dịch rửa vào mỗi giếng, sau đó hút chân không bỏ dịch (lặp lại 3 lần).

- Ủ mẫu với chất màu huỳnh quang:

+ Thêm 50µl dung dịch huỳnh quang đã pha vào mỗi giếng.

+ Đậy phiến, ủ lắc 30 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Thêm 130 – 150µl dung dịch rửa mỗi giếng để chạy máy.

4.1.2. Chạy mẫu trên máy Luminex

- Thiết lập chương trình chạy máy, chọn lot hóa chất đang sử dụng.
- Chuyển phiến nhựa chạy mẫu vào máy.
- Chạy máy.

4.1.3. Rửa huyết tương/huyết thanh (nếu cần)

- Chuẩn bị hóa chất rửa huyết thanh.
- Hút hóa chất rửa vào ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml, ghi mã lên ống.
- Chuyển mẫu huyết thanh (hoặc huyết tương) cần rửa vào ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml đã có hóa chất rửa và vortex trong vòng 30 giây. Tỷ lệ thể tích hóa chất rửa và mẫu là 1:5.
- Ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trên máy lắc trong vòng 30 phút.
- Chuyển ống mẫu sau khi ủ lên máy ly tâm. Ly tâm 14.000 vòng/phút trong 5 phút.
- Hút 12,5µl huyết thanh sau khi ly tâm sang ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml mới để sử dụng.
- Làm lại mẫu đã rửa theo quy trình trên.

4.2. Nhận định kết quả

- Tiêu chuẩn đạt yêu cầu:

+ Khi tín hiệu các mẫu tự chứng (tín hiệu huỳnh quang của các hạt bead chứng) trong giới hạn cho phép được quy định theo lô của nhà sản xuất và thể hiện trên bảng kết quả phân tích của phần mềm chạy máy.

+ Nếu mẫu bead chứng không đạt yêu cầu, tiến hành rửa huyết tương/ huyết thanh.

- Khi tín hiệu mẫu bead chứng đạt yêu cầu, dựa vào kết quả tín hiệu dương tính và âm tính của các kháng nguyên để nhận định loại kháng thể có trong huyết thanh như mô tả trong nhận định kết quả.

- Đọc kết quả bước định danh.

+ Dựa trên mức tin hiệu "raw value" và màu sắc của biểu đồ, màu đỏ là dương tính còn màu xanh là âm tính.

+ Dựa vào các kháng nguyên HLA có trên các hạt dương tính và không có trên các hạt âm tính để tìm ra kháng thể tương ứng có trong huyết thanh/huyết tương của người bệnh như sau:

o. Lựa chọn những kháng nguyên nằm trong quần thể hạt dương tính và không nằm trong quần thể hạt âm tính.

o. Lựa chọn ưu tiên những kháng nguyên nằm ở hạt bead có cường độ huỳnh quang từ cao xuống thấp.

o. Loại trừ những kháng nguyên nằm trên những hạt bead âm tính.

- Đối chiếu với kết quả tiền sử gần nhất: Tra cứu dữ liệu sàng lọc kháng thể kháng HLA của người bệnh làm trước đây và đối chiếu thông tin với kết quả hiện tại.

Bảng 1. Các tình huống đối chiếu kết quả tiền sử và cách xử lý

<table>
<tr><th>Kết quả tiền sử</th><th>Kết quả hiện tại</th><th>Xử lý</th><th>Thông tin phản hồi</th><th>Kết luận kết quả</th></tr>
<tr><td>Không có</td><td>Dương tính/âm tính</td><td>Không</td><td></td><td>Kết luận theo kết quả hiện tại</td></tr>
<tr><td>Âm tính</td><td>Âm tính</td><td>Không</td><td></td><td>Kết luận theo kết quả hiện tại</td></tr>
<tr><td>Dương tính</td><td>Dương tính (tương đương)</td><td>Không</td><td></td><td>Kết luận theo kết quả hiện tại</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Âm tính</td><td rowspan="2">Dương tính</td><td rowspan="3">Liên hệ nơi gửi xét nghiệm</td><td>Không liên hệ được</td><td>Kết luận theo kết quả hiện tại</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Người bệnh có khả năng phơi nhiễm với bạch cầu giữa 2 thời điểm xét nghiệm (truyền máu, thai nghén, ghép tế bào gốc…) trong thời gian < 6 tháng</td><td rowspan="2">Kết luận theo kết quả hiện tại</td></tr>
<tr><td>Dương tính</td><td>Dương tính mạnh hơn</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>Người bệnh không có phơi nhiễm với bạch cầu trong thời gian < 6 tháng</td><td>Ghi chú: "đề nghị gửi mẫu xét nghiệm lại nếu được" vào phiếu trả kết quả</td></tr>
</table>

Kết quả tiền sử	Kết quả hiện tại	Xử lý	Thông tin phản hồi	Kết luận kết quả
Dương tính	Âm tính	Liên hệ nơi gửi xét nghiệm	Không liên hệ được	Kết luận theo kết quả hiện tại
			Người bệnh được can thiệp thủ thuật loại bỏ kháng thể trong cơ thể Thời gian xét nghiệm cách nhau ≥ 6 tháng mà không có phơi nhiễm với bạch cầu.	Kết luận theo kết quả hiện tại
Dương tính	Dương tính yếu hơn		Người bệnh không có can thiệp gì hoặc Vẫn phơi nhiễm với bạch cầu trong thời gian < 6 tháng.	Ghi chú: "*đề nghị gửi mẫu xét nghiệm lại nếu được"* vào phiếu trả kết quả

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, sai thông tin hành chính	Đối chiếu giấy chỉ định, ống mẫu khi bàn giao mẫu	Từ chối nhận mẫu
2	Chất lượng mẫu	Mẫu bị vỡ hồng cầu	Huyết thanh/huyết tương có màu hồng cánh sen	Từ chối nhận mẫu, đề nghị lấy lại mẫu
		Mẫu có nhiều chất gây nhiễu tín hiệu huỳnh quang, đặc biệt lớp lipid	Tín hiệu tự chứng không nằm trong giới hạn chuẩn	- Khi lấy huyết tương/huyết thanh cần tránh hút vào lớp lipid nổi ở bề mặt. - Rửa mẫu bằng hóa chất rửa Serum Cleaner.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Trang thiết bị, dụng cụ	Tắc kim hút mẫu hoặc hệ thống dịch lỏng trong máy Luminex	Máy báo áp lực hút bất thường Báo lỗi khi chuẩn máy.	Báo kỹ sư rửa, vệ sinh kim hút, hệ thống ống dẫn.
		Màng lọc của phiến chạy mẫu bị rò rỉ	Dịch bị rò rỉ ở bên dưới phiến Hút mẫu không có hạt và không đếm được	Thay giếng khác, chạy lại xét nghiệm trên giếng mới.
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất hết hạn, không được bảo quản theo đúng quy định	Mẫu nội kiểm không đạt yêu cầu	Chạy kiểm tra lại mẫu bằng hóa chất còn hạn sử dụng và bảo quản đúng.
3	Nhân viên xét nghiệm	Thao tác không tốt	Không lên tín hiệu	Làm lại

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Phân tích kết quả	Chưa cập nhật phần mềm chạy mẫu và phân tích	Máy không phân tích được kết quả	Cập nhật phần mềm chạy mẫu và phần mềm phân tích kết quả
		Chọn nhầm lot trên phần mềm	Kết quả không phù hợp	Chọn lot đúng

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kết quả nội kiểm đạt yêu cầu.
- Kết quả ngoại kiểm phù hợp với tổ chức ngoại kiểm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo từ hãng.

Julia Cunniffe, David Lowe, Kelly J. Cunniffe, David D. Gae (2017). Transfusion-induced HLA antibodies are transient and do not rebound following heart transplantation. *Human Immunology*, 78:**58**.

200. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ KHÁNG HLA BẰNG KỸ THUẬT ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm này nhằm sàng lọc kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA của người nhận tạng: thận, gan, tim… hoặc tế bào gốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Là xét nghiệm phát hiện kháng thể HLA bằng việc dùng các kháng nguyên HLA gắn trên phiến nhựa qua phản ứng miễn dịch gắn men (ELISA).

1.2.2. Nguyên lý

- Kháng nguyên HLA đã biết được gắn trên các giếng nhựa, huyết thanh người bệnh được cho vào các giếng cùng với kháng kháng thể gắn enzyme. Sau khi rửa trôi, cơ chất của enzyme được thêm vào, nếu kháng thể kháng HLA có hiện diện, enzyme trên kháng kháng thể còn cố định lại trong giếng sẽ hoạt hóa enzyme tạo ra chất màu.
- Sử dụng kháng nguyên HLA đã biết trước nhằm phát hiện các kháng thể IgG của HLA class I và HLA class II trong huyết thanh.
- Các kháng thể và kháng nguyên khi kết hợp với nhau sẽ được phát hiện nhờ kháng kháng thể IgG có gắn alkaline- phosphate.
- Khi cho cơ chất của enzyme vào thì enzyme của phức hợp sẽ thuỷ phân cơ chất thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng thể với kháng nguyên. Thông qua cường độ màu được đo bằng máy quang phổ kế mà biết được sự hiện diện kháng thể kháng HLA trong huyết thanh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư, hóa chất

- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Gạc sạch.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng rác thải y tế, rác thải thông thường và rác thải tái chế.
- Ống không có chất chống đông.
- Ống ly tâm 2mL, giá để ống nghiệm.
- Pipet 10µl, 100µl, 200 µl và 1000µl, đầu côn.
- Cồn, dung dịch sát khuẩn.
- Túi bóng, bút marker, giấy lụa.
- Bộ kít phát hiện kháng thể kháng HLA bằng phương pháp ELISA.

2.3. Trang thiết bị

- Tủ lạnh âm sâu, tủ lạnh để sinh phẩm,

- Máy ly tâm, máy vortex, máy spin down,
- Máy ủ, lắc nhiệt,
- Máy đọc ELISA,
- Phần mềm phân tích HLA Fusion,
- Hệ thống thông tin bệnh viện,
- Hệ thống thông tin phòng xét nghiệm,
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 2 - 4 ml máu trong ống không có chất chống đông.
- Bảo quản ở nhiệt độ phòng và xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu xét nghiệm

- Xét nghiệm sàng lọc kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA.
- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4.0 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm
- Nguyên tắc an toàn:

+ Luôn mặc áo công tác trong quá trình thực hiện công việc.

+ Luôn đeo găng khi tiếp xúc và làm việc trực tiếp với mẫu bệnh phẩm.

+ Khử khuẩn mặt bàn làm việc trước, trong và sau quá trình xét nghiệm.

+ Thiết bị phòng xét nghiệm phải có dây nối đất; có nguồn điện dự phòng

+ Trang bị, đào tạo nhân viên về phòng, chữa cháy

+ Thực hiện đúng quy định về xử lí rác, thải, chống nhiễm khuẩn bệnh viện.

+ Thực hiện rửa tay theo quy trình rửa tay thường quy.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện :

4.1.1. Chuẩn bị máy ủ, lắc nhiệt, máy đọc ELISA và phần mềm phân tích

- Kiểm tra trước khi bật hệ thống máy:

+ Kiểm tra ổ điện, hệ thống máy tính, máy in đi kèm theo từng máy, điều kiện môi trường, …

- Bật hệ thống máy:

+ Khởi động máy tính, đăng nhập vào phần mềm phân tích.

+ Khởi động máy ủ, lắc nhiệt, máy đọc ELISA.

+ Kiểm tra kết nối của máy đọc và phần mềm phân tích.

4.1.2. Nhận, chuẩn bị bệnh phẩm

- Nhận mẫu, đủ tiêu chuẩn về chất lượng mẫu theo quy trình trước xét ghiệm.
- Ly tâm mẫu 3000v/10 phút tách lấy huyết thanh.

4.1.3. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất

- Chuẩn bị hóa chất đầy đủ trước khi thực hiện xét nghiệm.
- Làm sạch bề mặt tủ an toàn sinh học và các dụng cụ sử dụng.
- Khi sử dụng bộ kít lần đầu tiên pha **serum control** với 0,2 ml nước cất

(đi kèm kit), pha trước khi tiến hành xét nghiệm ít nhất 20 phút ở nhiệt độ phòng Sau đó chia thành vào các tube nhỏ 8µl (10X)/ tube sau đó bảo quản ở tủ -20^{0}C, mỗi lần tiến hành sử dụng 1 tube (pha loãng với 72µl **Antibody Diluent** để được 80µl Serum control 1X).

- Chuẩn bị 2ml dung dịch Antibody diluents riêng vào ống nghiệm chuyên dụng 2,0ml (dùng đủ cho 1 khay).

- Khi tiến hành xét nghiệm pha loãng 125µl huyết thanh người bệnh với 375µl **Antibody diluent.**

- Pha 8µl **serum control** (10X) với 72µl **Antibody diluent.**

- Pha 5ml Buffer rửa 10X với 45 ml nước cất (đủ để rửa 4 lần/ 1 khay).

4.1.4. Tiến hành kỹ thuật

- Cho 10µl huyết thanh người bệnh (đã pha loãng) và serum control, Antibody diluent vào các giếng đã quy định.

- Đậy nắp phiến và ủ ở **20-25^{0}C/ 1h.**

- Pha 10µl **Alkaline phosphatase kiềm gắn anti-human IgG 100X** với 990µl **Antibody diluent.**

- Sau bước ủ dùng tay vẩy mạnh khay để loại bỏ dung dịch ở các giếng. Úp ngược nhanh phiến và đập mạnh vào khăn giấy để thấm dịch. Trong giếng phải còn lại khoảng 1µl dung dịch. Để phiến úp ngược hoặc lật trở lại lúc đầu. (Lưu ý: không để các giếng bị khô).

- Nhỏ 15-20 µl buffer rửa 1X vào mỗi giếng (pipet 6 kênh). Xoay nhẹ khay. Loại bỏ buffer rửa từ các giếng như bước 3. Lặp lại bước rửa 2 lần.

- Cho 10 µl dung dịch **AP gắn anti-human IgG (**đã pha loãng) vào mỗi giếng.

- Đậy nắp phiến ủ ở **20-25^{0}C/40 phút.**

- Trước bước rửa lần 2**:** Pha 500µl **enzyme A** và 500µl **enzym B.**

- Loại bỏ dung dịch **AP gắn anti-human IgG** từ các giếng như bước4 (Lưu ý: *Không để các giếng bị khô).*

- Lặp lại 3 - 4 lần bước 5. Dịch còn lại trong giếng phải còn lại khoảng 1 µl.

- Cho 10µl enzyme đã pha vào mỗi giếng.

- Đậy nắp phiến và ủ ở **37^{0}C/10-15 phút** trong tối.

- Cho 5µl dung dịch **Stop reagent** vào mỗi giếng. Đậy nắp phiến và ủ 15 phút.

- Đặt phiến vào máy đọc ELISA, chọn chương trình thích hợp, và máy đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả trong vòng 1h với đầu đọc ELISA. Phân tích kết quả trên phần mềm phân tích HLA Fusion.

- Mẫu đạt tiêu chuẩn là mẫu có các giếng chứng âm, chứng dương đủ tiêu chuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả xét nghiệm được trả và lưu trữ trên hệ thống thông tin phòng xét nghiệm/ bệnh viện.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót thông tin hành chính của người bệnh. Cần kiểm soát kĩ đầu vào.
- Sai loại, thể tích mẫu bệnh phẩm. Cần lấy lại mẫu đạt tiêu chuẩn.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhầm lẫn hóa chất. Cần đọc kĩ các loại hóa chất trước khi pha, có thể đánh dấu trên nắp hoặc thân từng loại hóa chất để dễ phân biệt.
- Sai quy trình. Cần sẵn sàng quy trình tại bàn thực hiện kỹ thuật, nhân viên thực hiện kỹ thuật phải theo đúng từng bước trong quy trình, có đồng hồ hẹn giờ…

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nếu cường độ màu ở các giếng chứng âm cao hơn cho phép, có thể do các bước rửa chưa đạt. Cần thực hiện lại xét nghiệm, chú ý các bước rửa.
- Nếu cường độ màu ở các giếng chứng dương thấp hơn cho phép, có thể do các bước rửa quá mạnh. Cần thực hiện lại xét nghiệm, chú ý các bước rửa.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm và đánh giá kết quả nội kiểm theo quy định.
- Tham gia đánh giá kết quả ngoại kiểm/so sánh liên phòng (nếu có).
- Bảo dưỡng máy định kỳ hàng ngày, hàng tuần và hàng tháng theo quy định.
- Hóa chất, vật tư trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra/đánh giá theo quy định, đảm bảo chất lượng và đủ cơ số hóa chất, vật tư để thực hiện xét nghiệm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Phấn (2014), Kháng nguyên bạch cầu (Hệ HLA), Bài giảng Huyết học – Truyền máu, NXB Y học, 50 - 56.

2. Quyết định số 3336/QĐ-BYT (2017), về việc ban hành tài liệu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học – Truyền máu – Miễn dịch – Di truyền – Sinh học phân tử, số thự tự 49.

3. Nguyễn Triệu Vân, Đỗ Trung Phấn (2010), Kỹ thuật định nhóm kháng nguyên bạch cầu (HLA), Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, 233 – 236.

201. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG HLA BẰNG KỸ THUẬT ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm này nhằm định danh cụ thể kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA. Khi kết quả sàng lọc kháng thể kháng HLA dương tính thì tiến hành định danh cụ thể kháng thể kháng HLA.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Là xét nghiệm định danh kháng thể HLA bằng việc dùng các kháng nguyên HLA riêng biệt gắn trên phiến nhựa qua phản ứng miễn dịch gắn men (ELISA).

1.2.2. Nguyên lý

- Kháng nguyên (KN) HLA đã biết được gắn trên các giếng nhựa. Cho huyết thanh người bệnh cùng với kháng kháng thể gắn enzyme vào các giếng. Sau khi rửa trôi, thêm cơ chất của enzyme vào giếng; nếu có mặt trong huyết thanh thì KT kháng HLA tương ứng cố định lên KN và giữ kháng kháng thể gắn enzyme lại trên giếng. Cơ chất sẽ hoạt hóa enzyme tạo ra chất màu.

- Khi cho cơ chất của enzyme vào thì enzyme của phức hợp sẽ thuỷ phân cơ chất thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng thể với kháng nguyên. Thông qua cường độ màu được đo bằng máy quang phổ kế mà biết được sự hiện diện kháng thể kháng HLA trong huyết thanh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 02 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Gạc sạch.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng rác thải y tế, rác thải thông thường và rác thải tái chế.
- Ống không có chất chống đông.
- Ống ly tâm 2mL, giá để ống nghiệm.
- Pipet 10µl, 100µl, 200 µl và 1000µl, đầu côn.
- Cồn, dung dịch sát khuẩn.
- Túi bóng, bút marker, giấy lụa.

2.3. Hóa chất:

- Bộ kít định danh kháng thể kháng HLA bằng phương pháp ELISA. Ví dụ: bộ kít LAT 1240, LAT 1288 (One Lambda)…
- Sinh phẩm nội kiểm, ngoại kiểm, khử khuẩn

2.4. Trang thiết bị

- Tủ lạnh âm sâu, tủ lạnh để sinh phẩm.
- Máy ly tâm, máy vortex, máy spin down.

- Máy ủ, lắc nhiệt.
- Máy đọc ELISA.
- Phần mềm phân tích HLA Fusion.
- Hệ thống thông tin bệnh viện (Hospital information system – HIS).
- Hệ thống thông tin phòng xét nghiệm (Laboratory information system – LIS).
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.5. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- 2 - 4 ml máu ngoại vi không có chất chống đông.
- Bảo quản ở nhiệt độ phòng và xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.6. Phiếu xét nghiệm

- Xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA bằng kỹ thuật ELISA.
- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4.0 giờ.

2.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

+ Luôn mặc áo công tác trong quá trình thực hiện công việc.
+ Luôn đeo găng khi tiếp xúc và làm việc trực tiếp với mẫu bệnh phẩm.
+ Khử khuẩn mặt bàn làm việc trước, trong và sau quá trình xét nghiệm.
+ Thiết bị phòng xét nghiệm phải có dây nối đất; có nguồn điện dự phòng
+ Trang bị, đào tạo nhân viên về phòng, chữa cháy
+ Thực hiện đúng quy định về xử lí rác thải, chống nhiễm khuẩn bệnh viện.
+ Thực hiện rửa tay theo quy trình rửa tay thường quy.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện :

Bước 1. Chuẩn bị máy ủ, lắc nhiệt, máy đọc ELISA và phần mềm phân tích

Bước 2. Kiểm tra chất lượng: Hệ thống máy và các bộ sinh phẩm hóa chất

Bước 3. Nhận và đánh giá ống bệnh phẩm

Nhận mẫu bệnh phẩm được đánh giá đủ các tiêu chuẩn về chất lượng

Bước 4. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất:

- Làm sạch bề mặt tủ an toàn sinh học và các dụng cụ sử dụng.
- Ly tâm mẫu 3000v/10 phút tách lấy huyết thanh.
- Lần đầu sử dụng bộ kít: pha serum control với 0,2 ml nước cất (đi kèm kit), pha trước khi xét nghiệm ít nhất 20 phút ở nhiệt độ phòng; sau đó chia vào các tube nhỏ 8µl (10X), rồi bảo quản ở tủ -200C; mỗi lần xét nghiệm sử dụng 1 tube (pha loãng với 72µl **Antibody Diluent** để được 80µl Serum control 1X).
- Chuẩn bị 2ml dung dịch Antibody diluents riêng vào ống Eppendorf 2,0ml (dùng đủ cho 1 khay).
- Khi xét nghiệm, pha 125µl huyết thanh người bệnh với 375µl **Antibody diluent.**
- Pha 8µl **serum control** (10X) với 72µl **Antibody diluent.**
- Pha 5ml Buffer rửa 10X với 45 ml nước cất (đủ để rửa 4 lần/ 1 khay).

Bước 5. Tiến hành kỹ thuật

- Cho 10µl huyết thanh người bệnh (đã pha loãng) và serum control, Antibody diluent vào các giếng đã quy định.

- Đậy nắp phiến và ủ ở **20-25^{0}C/ 1h.**

- Pha 10µl **Alkaline phosphatase kiềm gắn anti-human IgG 100X** với 990µl **Antibody diluent.**

- Sau bước ủ dùng tay vẩy mạnh khay để loại bỏ dung dịch ở các giếng. Úp ngược nhanh phiến và đập mạnh vào khăn giấy để thấm dịch. Trong giếng phải còn lại khoảng 1µl dung dịch. Để phiến úp ngược hoặc lật trở lại lúc đầu. (Lưu ý: không để các giếng bị khô).

- Nhỏ 15-20 µl buffer rửa 1X vào mỗi giếng (pipet 6 kênh). Xoay nhẹ khay. Loại bỏ buffer rửa từ các giếng như bước 3. Lặp lại bước rửa 2 lần.

- Cho 10 µl dung dịch **AP gắn anti-human IgG (**đã pha loãng) vào mỗi giếng.

- Đậy nắp phiến ủ ở **20-25^{0}C/40 phút.**

- Trước bước rửa lần 2**:** Pha 500µl **enzyme A** và 500µl **enzym B** .

- Loại bỏ dung dịch **AP gắn anti-human IgG** từ các giếng như bước4 (Lưu ý: *Không để các giếng bị khô).*

- Lặp lại 3 - 4 lần bước 5. Dịch còn lại trong giếng phải còn lại khoảng 1 µl

- Cho 10µl enzyme đã pha vào mỗi giếng.

- Đậy nắp phiến và ủ ở **37^{0}C/10-15 phút** trong tối.

- Cho 5µl dung dịch **Stop reagent** vào mỗi giếng. Đậy nắp phiến và ủ 15 phút.

- Đặt phiến vào máy đọc ELISA, chọn chương trình thích hợp, và máy đọc kết quả.

- Phân tích kết quả trên phần mềm chuyên dụng để tìm loại kháng thể kháng HLA.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả trong vòng 1 giờ với đầu đọc ELISA. Phân tích kết quả trên phần mềm phân tích HLA Fusion.

- Mẫu đạt tiêu chuẩn là mẫu có các giếng chứng âm, chứng dương đủ tiêu chuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Kết quả xét nghiệm được trả và lưu trữ trên hệ thống thông tin phòng xét nghiệm/ bệnh viện.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót thông tin hành chính của người bệnh. Cần kiểm soát kĩ đầu vào.

- Sai ống mẫu bệnh phẩm về loại ống hoặc thể tích. Cần lấy lại mẫu đạt tiêu chuẩn.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhầm lẫn giữa các loại hóa chất. Cần đọc kĩ các loại hóa chất trước khi pha thực hiện kỹ thuật, có thể đánh dấu trên nắp hoặc thân từng loại hóa chất để dễ phân biệt.

- Nhầm lẫn giữa các bước trong quy trình. Cần sẵn sàng quy trình tại bàn

thực hiện kỹ thuật, nhân viên thực hiện kỹ thuật phải theo đúng từng bước trong quy trình, có đồng hồ hẹn giờ…

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nếu cường độ màu ở các giếng chứng âm cao hơn cho phép, có thể do các bước rửa chưa đạt. Cần thực hiện lại xét nghiệm, chú ý các bước rửa.
- Nếu cường độ màu ở các giếng chứng dương thấp hơn cho phép, có thể do các bước rửa quá mạnh. Cần thực hiện lại xét nghiệm, chú ý các bước rửa.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Thực hiện nội kiểm và đánh giá kết quả nội kiểm theo quy định.
- Tham gia, đánh giá ngoại kiểm/so sánh liên phòng (nếu có).
- Bảo dưỡng máy định kỳ hàng ngày, hàng tuần và hàng tháng theo quy định.
- Hóa chất, vật tư trước khi đưa vào sử dụng cần được kiểm tra/đánh giá theo quy định, đảm bảo chất lượng và đủ cơ số hóa chất, vật tư để thực hiện xét nghiệm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Trung Phấn (2014), Kháng nguyên bạch cầu (Hệ HLA), Bài giảng Huyết học – Truyền máu, NXB Y học, 50 - 56.

2. Quyết định số 3336/QĐ-BYT (2017), về việc ban hành tài liệu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học – Truyền máu – Miễn dịch – Di truyền – Sinh học phân tử, số thự tự 49.

3. Nguyễn Triệu Vân, Đỗ Trung Phấn (2010), Kỹ thuật định nhóm kháng nguyên bạch cầu (HLA), Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, 233 – 236.

202. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP CHÉO (CROSS-MATCH) TẾ BÀO LYMPHO BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể kháng HLA loại IgG chống lại tế bào lympho người hiến ở người bệnh có chỉ định ghép tế bào gốc đồng loài, ghép tạng bằng phương pháp Flow cytometry. Sự kết hợp kháng nguyên- kháng thể được phát hiện bằng kháng thể kháng IgG đặc hiệu người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên nguyên lý kết hợp đặc hiệu của kháng nguyên và kháng thể tương ứng, dùng chất màu huỳnh quang để phát hiện các phức hợp kháng nguyên-kháng thể cần tìm.

Nếu trong huyết thanh người bệnh có kháng thể kháng đặc hiệu với tế bào lympho người hiến, kháng thể này sẽ gắn đặc hiệu lên bề mặt tế bào sau khi ủ. Kháng thể kháng globulin người sẽ gắn đặc hiệu lên phức hợp này và phát huỳnh quang để nhận biết trong quá trình phân tích. Kháng thể kháng CD3, CD19 được sử dụng để phân biệt tế bào lympho với các dòng tế bào khác.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ hoặc kỹ thuật y đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).
- Hỗ trợ: 01 nhân viên kỹ thuật y.

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, thuốc thử

- Hóa chất xét nghiệm lympho crossmatch bao gồm:
+ Kháng thể kháng CD19 gắn huỳnh quang.
+ Kháng thể kháng IgG người gắn huỳnh quang.
+ Kháng thể kháng CD3 gắn huỳnh quang,
+ Dung dịch Lysing phá hồng cầu.
+ Huyết thanh chứng dương, chứng âm
- Dung dịch Sheath chạy máy.
- Dung dịch rửa máy.
- Hoá chất khử trùng.
- Dung dịch Ficoll.
- Mẫu ngoại kiểm.

2.2.2. Dụng cụ

- Bộ micropipet các loại.
- Đầu côn có màng lọc các loại.
- Ống xét nghiệm chuyên dùng 1,5 ml.
- Ống nhựa chạy máy Flow.
- Pipet nhựa.
- Khay nhựa đựng ống ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml.
- Ống nhựa 5ml vô trùng.
- Ống nhựa chứa chất chống đông EDTA, heparin hoặc citrate.

- Ống nhựa không chứa chất chống đông lấy huyết thanh.
- Găng tay, mũ, khẩu trang, túi đựng rác.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy Flow Cytometry.
- Máy ly tâm.
- Máy vortex.
- Máy tính có kết nối với máy quét barcode và phần mềm phân tích kết quả.
- Tủ lạnh bảo quản mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm hóa chất.
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng);
- Hệ thống vận chuyển mẫu tự động (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm, trang thiết bị

- 2ml máu không chống đông từ người bệnh. Thu huyết thanh người bệnh bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C trong 48 giờ. Nếu huyết thanh sau 48 giờ phải được đông lạnh < -20°C trong tối đa 2 năm.
- 2ml máu có chất chống đông (EDTA, heparin hoặc citrate) từ người hiến được bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 24°C ly giải trong vòng 72 giờ sau khi thu thập.
- Bật máy tính, máy Flow cytometry.
- Chuẩn bị bạch cầu người hiến:

+ Chuẩn bị hóa chất xét nghiệm gồm các kháng thể kháng CD3, CD19, kháng thể kháng IgG người.

+ Hút 0,5-1ml huyết thanh người bệnh và người hiến vào ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml, ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút, hút bỏ phần lipid nổi.

+ Hút 1,5 ml Ficoll vào ống thủy tinh 1.

+ Hút 200µl buffy coat từ ống mẫu của người hiến thả từ từ vào ống thủy tinh 1 chứa Ficoll, sau đó ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút.

+ Dùng pipet nhựa hút hết lớp mây bạch cầu và chuyển sang ống thủy tinh 2. Sau đó rửa bằng sheath (thực hiện 2 lần) như sau:

+ Bổ sung 2ml sheath vào ống thủy tinh 2, trộn đều bằng máy vortex.

+ Ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút, bỏ dịch nổi.

+ Trộn 2 ml dung dịch Lysing phá hồng cầu vào ống thủy tinh 2.

+ Ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng (22-24°C).

+ Ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 phút, bỏ dịch nổi.

+ Đánh giá lại, nếu còn nhiều hồng cầu thì làm tiếp 2-3 lần cho đến khi hết hồng cầu tự do.

+ Thêm 350µl dung dịch sheath vào ống thủy tinh 2, trộn đều bằng máy vortex.

+ Đếm kiểm tra số lượng bạch cầu của tế bào người hiến

2.5. Hồ sơ

Yêu cầu phiếu chỉ định kỹ thuật có đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Khoa/ phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo blouse khi làm việc.
- Đeo găng tay trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp với mẫu máu, hóa chất.
- Đi giày, dép kín mũi chân.
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất.
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng.
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng.
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô trước khi chạm vào thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, tìm các dấu hiệu tróc lớp cách điện. Thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

3.4. Quy định về hiệu chuẩn

- Các thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định để đảm bảo quá trình vận hành cho xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1 Ủ tế bào người hiến và huyết thanh người bệnh, huyết thanh chứng

- Hút vào 3 ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml, mỗi ống 100 µl mẫu đã phá hồng cầu.
- Thêm 100µl huyết thanh người bệnh vào ống 1, 100µl huyết thanh người hiến vào ống 2 (ống chứng âm), 24µl huyết thanh chứng dương cho mỗi loại class I và II vào cùng ống 3 (ống chứng dương). trộn đều bằng pipet.
- Ủ hỗn hợp trong 60 phút ở nhiệt độ 37°C, sau đó chuyển sang 3 ống chạy máy.
- Rửa mẫu bằng sheath (thực hiện 2 lần):

+ Bổ sung 1000µl dung dịch sheath.

+ Ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút, bỏ dịch nổi.

4.1.3 Ủ mẫu với kháng thể

- Thêm 2µl mỗi loại kháng thể kháng CD3, CD19, IgG người vào mỗi ống nhựa chạy máy.
- Trộn đều bằng pipet.
- Ủ trong điều kiện tối, nhiệt độ phòng trong 10 phút.
- Rửa 2 lần bằng 1000µl dung dịch sheath, ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút, đổ dịch nổi, thấm miệng ống.
- Thêm 1000µl dung dịch sheath sau lần rửa cuối.

4.1.4 Chạy mẫu trên máy flow

- Đặt ống chứa mẫu và ống chứng vào máy.
- Nhập chương trình chạy máy.
- Chạy mẫu.

4.2. Phân tích kết quả

- Nhận định kết quả dựa trên quần thể tế bào tại cửa sổ lympho T và lympho B. Quần thể tế bào "Lympho T anti-IgG+" và "Lympho B anti-IgG+"có thành phần tín hiệu nằm trong vạch giới hạn:

+ Nếu tỉ lệ % dương tính thể hiện ở phần thông số bên dưới cửa sổ ≥ 20% thì kết quả được nhận định là dương tính và kết luận như sau: "Trong huyết thanh người bệnh có kháng thể chống lại tế bào lympho của người hiến".

+ Nếu quần thể tế bào nằm ngoài vạch giới hạn hoặc tỷ lệ % dương tính thể hiện ở phần thông số bên dưới cửa sổ < 20% thì kết quả được nhận định là âm tính và kết luận như sau: "Trong huyết thanh người bệnh không có kháng thể chống lại tế bào lympho của người hiến".

- Kết quả chấp nhận khi mẫu chứng âm cho kết quả âm tính, mẫu chứng dương cho kết quả dương tính.
- Kết quả dương tính khi quần thể tế bào lympho T/lympho B dương tính với anti-IgG ≥ 20%.
- Kết quả âm tính khi quần thể tế bào lympho T/lympho B dương tính với anti-IgG < 20%.

4.3 Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Nhập kết quả từ bản báo cáo của máy.
- In kết quả.
- Lãnh đạo khoa hoặc cán bộ được phân công duyệt kết quả.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, sai thông tin hành chính	Đối chiếu giấy chỉ định và ống mẫu	Từ chối nhận mẫu
2	Chất lượng mẫu	Mẫu bị vỡ hồng cầu	Huyết thanh/huyết tương có màu hồng cánh sen	Từ chối nhận mẫu, đề nghị lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Trang thiết bị, dụng cụ	Tắc kim hút mẫu	Số đếm event tăng chậm, thời gian chạy mẫu lâu bất thường	Ấn nút "Primer" trên phần mềm chạy máy vài lần cho đến khi hết tắc kim. Nếu không được, báo kỹ sư

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
				hãng kiểm tra máy.
2	Hóa chất, sinh phẩm	Hóa chất sinh phẩm hết hạn, không được bảo quản đúng nhiệt độ, ánh sáng theo đúng quy định	Mẫu chứng dương không đạt	- Chạy kiểm tra lại mẫu bằng hóa chất còn hạn sử dụng và bảo quản đúng. - Kiểm tra, loại bỏ hóa chất sinh phẩm hết hạn, hỏng.
3	Nhân viên xét nghiệm	Tách bạch cầu không đạt yêu cầu	Số lượng bạch cầu lympho thấp khi phân tích	Tách bạch cầu lại
		Ủ mẫu không đủ thời gian và nhiệt độ	Mẫu chứng dương không gắn được kháng thể □ không có tín hiệu	Ủ lại mẫu

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Phân tích kết quả	Phần mềm trong máy gặp trục trặc, tính toán không đúng.	Máy không phân tích được kết quả hoặc kết quả bất thường.	Kiểm tra lại phần mềm chạy máy.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kết quả được đánh giá đạt yêu cầu khi:

+ Các quần thể tế bào hiện rõ ràng, đúng vị trí.

+ Kết quả đếm trên ống chứng âm tính (tỷ lệ quần thể tế bào lympho T/lympho B dương tính <20%).

- Kết quả ngoại kiểm phù hợp với tổ chức ngoại kiểm.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo từ hãng.

Bộ Y tế (2014). *Đọ chéo trong ghép bằng kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy*. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành Huyết học – Truyền máu, Miễn dịch-Di truyền-Sinh học phân tử, trang 124-127.

203. BẤT HOẠT TÁC NHÂN GÂY BỆNH TRONG ĐƠN VỊ MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Bất hoạt tế bào miễn dịch và các tác nhân gây bệnh trong đơn vị máu, chế phẩm máu: máu toàn phần, khối tiểu cầu, huyết tương, tủa lạnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hệ thống bất hoạt các tác nhân lây truyền qua đường truyền máu và bất hoạt các tác nhân gây bệnh trong đơn vị máu và chế phẩm máu dựa trên nguyên lý: Chất hoạt quang (Riboflavin, Amotosalen,…) gắn với các gốc acid nucleic của nhân trong tế bào, dưới tác dụng của tia cực tím (Ultraviolet - UV) các phân tử trên bị kích hoạt và làm thay đổi cấu trúc, chức năng của nhóm acid nucleic, làm bất hoạt các tế bào có nhân trong đơn vị máu, trong đó có tế bào bạch cầu lympho, vi khuẩn, vi rút, ký sinh trùng,v.v… làm các loại tế bào này không thể hoạt động, không tăng sinh được và trở lên vô hại.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít dùng cho xử lý chế phẩm máu: Gồm túi rỗng bảo quản thích hợp để hấp thụ được tia UV và túi chứa chất hoạt quang;
- Dao nối/ mối nối vô trùng;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang giấy;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn chế phẩm;
- Mực in nhiệt;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy bất hoạt chế phẩm máu;
- Cân điện tử;
- Máy nối dây vô trùng
- Máy hàn dây máu;
- Máy tính;
- Máy in mã vạch;
- Máy quét mã vạch;
- Máy in nhãn chế phẩm
- Kìm vuốt máu.

- Giá đỡ túi máu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Khối tiểu cầu;
- Huyết tương;
- Tủa lạnh;
- Máu toàn phần.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Phiếu theo dõi xử lý sản phẩm trên máy chiếu tia UV.
- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế chế phẩm máu xử lý bất hoạt các tác nhân gây bệnh.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị chế phẩm máu.

- Chế phẩm máu đạt tiêu chuẩn.

Bước 2: Thêm chất bất hoạt.

- Sử dụng máy nối dây vô trùng để chuyển chế phầm máu, chất hoạt quang vào túi chứa.
- Lắc nhẹ để trộn đều.

Bước 3: Chiếu tia UV.

- Khởi động máy, đặt túi chứa vào máy và chiếu tia. Thời gian chiếu phụ thuộc vào trọng lượng của chế phẩm máu.
- Khi quá trình chiếu tia kết thúc máy sẽ báo và mở máy lấy túi chế phẩm máu đã được xử lý ra.

Bước 4: Hoàn thiện, dán nhãn chế phẩm máu đã bất hoạt.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao chế phẩm máu cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Chế phẩm máu đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định.
- Lưu hồ sơ xử lý chế phẩm và thiết bị theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do chế phẩm: Chế phẩm bị thủng túi, tan máu, đông dây, đục. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường nêu trên.

- Do bộ kít: thủng túi, hoá chất có dấu hiệu bất thường. Giải pháp: Kiểm tra tính toàn vẹn và màu sắc của bộ kít trước khi sử dụng.

- Do máy chiếu tia: máy hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động của máy trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do bộ kít, túi chế phẩm bị thủng. Giải pháp: Hủy đơn vị máu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.

- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của huyết tương, khối tiểu cầu.
- Bảo dưỡng máy đúng quy định, kiểm tra máy chiếu trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hướng dẫn sử dụng máy chiếu tia UV

2. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

3. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

204. ĐIỀU CHẾ HUYẾT TƯƠNG TƯƠI ĐÔNG LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế huyết tương tươi từ máu toàn phần và bảo quản đông lạnh huyết tương tươi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Huyết tương tươi được điều chế từ máu toàn phần và làm đông lạnh trong khoảng thời gian tối đa là 18 giờ kể từ khi lấy máu.
- Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu, sử dụng phương pháp ly tâm để tách huyết tương tươi từ máu toàn phần.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Mối nối vô trùng /Đầu nối vô trùng (nếu sử dụng).
- Túi máu rỗng (túi chuyển).
- Bông cồn Iode 2%.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang giấy;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn, mực in nhiệt.
- Túi nilon, chun vòng.
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Máy ép thành phần máu/ Bàn ép.
- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…).
- Tủ an toàn sinh học.
- Quầy đông lạnh nhanh huyết tương.
- Quầy lạnh/ nhà lạnh âm.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.
- Máy in mã vạch;
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.

- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Kìm vuốt.
- Pank, kéo, khay quả đậu.
- Cân.
- Giá đỡ túi máu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Đơn vị máu toàn phần:

- Thể tích máu toàn phần lấy phù hợp với dung dịch chống đông;
- Thời gian lấy máu không quá 10 phút;

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế huyết tương.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Kỹ thuật điều chế huyết tương tươi *(theo phương pháp tách huyết tương giàu tiểu cầu)*

Bước 1: Ly tâm nhẹ túi máu toàn phần để tạo thành hai lớp, lớp trên là huyết tương giàu tiểu cầu, lớp dưới là bạch cầu và hồng cầu.

Bước 2: Chuyển các đơn vị máu đã ly tâm lên bàn ép hoặc máy ép.

Bước 3: Ép huyết tương nổi phía trên (huyết tương giàu tiểu cầu) sang túi chuyển cho đến khi lớp hồng cầu lên sát mép trên túi máu để thu được túi huyết tương giàu tiểu cầu.

Bước 4: Ly tâm túi huyết tương giàu tiểu cầu để tiểu cầu lắng xuống đáy túi.

Bước 5: Ép huyết tương chảy sang túi chuyển chứa huyết tương.

Bước 6: Hàn ống dây thành nhiều đoạn, đóng gói, đông lạnh huyết tương trong vòng 1 - 8 giờ và bảo quản huyết tương tươi ở điều kiện đông lạnh.

Bước 7: In và dán nhãn huyết tương tươi đông lạnh.

4.1.2. Kỹ thuật điều chế huyết tương tươi *(theo phương pháp tách buffy coat bằng túi đỉnh - đỉnh)*.

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu để tạo thành 3 lớp, lớp trên cùng là huyết tương, lớp dưới là hồng cầu, ở giữa là lớp giàu tiểu cầu, bạch cầu (lớp buffy coat).

Bước 2: Chuyển các đơn vị máu đã ly tâm lên bàn ép hoặc máy ép bán tự động.

Bước 3: Ép huyết tương chảy sang túi đựng huyết tương cho đến khi bề mặt phân cách huyết tương và hồng cầu cách mép trên túi máu khoảng 1 - 2 cm. Thu được túi chứa huyết tương.

Bước 4: Hàn ống dây thành nhiều đoạn, đóng gói, đông lạnh huyết tương trong vòng 1 - 8 giờ và bảo quản huyết tương tươi ở điều kiện đông lạnh.

Bước 5: In nhãn huyết tương tươi đông lạnh.

4.1.3. Kỹ thuật điều chế huyết tương bằng máy ép máu bán tự động, sử dụng bộ túi đỉnh - đáy *(Áp dụng điều chế huyết tương theo phương pháp tách buffy coat, thể tích túi máu từ 350 ml, 450 ml)*

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu để tạo thành 3 lớp, lớp trên cùng là huyết tương, lớp dưới là hồng cầu, ở giữa là lớp giàu tiểu cầu, bạch cầu (lớp buffy coat).

Bước 2: Chuyển các đơn vị máu đã ly tâm lên máy ép bán tự động.

Bước 3: Thực hiện tách các thành phần máu tự động theo chương trình đã cài đặt dành cho túi máu đỉnh - đáy.

Bước 4: Kết thúc chạy máy, từ một đơn vị máu toàn phần tách được 3 túi, gồm huyết tương, khối hồng cầu, túi buffy coat.

Bước 5: Hàn ống dây thành nhiều đoạn, đóng gói, đông lạnh huyết tương trong vòng 1 - 8 giờ và bảo quản huyết tương tươi ở điều kiện đông lạnh.

Bước 6: In và dán nhãn huyết tương tươi đông lạnh.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần: bị thủng túi, thiếu hoặc thừa thể tích so với quy định. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường nêu trên.
- Do máy ly tâm, máy ép máu và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật.

- Túi máu toàn phần sau khi ly tâm: bị đục, tan máu, đông dây, thủng túi. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường này.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.

- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của huyết tương tươi đông lạnh.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

205. ĐIỀU CHẾ HUYẾT TƯƠNG ĐÔNG LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế huyết tương từ máu toàn phần hoặc từ huyết tương tươi đông lạnh và bảo quản đông lạnh huyết tương.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Huyết tương được tách từ máu toàn phần/ huyết tương tươi đông lạnh và làm đông lạnh trong vòng 8 giờ kể từ khi điều chế.
- Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu, sử dụng phương pháp ly tâm để tách huyết tương từ máu toàn phần hoặc tách huyết tương từ huyết tương tươi đông lạnh đã tan đông.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Mối nối vô trùng.
- Túi máu rỗng (túi chuyển).
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Máy ép tách máu bán tự động/ Bàn ép.
- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…).
- Quầy đông lạnh nhanh huyết tương.
- Quầy lạnh hoặc nhà lạnh âm.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.

- Xe đẩy.
- Giá inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Kìm vuốt.
- Khay quả đậu.
- Cân.
- Giá đỡ túi máu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Đơn vị máu toàn phần: Thể tích máu toàn phần lấy phù hợp với dung dịch chống đông; thời gian lấy máu không quá 10 phút.
- Huyết tương tươi đông lạnh.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế huyết tương.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các lước thực hiện

4.1.1. Điều chế huyết tương từ máu toàn phần và đông lạnh trong khoảng thời gian 18 đến 24 giờ kể từ khi lấy máu.

- Xem quy trình điều chế huyết tương tươi đông lạnh tách từ máu toàn phần.

4.1.2. Điều chế huyết tương từ huyết tương tươi đông lạnh

Bước 1: Làm tan đông huyết tương tươi đông lạnh ở nhiệt độ 2 đến 6^{o}C đến khi tan đông hoàn toàn.

Bước 2: Ly tâm mạnh ở nhiệt độ 2 đến 6^{o}C để huyết tương nổi lên trên và tủa lạnh lắng chặt xuống đáy túi.

Bước 3: Ép huyết tương nổi phía trên sang túi chuyển thu được túi huyết tương. Hàn rời túi huyết tương và túi tủa lạnh.

Bước 4: Hàn ống dây túi huyết tương thành nhiều đoạn, in nhãn và bảo quản đông lạnh.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần: bị thủng túi, thiếu hoặc thừa thể tích so với quy định. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường nêu trên.
- Do túi huyết tương tươi đông lạnh: bị thủng túi. Giải pháp: không sử dụng để điều chế huyết tương đông lạnh.
- Do máy ly tâm, máy ép máu và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Đối với túi máu toàn phần sau khi ly tâm: bị đục, tan máu, đông dây, thủng túi. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường này.
- Đối với túi huyết tương tươi đông lạnh sau khi tan đông và ly tâm: bị thủng túi, bị đục hoặc tan máu. Giải pháp: không sử dụng để điều chế huyết tương đông lạnh

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn

Ghi chú: Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của huyết tương đông lạnh.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

206. ĐIỀU CHẾ HUYẾT TƯƠNG CÔ ĐẶC ĐÔNG LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế đơn vị huyết tương cô đặc từ huyết tương tươi đông lạnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Tách lấy huyết tương cô đặc từ huyết tương tươi đông lạnh sau khi đã loại bỏ một phần nước và một số protein phân tử lớn chưa tan, nhằm tránh quá tải tuần hoàn khi truyền huyết tương với thể tích lớn.
- Loại bỏ nước đá trong huyết tương tươi đông lạnh bằng cách làm tan đông chậm huyết tương tươi đông lạnh theo phương pháp dẫn lưu. Khi tan đông chậm ở nhiệt độ 2 đến 6 độ C, huyết tương giàu protein tan trước và chảy vào túi chứa đến khi thể tích đạt khoảng 50% thể tích ban đầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Dao nối vô trùng.
- Túi máu rỗng (túi chuyển).
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Túi nilon, chun vòng.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang giấy;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn chế phẩm;
- Mực in nhiệt;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Quầy lạnh/ nhà lạnh âm sâu.
- Tủ lạnh/ nhà lạnh 2 - 6 ^{o}C.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy in mã vạch;
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.

- Kìm vuốt.
- Cân.
- Giá đỡ túi máu.
- Móc treo túi máu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Huyết tương tươi đông lạnh.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế huyết tương.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 9 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các lước thực hiện

Bước 1: Nối vô trùng ống dây túi huyết tương tươi đông lạnh với túi máu rỗng (túi chuyển).

Bước 2: Đặt/treo túi huyết tương tươi đông lạnh ở phía trên cao và đặt túi máu rỗng ở phía dưới thấp để huyết tương tan đông chậm và chảy tự nhiên xuống túi chuyển (ở nhiệt độ 2-6^{o}C).

Bước 3: Dừng làm tan đông khi trọng lượng túi huyết tương trong túi chuyển đạt 50% trọng lượng của túi huyết tương tươi đông lạnh ban đầu.

Bước 4: Hàn rời túi huyết tương cô đặc, hàn ống dây, dán nhãn và bảo quản.

4.2. Nhận định kết quả

Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do huyết tương tươi đông lạnh nguyên liệu: bị thủng túi, đục.
- Giải pháp: không sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Tắc ống dây dẫn huyết tương. Giải pháp: kiểm tra ống dây trong quá trình làm tan đông, sử dụng kìm vuốt để vuốt đoạn dây có bọt khí gây tắc ống dây.

- Bị hở mối nối ống dây của hai túi chứa huyết tương trong quá trình nối hai ống dây vô trùng. Giải pháp: nối lại và kiểm tra mối nối ngay sau khi nối.

- Bị hở mối nối ống dây của hai túi chứa huyết tương trong quá trình tan đông. Giải pháp: không sử dụng.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.

- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của huyết tương cô đặc đông lạnh.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

207. ĐIỀU CHẾ KHỐI BẠCH CẦU HẠT POOL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối bạch cầu hạt trung tính từ nhiều đơn vị máu toàn phần.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khối bạch cầu hạt trung tính được điều chế từ nhiều đơn vị máu toàn phần trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu.

Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu để ly tâm, tách lớp giàu bạch cầu, tiểu cầu (lớp buffy coat) từ máu toàn phần. Bạch cầu hạt trung tính tiếp tục được tách từ lớp buffy coat pool sau khi ly tâm và loại bỏ tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Nước muối sinh lý 0,9%/ dung dịch bảo quản tiểu cầu
- Túi máu rỗng (túi chuyển);
- Mối nối vô trùng/ đầu nối vô trùng;
- Dây truyền dịch;
- Bông cồn Iode 2%;
- Giá đỡ túi máu;
- Kẹp nhựa gài dây túi máu;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang giấy;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn, mực in nhiệt.
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng;
- Tủ an toàn sinh học;
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…);
- Máy nối dây vô trùng;
- Máy hàn dây túi máu;
- Máy tính;
- Máy in nhãn;
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.

- Dụng cụ đựng túi máu
- Bàn ép;
- Kẹp cánh dài;
- Cân;
- Pank;
- Kéo
- Khay quả đậu
- Kìm vuốt;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Túi máu toàn phần được bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24^{o}C trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu hoặc túi buffy coat đơn hoặc pool đã tách loại tiểu cầu (hay còn gọi là cặn buffy coat).
- Các túi buffy coat được tách từ máu toàn phần được bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24^{o}C trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối bạch cầu.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các lước thực hiện

Bước 1: Ly tâm máu toàn phần và tách lớp buffy coat.

Bước 2: Dồn các túi buffy coat cùng nhóm, ly tâm và tách khối tiểu cầu nổi phía trên. Thu được túi cặn buffy coat pool.

Bước 3: Chọn các túi cặn buffy coat pool cùng nhóm máu. Điều chế khối bạch cầu pool 200 - 250 ml: cần 4 - 6 túi cặn buffy coat pool hoặc 12 - 20 túi cặn buffy coat đơn. Điều chế khối bạch cầu pool 100 - 125 ml: cần 2 - 3 túi cặn buffy coat pool hoặc 6 - 10 túi cặn buffy coat đơn.

Bước 4: Thực hiện pool các túi cặn buffy coat được chọn vào túi chứa và bổ sung huyết tương của một trong các túi máu toàn phần ban đầu hoặc dung dịch NaCl 0,9%.

Bước 5: Lắc đều và ly tâm túi để bạch cầu tập trung ở lớp giữa dịch nổi và hồng cầu.

Bước 6: Dùng bàn ép để ép dịch nổi sang túi rỗng, khi mặt phân cách hồng cầu - dịch nổi cách mép van khoảng 1 - 1,5 cm thì dừng lại, dùng kẹp cánh dài kẹp dưới mặt phân cách hồng cầu - dịch nổi khoảng 1 - 2,5 cm và ép lớp bạch cầu sang túi chuyển. Hàn rời túi khối bạch cầu.

Bước 7: Hàn dây, dán nhãn và bảo quản khối bạch cầu ở nhiệt độ từ 20 - 24 ^{o}C, không lắc. Hạn sử dụng trong vòng 6 giờ kể từ khi điều chế khối bạch cầu và không quá 24 giờ kể từ khi lấy máu.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi chế phẩm máu nguyên liệu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường nêu trên.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Túi chế phẩm máu sau khi ly tâm: bị đục, tan máu, đông dây, thủng túi. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường này.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn

Chú ý: Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của túi khối bạch cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT.

2. Đỗ Trung Phấn (2012), Truyền máu hiện đại cập nhật và ứng dụng trong điều trị bệnh, NXB Giáo dục Việt Nam.

3. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

4. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

5. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

208. ĐIỀU CHẾ KHỐI HỒNG CẦU CÓ DUNG DỊCH BẢO QUẢN TỪ MÁU TOÀN PHẦN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối hồng cầu từ đơn vị máu toàn phần và bổ sung dung dịch bảo quản hồng cầu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Điều chế khối hồng cầu từ đơn vị máu toàn phần thể tích 250 ml, 350 ml, 450 ml được lấy vào các loại hệ thống túi máu bộ 3, bộ 4 loại đỉnh - đỉnh, đỉnh - đáy có dung dịch bảo quản.

Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu, sử dụng phương pháp ly tâm để tách khối hồng cầu và bổ sung dung dịch bảo quản hồng cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ túi lấy máu toàn phần: túi chứa máu toàn phần, các túi rỗng, có/không có bầu lọc bạch cầu.
- Các loại hệ thống túi máu: túi máu bộ 3, bộ 4 loại đỉnh - đỉnh hoặc đỉnh - đáy.
- Túi máu rỗng (túi chuyển).
- Mối nối vô trùng.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng, túi đệm xốp…).
- Máy ép tách máu bán tự động

- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Máy lắc máu
- Nhà lạnh duy trì nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C.
- Tủ lạnh.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Bàn ép.
- Giá đỡ túi máu.
- Kìm vuốt.
- Kẹp cánh dài.
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Đơn vị máu toàn phần được lấy vào các loại hệ thống túi lấy máu, trong đó có một túi đựng dung dịch bảo quản để bổ sung vào túi khối hồng cầu; thể tích máu toàn phần lấy phù hợp với dung dịch chống đông;
- Nhiệt độ bảo quản máu toàn phần trước khi điều chế khối hồng cầu trong khoảng 2 - 6^{o}C hoặc 20 - 24^{o}C nếu kết hợp điều chế khối tiểu cầu, thời gian không quá 24 giờ kể từ khi lấy máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối hồng cầu.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Điều chế khối hồng cầu bằng bàn ép *(Áp dụng cho hệ thống túi máu bộ 3, 4 loại đỉnh - đỉnh).*

4.1.1.1. Kỹ thuật điều chế khối hồng cầu *(theo phương pháp tách huyết tương giàu tiểu cầu)*

Bước 1: Ly tâm nhẹ túi máu toàn phần để tạo thành hai lớp, lớp trên là huyết tương giàu tiểu cầu, lớp dưới là bạch cầu và hồng cầu.

Bước 2: Chuyển các đơn vị máu đã ly tâm lên bàn ép hoặc máy ép.

Bước 3: Ép huyết tương nổi phía trên (huyết tương giàu tiểu cầu) sang túi chuyển cho đến khi lớp hồng cầu lên sát mép trên túi máu, cài khóa dây túi huyết tương giàu tiểu cầu.

Bước 4: Phần còn lại là hồng cầu, bổ sung dung dịch bảo quản vào túi khối hồng cầu, hàn rời túi khối hồng cầu.

Bước 5: Hàn dây túi máu, cài dây.

Bước 6: Xếp hồng cầu vào làn đựng, tiếp tục bảo quản trong nhà lạnh/tủ lạnh duy trì ở nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C.

Bước 7: In và dán nhãn khối hồng cầu.

Bước 8: Cách ly và hủy bỏ các đơn vị khối hồng cầu không an toàn..

4.1.1.2. Kỹ thuật điều chế khối hồng cầu *(theo phương pháp tách lớp buffy coat)*

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu để tạo thành 3 lớp, lớp trên cùng là huyết tương, lớp dưới là hồng cầu, ở giữa là lớp giàu tiểu cầu, bạch cầu (lớp buffy coat).

Bước 2: Nhấc túi máu ra khỏi máy ly tâm, đặt vào giá đỡ túi máu.

Bước 3: Chuyển các đơn vị máu lên bàn ép.

- Tách huyết tương: ép huyết tương chảy sang túi đựng huyết tương cho đến khi bề mặt phân cách huyết tương và hồng cầu cách mép trên túi máu khoảng 1 - 2 cm.

- Tách buffy coat: dùng kẹp cánh dài kẹp dưới mặt phân cách hồng cầu - huyết tương khoảng 1 - 1,5 cm.

Bước 4: Phần còn lại là hồng cầu, bổ sung dung dịch bảo quản vào túi khối hồng cầu, hàn rời túi khối hồng cầu.

Bước 5: Hàn dây túi máu, cài dây.

Bước 6: Xếp hồng cầu vào làn đựng, tiếp tục bảo quản trong nhà lạnh/tủ lạnh duy trì ở nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C.

Bước 7: In và dán nhãn khối hồng cầu.

Bước 8: Cách ly và hủy bỏ các đơn vị khối hồng cầu không an toàn.

4.1.2. Điều chế khối hồng cầu bằng máy ép bán tự động

(*Áp dụng điều chế khối hồng cầu theo phương pháp tách buffy coat, túi máu bộ 3 hoặc bộ 4 loại đỉnh - đáy, thể tích từ 350 ml trở lên*).

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu để tạo thành 3 lớp, lớp trên cùng là huyết tương, lớp dưới là hồng cầu, ở giữa là lớp giàu tiểu cầu, bạch cầu (lớp buffy coat).

Bước 2: Chuyển các đơn vị máu đã ly tâm lên máy ép bán tự động.

Bước 3: Thực hiện tách các thành phần máu tự động theo chương trình đã cài đặt dành cho túi máu đỉnh - đáy. Người vận hành theo dõi quá trình chạy máy.

Bước 4: Kết thúc chạy máy, từ một đơn vị máu toàn phần tách được 3 túi, gồm khối hồng cầu, huyết tương (có/không có túi đính kèm), túi buffy coat.

Bước 5: Nhập thông tin điều chế khối hồng cầu vào phần mềm.

Bước 6: Lấy mẫu để kiểm tra chất lượng theo quy định/ kế hoạch.

Bước 7: Hoàn thiện túi khối hồng cầu: hàn các ống dây túi máu, cài dây.

Bước 8: Xếp hồng cầu vào làn đựng, tiếp tục bảo quản trong nhà lạnh/tủ lạnh duy trì ở nhiệt độ 2 - 6^{o}C.

Bước 9: In và dán nhãn khối hồng cầu.

Bước 10: Cách ly và hủy bỏ các đơn vị khối hồng cầu không an toàn.

4.2. Nhận định kết quả

Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần: bị thủng túi, hở dây. Giải pháp: Huỷ bỏ túi máu toàn phần hoặc sử dụng nhưng có hạn sử dụng không quá 24 giờ kể từ thời điểm bị thủng, hở.
- Do máy ly tâm, máy ép máu và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật. Giải pháp: Đào tạo quy trình lại và đào tạo liên tục.
- Túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi máu toàn phần hoặc sử dụng nhưng hạn sử dụng không quá 24 giờ kể từ thời điểm bị thủng theo quy định.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn

Ghi chú: Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu giảm bạch cầu có dung dịch bảo quản
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

209. RỬA HỒNG CẦU, TIỂU CẦU BẰNG MÁY LY TÂM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ phần lớn huyết tương và các chất hoà tan khác khỏi đơn vị khối hồng cầu, khối tiểu cầu bằng máy ly tâm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa vào tỷ trọng của hồng cầu/ tiểu cầu, sử dụng nước muối đẳng trương hoà loãng hồng cầu/ tiểu cầu và ly tâm nhiều lần để loại bỏ phần lớn huyết tương trong đơn vị khối hồng cầu/ khối tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Nước muối sinh lý NaCl 0,9%.
- Dung dịch bảo quản tiểu cầu.
- Túi máu rỗng (túi chuyển).
- Túi máu rỗng 1000 ml để chứa dịch thải sau khi rửa.
- Bộ dây truyền dịch.
- Đầu nối vô trùng.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Bông cồn Iod 2%
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng, túi đệm xốp…).
- Bàn ép
- Tủ an toàn sinh học.
- Máy hàn dây túi máu.
- Nhà lạnh duy trì nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C.
- Tủ lạnh.

- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Bàn ép.
- Giá đỡ túi máu.
- Kìm vuốt.
- Kẹp cánh dài.
- Cân.
- Pank
- Kéo
- Khay quả đậu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Khối hồng cầu, khối tiểu cầu có kết quả xét nghiệm an toàn;
- Nhiệt độ bảo quản khối hồng cầu khoảng 2 - 6^{o}C.
- Nhiệt độ bảo quản khối tiểu cầu khoảng 20 - 24^{o}C.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối hồng cầu.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuyển túi khối hồng cầu/ tiểu cầu, dung dịch NaCl 0,9%, dây truyền dịch, pank, kéo, khay quả đậu, bông cồn Iode 2%, cân, máy hàn dây túi máu, bàn ép vào tủ an toàn sinh học.

Bước 2: Chuyển toàn bộ hồng cầu/ tiểu cầu từ túi chứa ban đầu sang túi máu rỗng để tránh vỡ túi trong quá trình ly tâm.

Bước 3: Bổ sung dung dịch NaCl 0,9% vào túi hồng cầu/ tiểu cầu cho đến khi trọng lượng túi khối hồng cầu đạt 300 - 400 g. Hàn rời túi hồng cầu/ túi tiểu cầu với dây truyền dịch.

Bước 4: Lắc túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu khoảng 2 - 3 phút và ly tâm túi hồng cầu/ túi tiểu cầu.

Bước 5: Dùng bàn ép để ép tách kiệt dịch nổi sang túi chứa dịch nổi 1000 ml và hàn rời túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu và túi chứa dịch nổi.

Bước 6: Lặp lại các bước 3, 4, 5 thêm 2 lần đối với hồng cầu. Đối với tiểu cầu, có thể lặp lại các bước 3, 4, 5 hoặc không cần lặp lại tuỳ thuộc vào chỉ định của lâm sàng

Bước 7: Bổ sung dung dịch phù hợp vào túi khối hồng cầu/ túi khối tiểu cầu bằng trọng lượng ban đầu và lắc đều. Hàn rời túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu.

Bước 8: Hàn ống dây, dán nhãn và bảo quản khối hồng cầu/ khối tiểu cầu theo quy định.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.
- Do máy ly tâm, tủ an toàn sinh học và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi chế phẩm máu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.

Ghi chú: Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu rửa/ khối tiểu cầu rửa.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

210. RỬA HỒNG CẦU, TIỂU CẦU BẰNG MÁY TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Loại bỏ phần lớn huyết tương và các chất hoà tan khác khỏi đơn vị khối hồng cầu, khối tiểu cầu bằng máy rửa tự động.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa vào tỷ trọng của hồng cầu/ tiểu cầu, sử dụng nước muối đẳng trương hoà loãng hồng cầu/ tiểu cầu và ly tâm nhiều lần để loại bỏ phần lớn huyết tương trong đơn vị khối hồng cầu/ khối tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít rửa hồng cầu.
- Nước muối sinh lý NaCl 0,9%.
- Dung dịch bảo quản.
- Dao nối vô trùng.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng, túi đệm xốp…).
- Máy rửa hồng cầu tự động.
- Tủ an toàn sinh học.
- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Nhà lạnh duy trì nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C.
- Tủ lạnh.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.

- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Giá đỡ túi máu.
- Kìm vuốt.
- Kẹp cánh dài.
- Cân.
- Pank
- Kéo
- Khay quả đậu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Khối hồng cầu/ khối tiểu cầu có kết quả xét nghiệm an toàn;
- Nhiệt độ bảo quản khối hồng cầu khoảng 2 - 6^{o}C.
- Nhiệt độ bảo quản khối tiểu cầu khoảng 20 - 24^{o}C.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối hồng cầu/ khối tiểu cầu rửa.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Khởi động máy rửa, lắp đặt bộ kít, dung dịch rửa, dung dịch bảo quản, túi hồng cầu/ túi khối tiểu cầu vào máy rửa tự động và thực hiện theo quy trình vận hành máy.

Bước 2: Máy kết thúc, lắc và trộn đều khối hồng cầu rửa/ khối tiểu cầu rửa.

Bước 3: Hàn ống dây, dán nhãn và bảo quản khối hồng cầu rửa/ khối tiểu cầu rửa.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.

- Do máy rửa tự động và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi chế phẩm máu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.

- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.

Ghi chú: Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.

- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu rửa/ khối tiểu cầu rửa.

- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

211. LỌC BẠCH CẦU TRONG KHỐI HỒNG CẦU, KHỐI TIỂU CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Lọc để loại bỏ bạch cầu còn lại trong chế phẩm khối hồng cầu/ túi khối tiểu cầu sau khi điều chế.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa vào sự khác biệt về kích thước, đặc tính giữa hồng cầu/ tiểu cầu và bạch cầu, sử dụng màng lọc để giữ bạch cầu lại và cho hồng cầu/ tiểu cầu đi qua màng lọc.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít lọc bạch cầu truyền hồng cầu (tại Labo).
- Bộ kít lọc bạch cầu truyền tiểu cầu (tại Labo).
- Dao nối vô trùng.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Tủ lạnh/Nhà lạnh duy trì nhiệt độ 2 - 6^{o}C.
- Máy lắc tiểu cầu.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.

- Kìm vuốt.
- Cân.
- Móc treo.
- Văn phòng phẩm.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Khối hồng cầu/ khối tiểu cầu có kết quả xét nghiệm an toàn, được chỉ định kỹ thuật lọc bạch cầu, được bảo quản ở nhiệt độ quy định, được điều chế trong vòng 72 giờ kể từ khi lấy máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế chế phẩm.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Điều chế khối hồng cầu lọc bạch cầu/ khối tiểu cầu lọc bạch cầu bằng bộ kít lọc bạch cầu (tại Labo).

Bước 1: Nối túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu với bộ kít lọc bạch cầu.

Bước 2: Treo túi khối hồng cầu/ khối tiểu cầu lên cao để toàn bộ hồng cầu/ tiểu cầu chảy tự nhiên qua màng lọc bạch cầu vào túi rỗng (túi chứa hồng cầu đã lọc bạch cầu).

Bước 3: Hàn rời túi khối hồng cầu lọc bạch cầu/ khối tiểu cầu lọc bạch cầu

Bước 4: Hàn dây túi chế phẩm, dán nhãn và bảo quản.

4.1.2. Lọc bạch cầu cho khối hồng cầu/ khối tiểu cầu bằng bộ kít lọc bạch cầu (tại giường).

Thay thế bộ dây truyền máu bằng bộ kít lọc bạch cầu truyền hồng cầu/ tiểu cầu tại giường.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi chế phẩm máu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi chế phẩm máu.

- Do bộ kít lọc: kít bị lỗi. Giải pháp: huỷ bỏ.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi chế phẩm máu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi chế phẩm máu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.

Ghi chú: Trong quá trình điều chế, túi máu bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu lọc bạch cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

212. ĐIỀU CHẾ KHỐI HỒNG CẦU ĐÔNG LẠNH BẰNG GLYCEROL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối hồng cầu đông lạnh bằng glycerol và rã đông hồng cầu đông lạnh trước khi sử dụng cho người bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Sử dụng dung dịch glycerol để bảo quản hồng cầu tránh bị tổn thương và vỡ do các tinh thể nước đá gây nên ở nhiệt độ đông lạnh. Glycerol có nồng độ cao, ưu trương di chuyển xuyên qua màng tế bào hồng cầu để vào nội bào ngăn ngừa khả năng tạo tinh thể nước đá trong quá trình đông lạnh, tránh gây tổn thương tế bào trong khi hạ nhiệt đông lạnh và bảo quản hồng cầu đông lạnh.
- Hồng cầu được bảo quản ở nhiệt độ đông lạnh (-60^{o}C đến -80^{o}C hoặc trong môi trường nitơ lỏng dưới -100^{o}C).
- Trước khi truyền cho người bệnh, khối hồng cầu đông lạnh phải được làm tan đông, rửa, loại bỏ glycerol và hòa loãng trong dung dịch muối đẳng trương hoặc bổ sung dung dịch bảo quản hồng cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít làm đông lạnh hồng cầu (dung dịch glycerol, túi bảo quản hồng cầu đông lạnh).
- Bộ kít rửa và loại bỏ glycerol (kít rửa, dung dịch NaCl các nồng độ khác nhau và dung dịch bảo quản).
- Các loại hệ thống túi máu.
- Mối nối vô trùng.
- Túi máu rỗng
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Dây truyền dịch
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Máy rửa hồng cầu chuyên dụng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng, túi đệm xốp…).
- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Quầy đông lạnh.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy lắc.
- Bình cách thủy 37^{o}C.
- Tủ an toàn sinh học.
- Bàn ép, máy ép, cân.
- Kìm vuốt dây máu, kéo.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Giá đỡ túi máu.
- Kìm vuốt.
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối hồng cầu có kết quả xét nghiệm an toàn, bảo quản ở nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C trong vòng 7 ngày kể từ khi lấy máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối hồng cầu đông lạnh.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Đông lạnh hồng cầu bằng glycerol trong quầy lạnh /nitơ lỏng.

Bước 1: Đặt túi khối hồng cầu và túi bảo quản hồng cầu đông lạnh vào trong tủ an toàn sinh học.

Bước 2: Chuyển toàn bộ hồng cầu trong túi chứa hồng cầu sang túi bảo quản hồng cầu đông lạnh. Khóa van dây túi máu.

Bước 3: Cắm một đầu dây truyền vào chai glycerol, một đầu vào túi bảo quản hồng cầu đông lạnh.

Bước 4: Đặt túi bảo quản hồng cầu đông lạnh lên máy lắc.

Bước 5: Treo chai dung dịch glycerol lên cao, bổ sung dung dịch glycerol vào túi khối hồng cầu và đồng thời lắc, để hồng cầu nghỉ sau khi bổ sung glycerol.

Bước 6: Thực hiện bước 5 từ 3 - 4 lần tuỳ thuộc thể tích khối hồng cầu.

Bước 7: Ly tâm và ép loại bỏ dung dịch glycerol nổi phía trên túi sang túi máu rỗng.

Bước 8: Lắc đều túi bảo quản hồng cầu, dán nhãn và bảo quản hồng cầu đông lạnh.

4.1.2. Làm tan đông hồng cầu đông lạnh và loại bỏ glycerol

Bước 1: Đặt túi hồng cầu đông lạnh vào bình cách thuỷ 37^{o}C trong 10 phút.

Bước 2: Lắp đặt bộ kít, dung dịch rửa và túi khối hồng cầu vào máy rửa hồng cầu và thực hiện theo quy trình vận hành máy.

Bước 3: Máy rửa kết thúc. Lắc và trộn đều khối hồng cầu rửa, in nhãn và bảo quản khối hồng cầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi khối hồng cầu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.
- Do máy ly tâm, máy rửa hồng cầu, tủ an toàn sinh học và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu đông lạnh.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

213. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU ĐƠN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối tiểu cầu từ một đơn vị máu toàn phần.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khối tiểu cầu đơn có thể tích 40 - 50 ml được điều chế từ một đơn vị máu toàn phần, bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24^{o}C trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu.

- Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu, sử dụng phương pháp ly tâm để tiểu cầu lơ lửng trong huyết tương sẽ tách được khối tiểu cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Móc treo.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng;
- Máy lắc bảo quản tiểu cầu;
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…);
- Máy hàn dây túi máu;
- Máy tính;
- Máy in mã vạch;
- Máy quét mã vạch;
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Kìm vuốt;
- Bàn ép, máy ép;

- Giá đỡ túi máu;
- Kẹp cánh dài.
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Đơn vị máu toàn phần:

- Lấy máu vào bộ túi 3, bộ túi 4;
- Thể tích máu toàn phần lấy phù hợp với dung dịch chống đông;
- Thời gian lấy máu không quá 10 phút;

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối tiểu cầu;
- Mẫu hồ sơ quản lý sản phẩm trung gian;
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Điều chế khối tiểu cầu đơn từ máu toàn phần theo phương pháp tách huyết tương giàu tiểu cầu (sử dụng bộ túi 3)

Bước 1: Ly tâm nhẹ túi máu toàn phần để phân lớp huyết tương giàu tiểu cầu.

Bước 2: Ép huyết tương giàu tiểu cầu sang túi chuyển.

Bước 3: Ly tâm mạnh túi huyết tương giàu tiểu cầu để huyết tương nổi phía trên và tiểu cầu lắng xuống đáy túi.

Bước 4: Ép loại bỏ huyết tương nổi chảy sang túi chuyển cho đến khi huyết tương còn lại 40 - 70 ml và tách được khối tiểu cầu.

Bước 5: Hàn ống dây, dán nhãn và bảo quản khối tiểu cầu đơn.

4.1.2. Điều chế khối tiểu cầu đơn từ máu toàn phần theo phương pháp tách buffy coat làm giảm bạch cầu (sử dụng túi máu bộ 4)

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu

Bước 2: Ép tách huyết tương sang túi đựng huyết tương

Bước 3: Ép tách lớp giàu bạch cầu và tiểu cầu (buffy coat) sang túi chứa.

Bước 4: Bổ sung một phần huyết tương vào túi buffy coat.

Bước 5: Ly tâm túi buffy coat và ép tách khối tiểu cầu nổi phía trên sang túi chứa khối tiểu cầu.

Bước 6: Hàn dây túi, dán nhãn và bảo quản.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần, túi buffy coat: bị thủng túi. Giải pháp: Huỷ bỏ.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi buffy coat bị thủng, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.
- Ghi hồ sơ xử lý các sản phẩm đối với các chế phẩm máu không đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối tiểu cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

214. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU POOL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối tiểu cầu pool (dồn, trộn) từ nhiều đơn vị máu toàn phần.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khối tiểu cầu pool có thể tích 150 ml được điều chế từ 2 - 4 túi máu toàn phần, tương đương 1000 ml ± 100 ml máu toàn phần, bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24ºC trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu.

- Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần tế bào máu, sử dụng phương pháp ly tâm để tách tiểu cầu từ lớp buffy coat.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Mối nối vô trùng;
- Túi rỗng để đựng buffy coat pool
- Túi máu rỗng 1.000 ml để chứa khối tiểu cầu pool
- Kẹp nhựa gài dây túi máu;
- Móc treo;
- Bút marker;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo bảo hộ;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng;
- Máy lắc bảo quản tiểu cầu;
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…);
- Máy hàn dây túi máu;
- Máy nối dây vô trùng;
- Máy tính kết nối máy in nhãn có đầu đọc mã vạch;
- Máy in mã vạch;
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Kìm vuốt;

- Bàn ép/máy ép;
- Giá đỡ túi máu;
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Các túi buffy coat đơn được điều chế từ máu toàn phần có kết quả xét nghiệm an toàn, được bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24^{o}C trong 24 giờ kể từ khi lấy máu. Trong đó tối thiểu 1 túi có đính kèm cùng túi huyết tương;
- Hoặc các túi khối tiểu cầu đơn.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối tiểu cầu pool;
- Mẫu hồ sơ quản lý sản phẩm trung gian;
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu toàn phần và ép tách huyết tương, lớp buffy coat và hồng cầu.

Bước 2: Ghép từ 2 đến 4 túi buffy coat (tương đương điều chế từ 1000 ml máu toàn phần ± 100 ml) và 1 túi huyết tương cùng nhóm.

Bước 3: Dồn (pool) các túi buffy coat, huyết tương vào túi máu rỗng, thu được túi buffy coat pool.

Bước 4: Ly tâm túi buffy coat pool và ép lớp dịch nổi gồm huyết tương và tiểu cầu chảy sang túi máu rỗng khoảng 1.000 ml để chứa tiểu cầu.

Bước 5: Hàn ống dây, in nhãn và bảo quản khối tiểu cầu pool.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần, túi buffy coat: bị thủng túi. Giải pháp: Huỷ bỏ.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi buffy coat bị thủng, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối tiểu cầu pool.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

215. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU POOL LỌC BẠCH CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối tiểu cầu pool (dồn, trộn) lọc bạch cầu từ nhiều đơn vị máu toàn phần.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khối tiểu cầu pool lọc bạch cầu có thể tích 250 ml được điều chế từ 4 - 8 túi máu toàn phần, tương đương 2000 ml ± 200 ml máu toàn phần, bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24^{o}C trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu.
- Tiểu cầu cần loại bỏ bạch cầu để tránh các tác dụng không mong muốn do bạch cầu gây ra.
- Dựa vào kích thước và tính chất của từng thành phần tế bào máu để ly tâm và tách tiểu cầu từ lớp buffy coat. Lọc bỏ bạch cầu khi cho khối tiểu cầu chảy qua màng lọc.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Mối nối vô trùng;
- Bộ kít pool tiểu cầu và lọc bạch cầu.
- Giá đỡ túi máu;
- Kẹp nhựa gài dây túi máu;
- Móc treo;
- Bút marker, bút bi;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo bảo hộ;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng;
- Máy lắc bảo quản tiểu cầu;
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…);
- Máy hàn dây túi máu;
- Máy nối dây vô trùng;
- Máy tính kết nối máy in nhãn có đầu đọc mã vạch;
- Máy in mã vạch;

- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Kìm vuốt;
- Bàn ép, máy ép.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Các túi buffy coat được điều chế từ máu toàn phần có kết quả xét nghiệm an toàn, được bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24 ^{o}C trong 24 giờ kể từ khi lấy máu.
- Một túi huyết tương;

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối tiểu cầu pool lọc bạch cầu;
- Mẫu hồ sơ quản lý sản phẩm trung gian;
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2,5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu toàn phần và ép tách huyết tương, buffy coat và hồng cầu.

Bước 2: Ghép từ 4 đến 8 túi buffy coat (tương đương điều chế từ 2000 ml máu toàn phần ± 200 ml) và 1 túi huyết tương cùng nhóm.

Bước 3: Dồn (pool) các túi buffy coat, huyết tương vào túi chứa buffy coat pool của bộ kít, thu được túi buffy coat pool.

Bước 4: Ly tâm túi buffy coat pool và ép lớp dịch nổi gồm huyết tương và tiểu cầu chảy qua màng lọc bạch cầu vào túi chứa tiểu cầu.

Bước 5: Hàn ống dây, dán nhãn và bảo quản.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần, túi buffy coat: bị thủng túi. Giải pháp: Huỷ bỏ.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi buffy coat bị thủng, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối tiểu cầu pool lọc bạch cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

216. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU LỌC BẠCH CẦU CÓ BỔ SUNG DUNG DỊCH BẢO QUẢN TIỂU CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối tiểu cầu lọc bạch cầu từ nhiều đơn vị máu toàn phần, có bổ sung dung dịch bảo quản.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Khối tiểu cầu lọc bạch cầu có bổ sung dung dịch bảo quản được điều chế từ 4 - 8 túi máu toàn phần, tương đương 2000 ml ± 200 ml máu toàn phần, bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24ºC trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy máu.
- Tiểu cầu cần loại bỏ bạch cầu để tránh các tác dụng không mong muốn do bạch cầu gây ra.
- Khối tiểu cầu có bổ sung dung dịch bảo quản (chiếm 60 - 70%) và huyết tương (chiếm 30 - 40%) để phòng ngừa các tác dụng không mong muốn do huyết tương gây ra.
- Dựa vào kích thước, tính chất của từng thành phần tế bào máu để ly tâm và tách tiểu cầu từ lớp buffy coat pool có bổ sung dung dịch bảo quản. Lọc và loại bỏ bạch cầu khi cho khối tiểu cầu chảy qua màng lọc.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Dung dịch bảo quản tiểu cầu.
- Bộ kít pool tiểu cầu và lọc bạch cầu.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu;
- Móc treo;
- Bút marker, bút bi;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng;
- Máy lắc bảo quản tiểu cầu;

- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…);
- Xe đẩy, giá đựng âu ly tâm, làn nhựa;
- Máy hàn dây túi máu;
- Máy nối dây vô trùng;
- Máy tính kết nối máy in nhãn có đầu đọc mã vạch;
- Máy in mã vạch;
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Kìm vuốt;
- Bàn ép/máy ép;
- Giá đỡ túi máu;
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Các túi buffy coat được điều chế từ máu toàn phần có kết quả xét nghiệm an toàn, được bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24 ^{o}C trong 24 giờ kể từ khi lấy máu.
- Túi dung dịch bảo quản tiểu cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối tiểu cầu lọc bạch cầu có bổ sung dung dịch bảo quản;
- Mẫu hồ sơ quản lý sản phẩm trung gian;
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2,5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Ly tâm mạnh túi máu toàn phần và ép tách huyết tương, buffy coat và hồng cầu.

Bước 2: Ghép từ 4 đến 8 túi buffy coat (tương đương điều chế từ 2000 ml máu toàn phần ± 200 ml) và 1 túi dung dịch bảo quản tiểu cầu.

Bước 3: Dồn (pool) các túi buffy coat, dung dịch bảo quản tiểu cầu vào túi chứa buffy coat pool của bộ kít, thu được túi buffy coat pool.

Bước 4: Ly tâm túi buffy coat pool và ép lớp dịch nổi gồm huyết tương và tiểu cầu chảy qua màng lọc bạch cầu vào túi chứa tiểu cầu.

Bước 5: Hàn ống dây, dán nhãn và bảo quản.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu toàn phần, túi buffy coat: bị thủng túi. Giải pháp: Huỷ bỏ.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi buffy coat bị thủng, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối tiểu cầu pool lọc bạch cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

217. ĐIỀU CHẾ TỦA LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế tủa lạnh giàu yếu tố VIII từ đơn vị máu toàn phần.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Tủa lạnh được điều chế từ huyết tương tươi đông lạnh tách từ máu toàn phần trong vòng 18 giờ kể từ khi lấy máu hoặc huyết tương tươi đông lạnh gạn tách từ một người hiến.

- Tủa lạnh được điều chế bằng cách ly tâm huyết tương tươi đông lạnh sau khi làm tan đông chậm ở nhiệt độ 2 đến 6^{o}C.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Dây truyền dịch
- Mối nối/ đầu nối vô trùng.
- Bông cồn Iode 2%.
- Găng tay vô trùng;
- Móc treo;
- Bút marker, bút bi;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng…).
- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Tủ an toàn sinh học.
- Máy đông lạnh nhanh huyết tương.
- Quầy lạnh/ nhà lạnh âm sâu.
- Tủ lạnh/ nhà lạnh.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.

- Máy tính.
- Máy in nhãn chế phẩm.
- Máy đọc mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Bàn ép, máy ép.
- Pank, kéo, khay quả đậu, kìm vuốt.
- Giá đỡ túi máu.
- Cân.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Các túi huyết tương tươi đông lạnh.
- Dung dịch NaCl 0,9%.
- Dung dịch CPD-A1.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế tủa lạnh.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Điều chế tủa lạnh đơn.

Bước 1: Làm tan đông huyết tương tươi đông lạnh qua đêm ở nhiệt độ 2 - 6^{o}C cho đến khi huyết tương tan đông hoàn toàn.

Bước 2: Ly tâm mạnh ở nhiệt độ 2 - 6^{o}C và tách phần tủa lạnh lắng ở đáy túi.

Bước 3: Hàn rời túi tủa lạnh và thu được túi tủa lạnh đơn (tách từ 1 túi máu toàn phần). Có thể sử dụng tủa lạnh đơn hoặc sử dụng tủa lạnh pool từ nhiều đơn vị máu toàn phần.

4.1.2. Điều chế tủa lạnh pool từ nhiều đơn vị máu toàn phần

Bước 1: Ghép 4 - 7 túi tủa lạnh đơn cùng nhóm máu ABO, Rh (được tách từ khoảng 2.000 ml máu toàn phần).

Bước 2: Làm tan đông túi tủa lạnh ở bình cách thuỷ 37 ^{o}C.

Bước 3: Thực hiện trong tủ an toàn sinh học: Dồn, tráng tủa lạnh trong túi số 1, sử dụng đầu nối vô trùng để nối ống dây của các túi và chuyển toàn bộ tủa lạnh trong túi số 1 sang lần lượt các túi còn lại cho đến túi cuối cùng.

Có thể dùng dung dịch CPDA1 và NaCl 0,9% để tráng và thu hồi tối đa lượng tủa bám trong bề mặt túi chứa tủa.

Bước 4: Hàn ống dây túi tủa cuối cùng, in nhãn và bảo quản.

4.1.3. Điều chế tủa lạnh sử dụng mối nối vô trùng

Áp dụng khi pool tủa lạnh bằng thiết bị nối vô trùng, sử dụng mối nối hoặc dao nối vô trùng trong quá trình thực hiện dồn, trộn các túi tủa lạnh với nhau như mục 4.1.2.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi huyết tương tươi đông lạnh: bị thủng túi. Giải pháp: Huỷ bỏ túi huyết tương tươi đông lạnh.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi huyết tương, tủa lạnh máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi chế phẩm

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.
- Ghi hồ sơ xử lý các sản phẩm đối với các chế phẩm máu không đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của tủa lạnh.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

218. HOÀN NGUYÊN MÁU TOÀN PHẦN TỪ CÁC THÀNH PHẦN MÁU ĐỂ THAY MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế máu toàn phần được hoàn nguyên từ khối hồng cầu rửa nhóm O và huyết tương nhóm AB.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hoàn nguyên máu toàn phần là sử dụng khối hồng cầu được loại bỏ dung dịch bảo quản và bổ sung huyết tương tươi/ huyết tương nhóm AB hoặc nhóm máu phù hợp miễn dịch với nhóm của đơn vị khối hồng cầu và nhóm máu của người bệnh.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Túi máu rỗng 1.000 ml.
- Dung dịch nước muối sinh lý đẳng trương NaCl 0,9%;
- Dây truyền dịch;
- Bông cồn Iode 2%;
- Kẹp nhựa gài dây túi máu;
- Bút bi, bút marker;
- Móc treo;
- Bút marker, bút bi;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo bảo hộ;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh.
- Máy hàn dây túi máu.
- Tủ an toàn sinh học.
- Quầy lạnh.
- Tủ lạnh.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.

- Dụng cụ đựng túi máu.
- Bàn ép.
- Giá đỡ túi máu.
- Kìm vuốt.
- Cân.
- Pank, kéo, khay quả đậu vô trùng.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Túi khối hồng cầu nhóm O; huyết tương nhóm AB hoặc các nhóm khác theo dự trù điều trị lâm sàng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Có quy trình/hướng dẫn chi tiết đã được lãnh đạo đơn vị phê duyệt;
- Có các biểu mẫu phù hợp ghi nhận các hoạt động tiếp nhận, xét nghiệm, bảo quản và cấp phát máu. Các biểu mẫu đã được lãnh đạo đơn vị phê duyệt và cho phép thực hiện.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Yêu cầu chọn lựa chế phẩm theo thời hạn bảo quản:

- Khối hồng cầu có dung dịch bảo quản hồng cầu: bảo quản dưới 5 ngày kể từ khi lấy máu.
- Các chế phẩm huyết tương: có hạn sử dụng như quy định chung.
- Nên lọc bạch cầu, chiếu xạ, CMV cho các đơn vị khối hồng cầu sử dụng truyền cho trẻ sơ sinh.

4.1.2. Yêu cầu đối với chọn lựa theo nhóm máu:

- Nhóm máu hệ ABO: chọn lựa đơn vị máu truyền theo nhóm máu của trẻ trong trường hợp đã xác định chắc chắn nhóm máu ABO; Trong trường hợp không định được nhóm máu hoặc định nhóm máu chưa rõ ràng nên sử dụng khối hồng cầu rửa nhóm O và huyết tương tươi nhóm AB;
- Nhóm máu hệ Rh: lựa chọn đơn vị máu truyền theo nhóm kháng nguyên D trong trường hợp đã xác định chắc chắn nhóm máu hệ Rh. Trong trường hợp không định được nhóm máu hoặc định nhóm máu chưa rõ ràng, sử dụng khối hồng cầu nhóm Rh(D) âm;
- Trong trường hợp phát hiện và định danh được loại kháng thể bất thường trong huyết thanh trẻ sơ sinh: cần lựa chọn khối hồng cầu có nhóm máu hòa hợp.

Lưu ý: Kiểm soát chỉ số xét nghiệm về số lượng tiểu cầu của người bệnh trước và sau thay máu, cần truyền bổ sung khi có nguy cơ chảy máu.

4.1.3. Điều chế máu toàn phần từ khối hồng cầu rửa nhóm O và huyết tương tươi đông lạnh nhóm AB.

Bước 1: Nhận dự trù, chế phẩm: dự trù cần ghi rõ chi tiết, thí dụ như Khối hồng cầu rửa nhóm O hòa loãng bằng huyết tương tươi nhóm AB.

Bước 2: Cân túi khối hồng cầu, ghi lại trọng lượng túi khối hồng cầu.

Bước 3: Chuyển túi khối hồng cầu, dung dịch NaCl 0,9%, dây truyền dịch, kẹp, kéo, khay quả đậu, bông cồn Iode 2%, cân, máy hàn dây túi máu, bàn ép vào tủ an toàn sinh học.

- Cắm dây truyền dịch vào chai dung dịch NaCl 0,9%. Dùng bông cồn Iode 2% sát trùng dây túi khối hồng cầu, cắt và nối vào đầu dây truyền dịch.

- Bổ sung dung dịch NaCl 0,9% vào túi khối hồng cầu cho đến khi trọng lượng túi khối hồng cầu đạt 300 - 400g. Hàn và tách rời túi khối hồng cầu với dây truyền dịch.

- Lắc túi khối hồng cầu khoảng 2 - 3 phút để hồng cầu được trộn đều trong nước muối.

Bước 4: Chọn chương trình ly tâm phù hợp và ly tâm.

Bước 5: Đặt túi khối hồng cầu đã ly tâm lên bàn ép. Sát trùng, cắt nối túi khối hồng cầu với túi máu rỗng 1.000 ml để chứa dịch nổi.

- Ép dịch nổi chảy sang túi máu rỗng.

- Dừng ép khi mặt phân cách giữa hai lớp hồng cầu và dịch nổi dâng sát lên mép trên của túi. Hàn rời túi khối hồng cầu và túi chứa dịch nổi.

Bước 6: Thực hiện lặp lại các bước sau 2 lần: bổ sung dung dịch NaCl 0,9% vào túi khối hồng cầu; ly tâm túi khối hồng cầu; nối túi khối hồng cầu với túi chuyển đựng dịch nổi; ép dịch nổi sang túi chuyển.

- Khi kết thúc quy trình rửa, tách bỏ nước rửa cuối để tạo khối hồng cầu rửa đậm đặc. Bổ sung khoảng 30 - 40 ml dung dịch NaCl 0,9% vào túi khối hồng cầu đậm đặc.

Bước 7: Chuẩn bị huyết tương tươi/huyết tương tươi đông lạnh nhóm AB: làm tan đông, cân túi, tính thể tích.

- Tính thể tích huyết tương tươi nhóm AB để bổ sung vào khối hồng cầu rửa (theo phụ lục 1).

Bước 8: Nối vô trùng túi khối hồng cầu rửa và túi huyết tương tươi nhóm AB, dùng kẹp nhựa kẹp dây túi khối hồng cầu rửa, không trộn hai túi với nhau. Khi nào sử dụng cho người bệnh thì tháo kẹp cho túi huyết tương tươi nhóm AB chảy vào túi khối hồng cầu, lắc nhẹ để hồng cầu và huyết tương được trộn đều.

Bước 9: Hoàn thiện nhãn của từng túi chế phẩm: dán nhãn và hồ sơ điều chế.

- Bảo quản ở nhiệt độ từ 2 - 6 ^{o}C, hạn sử dụng trong vòng 4 giờ kể từ khi kết thúc điều chế.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi khối hồng cầu: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Do túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

PHỤ LỤC 1

BẢNG TÍNH THỂ TÍCH HUYẾT TƯƠNG TƯƠI ĐÔNG LẠNH NHÓM AB CẦN SỬ DỤNG BÙ VỚI KHỐI HỒNG CẦU NHÓM O

Nguyên liệu		Khối hồng cầu rửa nhóm O đã hòa loãng HT nhóm AB
Khối hồng cầu nhóm O	**HT nhóm AB**	
Khối hồng cầu tách từ 450 ml máu toàn phần Thể tích thực: 150 ± 10% ml	200 ± 10% ml	- Thể tích thực: 290 ± 10% ml - Hb: ≥ 40 g; - Hct: 0,4
Khối hồng cầu tách từ 350 ml máu toàn phần Thể tích thực: 115 ± 10% ml	150 ± 10% ml	- Thể tích thực: 220 ± 10% ml - Hb: ≥ 31 g; - Hct: 0,4
Khối hồng cầu tách từ 250 ml máu toàn phần Thể tích thực: 80 ± 10% ml	100 ± 10% ml	- Thể tích thực: 160 ± 10% ml; - Hb: ≥ 22 g; - Hct: 0,4.

219. ĐIỀU CHẾ MÁU TOÀN PHẦN LỌC BẠCH CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế máu toàn phần lọc bạch cầu từ máu toàn phần có gắn sẵn hoặc không gắn sẵn bộ lọc bạch cầu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Lọc bạch cầu trong máu toàn phần trước khi điều chế nhằm giảm thiểu tác dụng không mong muốn của bạch cầu đối với tất cả các thành phần máu sẽ được điều chế từ đơn vị máu toàn phần.

- Dựa vào kích thước và bản chất của từng thành phần máu, khi cho máu toàn phần chảy qua màng lọc, màng lọc giữ bạch cầu lại và thu được máu toàn phần loại bỏ bạch cầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 1 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít lọc bạch cầu sử dụng cho máu toàn phần.
- Túi rỗng để đựng máu toàn phần lọc bạch cầu.
- Máu toàn phần lấy vào bộ túi 4 có gắn sẵn bộ lọc bạch cầu, trong đó có một túi đựng dung dịch bảo quản để bổ sung vào túi khối hồng cầu.
- Kẹp nhựa gài dây túi máu;
- Móc treo;
- Bút marker, bút bi;
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Chun vòng;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy hàn dây túi máu;
- Máy nối dây vô trùng;
- Xe đẩy;
- Giá đựng inox;
- Dụng cụ đựng túi máu;
- Giá treo túi máu;

- Giá đỡ túi máu;
- Kìm vuốt.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Đơn vị máu toàn phần từ người hiến máu đã có kết quả xét nghiệm an toàn.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế máu toàn phần lọc bạch cầu.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Sử dụng phin lọc bạch cầu tách rời

Bước 1: Dùng máy nối vô trùng nối túi máu toàn phần với bộ kít lọc bạch cầu.

Bước 2: Treo túi máu toàn phần lên cao để toàn bộ máu toàn phần chảy tự nhiên qua bộ lọc bạch cầu vào túi rỗng (túi máu toàn phần đã lọc bạch cầu).

Bước 3: Hàn rời túi máu toàn phần lọc bạch cầu.

Bước 4: Lấy mẫu để kiểm tra chất lượng theo quy định/kế hoạch.

Bước 5: Hoàn thiện túi máu toàn phần lọc bạch cầu: hàn dây, dán nhãn và lưu hồ sơ điều chế.

Bước 6: Bảo quản máu toàn phần lọc bạch cầu.

4.1.2. Sử dụng bộ túi bốn có gắn sẵn bộ lọc bạch cầu.

Bước 1: Bẻ van túi máu toàn phần có gắn sẵn bộ lọc bạch cầu với túi rỗng.

Bước 2: Treo túi máu toàn phần lên cao để toàn bộ máu toàn phần chảy tự nhiên qua bộ lọc bạch cầu vào bộ túi chứa đính kèm với các túi chuyển.

Bước 3: Hàn rời bộ túi máu toàn phần lọc bạch cầu (bao gồm các túi chuyển đính kèm). Đây là máu toàn phần nguyên liệu điều chế các chế phẩm lọc bạch cầu.

Bước 4: Lấy mẫu để kiểm tra chất lượng theo quy định/kế hoạch.

Bước 5: Bảo quản máu toàn phần lọc bạch cầu.

4.2. Nhận định kết quả

- Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Do túi máu toàn phần: bị thủng túi, tan máu. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.
- Do máy ly tâm và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật:

- Do túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối hồng cầu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.
- Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.
- Ghi hồ sơ xử lý các sản phẩm đối với các chế phẩm máu không đạt tiêu chuẩn chất lượng theo quy định.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu lọc bạch cầu.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Andrew and et all (2019), Not all red cell concentrate units are equivalent: international survey of processing and in vitro quality data, Vox Sanguinis 12836, DOI: 10.1111, p.1-12.

4. Ana Isabel Perez Aliaga (2021), Improvement of Blood Processing and Safety by Automation and Pathogen Reduction Technology, Transfusion Medicine and Hemotherapy, DOI:10.1159/000516696.

5. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

6. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

220. ĐIỀU CHẾ KHỐI TIỂU CẦU ĐÔNG LẠNH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế khối tiểu cầu đông lạnh và tan đông tiểu cầu đông lạnh trước khi sử dụng cho người bệnh

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Sử dụng dung dịch DMSO 6% w/v để bảo quản tiểu cầu tránh bị tổn thương ở nhiệt độ đông lạnh. Tiểu cầu được bảo quản ở nhiệt độ đông lạnh (-60^{o}C đến -80^{o}C hoặc trong môi trường nitơ lỏng dưới -150^{o}C). Trước khi truyền cho người bệnh, khối tiểu cầu đông lạnh phải được làm tan đông, rửa, loại bỏ DMSO và hòa loãng trong huyết tương phù hợp hoặc trong dung dịch bảo quản tiểu cầu.
- Tiểu cầu được làm đông lạnh trong vòng 24 giờ kể từ tiếp nhận.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/ Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít làm đông lạnh tiểu cầu (dung dịch DMSO, túi bảo quản tiểu cầu đông lạnh).
- Bộ kít rửa và loại bỏ DMSO (kít rửa, dung dịch NaCl các nồng độ khác nhau và dung dịch bảo quản).
- Các loại hệ thống túi máu.
- Mối nối vô trùng.
- Túi máu rỗng
- Kẹp nhựa gài dây túi máu.
- Dây truyền dịch
- Bút bi, bút marker.
- Găng tay vô trùng;
- Khẩu trang;
- Mũ giấy;
- Quần áo, giày dép bảo hộ;
- Dung dịch khử khuẩn;
- Giấy lau tay;
- Nhãn;
- Mực in nhiệt;
- Túi nilon;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm lạnh chuyên dụng.
- Máy rửa chế phẩm máu chuyên dụng.
- Cân thăng bằng và vật liệu cân bằng (mảnh cao su, túi rỗng, túi đệm xốp…).

- Máy hàn dây túi máu.
- Máy nối dây vô trùng.
- Tủ lạnh/ Nhà lạnh bảo quản ở nhiệt độ 2 - 6 ^{o}C.
- Quầy đông lạnh ≤ - 80 ^{o}C/ Bình Nitơ lỏng ≤ - 150 ^{o}C.
- Thiết bị theo dõi nhiệt độ.
- Máy lắc.
- Bình cách thủy 37^{o}C.
- Tủ an toàn sinh học.
- Bàn ép, máy ép, cân.
- Kìm vuốt dây máu, kéo.
- Máy tính.
- Máy in nhãn.
- Máy quét mã vạch.
- Xe đẩy.
- Giá đựng inox.
- Dụng cụ đựng túi máu.
- Giá đỡ túi máu.
- Kìm vuốt.
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tiểu cầu điều chế từ máu toàn phần, khối tiểu cầu gạn tách có kết quả xét nghiệm an toàn, bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24 ^{o}C.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế khối tiểu cầu.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- Bảo quản vật tư đúng điều kiện quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc và bật đèn chiếu UV cuối ngày làm việc.
- Trang thiết bị được bảo dưỡng định kỳ theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Đông lạnh tiểu cầu bằng DMSO 6% w/v trong quầy lạnh /nitơ lỏng.

Bước 1: Nối vô trùng và bổ sung dung dịch DMSO 6% w/v vào túi khối tiểu cầu cần đông lạnh.

Bước 2: Lắc đều, hoàn thiện túi khối tiểu cầu.

Bước 3: Dán nhãn và bảo quản hồng cầu đông lạnh.

4.1.2. Làm tan đông tiểu cầu đông lạnh và loại bỏ DMSO.

Bước 1: Đặt túi tiểu cầu đông lạnh vào bình cách thuỷ 37^{o}C trong 10 phút.

Bước 2: Thực hiện kỹ thuật rửa loại bỏ DMSO trong khối tiểu cầu bằng máy rửa chế phẩm tự động.

Bước 3: Kết thúc quy trình rửa. Bổ sung dung dịch bảo quản hoặc huyết tương phù hợp.

Bước 4: Lắc, trộn đều khối tiểu cầu và bảo quản ở nhiệt độ 20 - 24 ^{o}C.

Bước 5: Lấy mẫu kiểm tra chất lượng theo quy định/ kế hoạch.

Bước 6: Hoàn thiện, dán nhãn chế phẩm máu.

4.2. Nhận định kết quả

Chế phẩm có đầy đủ nhãn mác, thông tin rõ ràng theo quy định.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Bàn giao cho bộ phận lưu trữ để bảo quản và cấp phát.
- Lưu hồ sơ chế phẩm có liên quan theo quy định.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Do túi khối tiểu cầu: bị thủng túi. Giải pháp: Huỷ bỏ túi khối tiểu cầu.
- Do máy ly tâm, máy rửa tự động và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Giải pháp: kiểm tra hoạt động an toàn của các máy và dụng cụ trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Do túi máu bị thủng. Giải pháp: Huỷ bỏ túi chế phẩm máu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Do dán sai nhãn. Giải pháp: đối chiếu thông tin và dán lại nhãn.
- Do bị hở ống dây túi chế phẩm trong quá trình hàn ống dây. Giải pháp: kẹp ống dây trước khi hàn ống dây và kiểm tra mối hàn ngay sau khi hàn.

Ghi chú: Trong quá trình ly tâm và điều chế, túi máu/chế phẩm bị vỡ hoặc rò rỉ phải làm sạch bằng nước và dung dịch khử khuẩn.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra tính toàn vẹn của túi chế phẩm.
- Kiểm tra chất lượng theo quy định của khối hồng cầu đông lạnh.
- Bảo dưỡng máy móc đúng quy định.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư Hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013.

2. Đỗ Trung Phấn (2013), Kỹ thuật xét nghiệm và truyền máu, NXB Y học.

3. Council of Europe (2023), Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 21th edition.

4. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

221. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC ANTI-HBc ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HOÁ PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể HBc trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Xét nghiệm sàng lọc anti-HBc dựa trên nguyên lý miễn dịch hóa phát quang nhằm phát hiện định tính anti-HBc.

- Kháng thể chống lại kháng nguyên lõi của vi rút viêm gan B có trong mẫu bệnh phẩm sẽ gắn với vi hạt phủ kháng nguyên lõi HBcAg tạo thành hỗn hợp phản ứng sau khi thêm chất có đánh dấu. Bổ sung dung dịch hỗ trợ sẽ tạo phản ứng giải phóng photon. Năng lượng được đo dưới dạng cường độ ánh sáng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Khay inox để chứa thanh xếp mẫu;
- Thanh chứa ống mẫu xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Ống phản ứng;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;
- Dung dịch rửa tay;

- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 3-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Đăng nhập vào máy.
- Bảo dưỡng máy đầu ngày.
- Nạp thuốc thử, vật tư tiêu hao vào máy.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện Calibration (nếu có);
- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 4. Thực hiện xét nghiệm

- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy và thực hiện xét nghiệm theo quy trình đã được phê duyệt.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Đánh giá theo tiêu chuẩn nhà sản xuất

Chạy kiểm tra mẫu chứng, kết quả của mẫu chứng phải nằm trong khoảng giới hạn của nhà sản xuất đã công bố trong mỗi lô hóa chất anti-HBc khác nhau.

4.2.2. Đánh giá theo tiêu chuẩn phòng xét nghiệm

Chứng nội kiểm, ngoại kiểm (nếu có).

4.2.3. Kết quả và báo cáo

- Mẫu có giá trị S/CO < 1,0: Kết luận âm tính.
- Mẫu có giá trị S/CO ≥ 1,0: Kết luận dương tính.
- Tất cả các mẫu làm xét nghiệm lần 1 cho kết quả là dương tính cần phải kiểm tra lại 2 lần trên cùng bộ sinh phẩm:

+ Nếu cả hai kết quả lặp lại < 1,0: Kết luận âm tính.

+ Nếu một trong hai lần lặp lại có kết quả ≥ 1,0: Kết luận dương tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý mẫu xét nghiệm mã barcode để tránh sai sót.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm.

222. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC GIANG MAI ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT RPR

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể giang mai trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Sinh phẩm RPR chứa các hạt cacbon có gắn kháng nguyên không đặc hiệu giang mai, các kháng nguyên này kết hợp với kháng thể không đặc hiệu giang mai có trong mẫu bệnh phẩm tạo thành các đám ngưng kết có thể quan sát bằng mắt thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. *Dụng cụ*

- Pipetman;
- Hộp đựng đầu côn;
- Giá cắm ống nghiệm;.
- Que nhựa/ que thủy tinh.

2.2.2. Sinh phẩm, hoá chất

- Mẫu chứng dương;
- Mẫu chứng âm;
- RPR Cacbon Antigen.

2.2.3. *Vật tư tiêu hao*

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Phiến xét nghiệm;
- Đầu côn các loại;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 in kết quả;
- Dung dịch rửa tay ;
- Túi rác thải y tế;

- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm;
- Máy lắc;
- Bộ lưu điện;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 2-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 01 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng Xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị mẫu và hóa chất:

- Ly tâm mẫu xét nghiệm.
- Đưa thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi thực hiện xét nghiệm.

Bước 2: Lập sơ đồ nhỏ mẫu

- Lấy đủ phiến cho lượng mẫu xét nghiệm (mỗi mẫu xét nghiệm tương ứng với 1 ô tròn trên phiến nhỏ mẫu).
- Viết thông tin cho mỗi ô tròn trên phiến xét nghiệm (ví dụ: biểu đồ phía dưới).

RPR TEST CARD									
◯	◯	◯							
NC	PC	IQC-GM							
1	2	3	…	…	..	..	..	..	..
..	..	..	…	…	..	..	..	..	..
Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm	Mẫu bệnh phẩm

- Lập sơ đồ nhỏ mẫu RPR tương ứng vào hồ sơ.

Bước 3: Nhỏ mẫu chứng

- Thực hiện mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm vào các ô xét nghiệm.
- Nhỏ kháng nguyên không đặc hiệu RPR Cacbon Antigen vào mỗi vị trí đã nhỏ mẫu hoặc nhỏ chứng.
- Dùng que nhựa/que thủy tinh dàn đều hỗn hợp trong ô tròn, tránh tràn ra ngoài vòng. Mỗi mẫu dùng 1 que khuấy riêng.
- Đặt phiến lên máy lắc theo hướng dẫn của sinh phẩm.
- Khi mẫu chứng đạt yêu cầu theo quy định thì mới tiến hành xét nghiệm trên mẫu bệnh phẩm.

Bước 4: Nhỏ mẫu xét nghiệm

- Nhỏ mẫu xét nghiệm tại các vị trí tương ứng trên phiến.
- Lắc nhẹ để trộn đều lọ RPR Cacbon Antigen.
- Nhỏ dung dịch RPR Cacbon Antigen vào mỗi vị trí trên phiến.
- Dùng que nhựa/que thủy tinh dàn đều hỗn hợp trong ô tròn. Mỗi mẫu dùng 1 que khuấy riêng.
- Đặt phiến giấy lên máy lắc theo hướng dẫn của sinh phẩm.
- Đọc kết quả và biện luận kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. *Điều kiện chấp nhận kết quả mẫu chứng*

- Chứng dương: Kết quả dương tính.
- Chứng âm: Kết quả âm tính.

4.2.2. *Nhận định kết quả theo các mức sau*

- Phản ứng:

+ Phản ứng mạnh (ngưng kết 2+): Đám ngưng kết lớn quanh ngoại vi

+ Phản ứng yếu (ngưng kết 1+): Đám ngưng kết mịn quanh ngoại vi

- Không phản ứng (-): Không có đám cacbon ngưng kết

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

- Điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm (nhiệt độ, độ ẩm, vệ sinh), khu vực thao tác xét nghiệm, sự tuân thủ quy trình của nhân viên.... không được đảm bảo gây nhiễm chéo trong quá trình xét nghiệm.

Giải pháp: Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm, kiểm tra giám sát nhân viên tuân thủ quy trình làm xét nghiệm để tránh nhiễm chéo.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: Thực hiện lại quy trình kỹ thuật, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Kết quả dương tính giả có thể xảy ra khi người bệnh mắc bệnh bạch cầu đơn nhân, bệnh phong, bệnh Lupus ban đỏ, bệnh Toxoplasmisis, người bệnh nghiện ma túy.

Giải pháp: Thực hiện lại xét nghiệm bằng kỹ thuật có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý mẫu xét nghiệm mã barcode để tránh sai sót.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm.
- Hướng dẫn sử dụng thiết bị xét nghiệm.

223. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC GIANG MAI ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT HỒNG CẦU/VI HẠT THỤ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể kháng Treponema Pallidum trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm sàng lọc giang mai dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Các kháng nguyên T. Pallidum được gắn trên bề mặt hạt nhựa kết hợp đặc hiệu với kháng thể kháng T. Pallidum có trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipetman.
- Giá đỡ tấm gelcard.
- Hộp đựng đầu côn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm.
- Khay chứa hóa chất.

2.2.2. Hoá chất, thuốc thử

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Ống phản ứng;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;

- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;
- Dung dịch rửa tay;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 1,5-2 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 04 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.

Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.

- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Đăng nhập vào máy.
- Bảo dưỡng máy đầu ngày.
- Nạp thuốc thử, vật tư tiêu hao vào máy.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện Calibration (nếu có).
- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 4. Thực hiện xét nghiệm

- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy và thực hiện xét nghiệm theo quy trình đã được phê duyệt.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Biện luận kết quả mẫu chứng

- Mẫu chứng dương cho kết quả dương tính: Kết luận đạt, tiến hành làm xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.
- Mẫu chứng cho kết quả nghi ngờ: Thực hiện lại xét nghiệm mẫu chứng dương.

4.2.2. Đọc và biện luận kết quả xét nghiệm

- Mẫu cho kết quả âm tính: Kết luận âm tính.
- Mẫu cho kết quả dương tính: Kết luận dương tính.
- Tất cả các mẫu làm xét nghiệm lần 1 cho kết quả dương tính cần phải kiểm tra lại 2 lần:

+Nếu cả 2 lần lặp lại cho kết quả âm tính : Kết luận âm tính

+ Nếu một trong hai lần lặp lại cho kết quả dương tính: Kết luận dương tính

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ LÝ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý mẫu xét nghiệm mã barcode để tránh sai sót.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm.

224. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HBV ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính kháng nguyên bề mặt vi rút viêm gan B trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Xét nghiệm sàng lọc HBsAg dựa trên nguyên lý bắt cặp: Kháng nguyên HBsAg có trong mẫu xét nghiệm sẽ kết hợp đặc hiệu với anti-HBs phủ trên các vi hạt thuận từ và chất kết hợp anti-HBs có đánh dấu chất phát quang.

- Bổ sung dung dịch hỗ trợ sẽ tạo phản ứng giải phóng photon, năng lượng được đo dưới dạng cường độ ánh sáng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Khay xếp mẫu;
- Thanh chứa ống mẫu xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hoá chất

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Ống phản ứng;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;
- Dung dịch rửa tay;

- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 2-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Đăng nhập vào máy;

- Bảo dưỡng máy đầu ngày;
- Nạp thuốc thử, vật tư tiêu hao vào máy.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện Calibration (nếu có);
- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 4. Thực hiện xét nghiệm

- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy và thực hiện xét nghiệm theo quy trình đã được phê duyệt.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Mẫu có giá trị S/CO < 1,0: Kết luận âm tính.
- Mẫu có giá trị S/CO ≥ 1,0: Kết luận dương tính.
- Tất cả các mẫu làm xét nghiệm lần 1 cho kết quả là dương tính cần phải kiểm tra lại 2 lần trên cùng bộ sinh phẩm:

+ Nếu cả hai kết quả lặp lại < 1,0: Kết luận âm tính.

+ Nếu một trong hai lần lặp lại có kết quả ≥ 1,0: Kết luận dương tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: kiểm tra chỉ định xét nghiệm và mẫu máu trước khi thực hiện xét nghiệm.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm xét nghiệm.

225. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HCV ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính kháng thể kháng vi rút viêm gan C có trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Xét nghiệm sàng lọc anti-HCV dựa trên nguyên lý bắt cặp giữa kháng nguyên và kháng thể. Kháng thể HCV có trong mẫu bệnh phẩm sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên HCV tái tổ hợp và chất kết hợp anti-human có đánh dấu Acridium để hình thành hỗn hợp phản ứng.

- Bổ sung dung dịch hỗ trợ sẽ tạo phản ứng giải phóng photon, năng lượng được đo dưới dạng cường độ ánh sáng.

2. CHUẨN Bị

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Khay xếp mẫu;
- Thanh chứa ống mẫu xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, thuốc thử

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Ống phản ứng;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;

- Dung dịch rửa tay;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 2-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Đăng nhập vào máy;

- Bảo dưỡng máy đầu ngày;
- Nạp thuốc thử, vật tư tiêu hao vào máy.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện Calibration (nếu có);
- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 4. Thực hiện xét nghiệm

- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy và thực hiện xét nghiệm theo quy trình đã được phê duyệt.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Mẫu có giá trị S/CO < 1,0: Kết luận âm tính.
- Mẫu có giá trị S/CO ≥ 1,0: Kết luận dương tính.
- Tất cả các mẫu làm xét nghiệm lần 1 cho kết quả là dương tính cần phải kiểm tra lại 2 lần trên cùng bộ sinh phẩm:

+ Nếu cả hai kết quả lặp lại < 1,0: Kết luận âm tính.

+ Nếu một trong hai lần lặp lại có kết quả ≥ 1,0: Kết luận dương tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: kiểm tra chỉ định xét nghiệm và mẫu máu trước khi thực hiện xét nghiệm.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm xét nghiệm.

226. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm phát hiện đồng thời kháng nguyên và kháng thể kháng vi rút gây suy giảm miễn dịch ở người tuýp 1 và/hoặc tuýp 2 (HIV-1/HIV-2) trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa trên nguyên lý bắt cặp: Kháng nguyên HIV và các kháng thể kháng HIV-1/HIV-2 có trong mẫu bệnh phẩm sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên HIV-1/HIV-2 và kháng thể đơn dòng HIV p24 phủ trên bề mặt các vi hạt thuận từ tạo phản ứng kháng nguyên – kháng thể. Bổ sung chất cộng hợp có chứa kháng nguyên HIV-1/HIV-2 và kháng thể đơn dòng HIV p24 có đánh dấu chất phát quang. Bổ sung dung dịch hỗ trợ sẽ tạo phản ứng giải phóng photon, năng lượng được đo dưới dạng cường độ ánh sáng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Khay xếp mẫu.
- Thanh chứa ống mẫu xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hoá chất

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.3. *Vật tư tiêu hao*

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Ống phản ứng;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;

- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;
- Dung dịch rửa tay;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 2-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Đăng nhập vào máy.
- Bảo dưỡng máy đầu ngày.
- Nạp thuốc thử, vật tư tiêu hao vào máy.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện Calibration (nếu có).
- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 4. Thực hiện xét nghiệm

- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy và thực hiện xét nghiệm theo quy trình đã được phê duyệt.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Mẫu có giá trị S/CO ≥ 1,0: Kết luận dương tính.
- Tất cả các mẫu làm xét nghiệm lần 1 cho kết quả là dương tính cần phải kiểm tra lại 2 lần trên cùng bộ sinh phẩm:

+ Nếu cả hai kết quả lặp lại < 1,0: Kết luận âm tính.

+ Nếu một trong hai lần lặp lại có kết quả ≥ 1,0: Kết luận dương tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: kiểm tra chỉ định xét nghiệm và mẫu máu trước khi thực hiện xét nghiệm.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng theo quy định (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm xét nghiệm.

227. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HUYẾT THANH HỌC CMV-IGM ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện định tính các kháng thể IgM kháng Cytomegalovirus trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể IgM kháng CMV có trong mẫu sẽ gắn với dịch thủy phân vi rút CMV và kháng nguyên tái tổ hợp CMV phủ trên bề mặt vi hạt, hỗn hợp được rửa. Sau đó, kháng thể kháng IgM người có đánh dấu chất phát quang được cho vào để tạo hỗn hợp phản ứng và ủ, thực hiện thêm một quá trình rửa. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLUs) kết hợp trực tiếp với lượng anti-CMV trong mẫu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Khay xếp mẫu.
- Thanh chứa ống mẫu xét nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hoá chất

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Ống phản ứng;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;

- Dung dịch rửa tay;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 2-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Đăng nhập vào máy.

- Bảo dưỡng máy đầu ngày.
- Nạp thuốc thử, vật tư tiêu hao vào máy.

Bước 3: Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện Calibration (nếu có).
- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 4: Thực hiện xét nghiệm

- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy và thực hiện xét nghiệm theo quy trình đã được phê duyệt.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Mẫu có giá trị S/CO < 0,85: Kết luận âm tính.
- Mẫu có giá trị S/CO ≥ 0,85: Kết luận dương tính.
- Tất cả các mẫu làm xét nghiệm lần 1 cho kết quả là dương tính cần phải kiểm tra lại 2 lần trên cùng bộ sinh phẩm:

+ Nếu cả hai kết quả lặp lại < 0,85: Kết luận âm tính.

+ Nếu một trong hai lần lặp lại có kết quả ≥ 0,85: Kết luận dương tính.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Giải pháp: thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Trả sai kết quả xét nghiệm.
- Giải pháp: kiểm tra chỉ định xét nghiệm và mẫu máu trước khi thực hiện xét nghiệm.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm xét nghiệm.

228. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định sự có mặt của kháng thể bất thường có trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể sẽ xảy ra nếu trong huyết thanh hoặc huyết tương có kháng thể đặc hiệu với các kháng nguyên tương ứng có trên bề mặt các hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Thanh xếp mẫu;
- Khay inox để chứa thanh xếp mẫu;
- Thanh chứa ống mẫu xét nghiệm;
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Huyết thanh mẫu.
- Hồng cầu mẫu.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch đệm cô đặc.
- Dung dịch tráng máy.
- Dung dịch tráng kim.
- Mẫu nội kiểm (nếu có).
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có).
- Dung dịch sát khuẩn.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Phiến xét nghiệm;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Pipet nhựa
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay;

- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;
- Dung dịch rửa tay;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch;
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 2-4 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết thanh hoặc huyết tương.

Bước 2. Thực hiện xét nghiệm mẫu chứng

- Thực hiện nội kiểm, biện luận và nhận định kết quả. Kết quả nội kiểm đạt mới tiến hành xét nghiệm cho mẫu bệnh phẩm.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu mẫu bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Đưa máy về trạng thái hoạt động.
- Bổ sung, sinh phẩm, hoá chất, vật tư tiêu hao và mẫu bệnh phẩm vào máy.
- Chọn tên xét nghiệm cần thực hiện trên máy.
- Theo dõi máy xét nghiệm cho đến khi có kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc mức độ ngưng kết:

+ Không có đám ngưng kết: Hồng cầu tự do, không có đám ngưng kết.

+ Ngưng kết 1+: Các đám ngưng kết có kích thước nhỏ, có nhiều hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 2+: Các đám ngưng kết có kích thước trung bình, có ít hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 3+: Một số đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

+ Ngưng kết 4+: Một đám ngưng kết lớn, dịch nổi trong suốt, không có hồng cầu tự do.

- Nhận định kết quả:

+ Không có đám ngưng kết: Kết luận âm tính

+ Có đám ngưng kết (mức độ 1+/2+/3+/4+): Kết luận dương tính

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý mẫu xét nghiệm mã barcode để tránh sai sót.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng sinh phẩm.

229. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC PHỐI HỢP HIV, HBV, HCV BẰNG KỸ THUẬT NAT ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện ADN-HBV, ARN-HCV, ARN-HIV có trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Xét nghiệm phối hợp HIV, HBV, HCV bằng kỹ thuật NAT, phương pháp khuếch đại theo thời gian thực dựa theo nguyên lý Realtime PCR là sự kết hợp giữa khuếch đại chuỗi đích DNA/RNA theo thời gian thực. Phát hiện tín hiệu huỳnh quang tạo ra trong mỗi chu kỳ.

- Xét nghiệm phối hợp HIV, HBV, HCV bằng kỹ thuật NAT theo phương pháp khuếch đại qua trung gian phiên mã: Dưới sự hiện diện của các Co-factor, các enzyme sẽ hoạt động tiến hành tổng hợp các đoạn DNA và RNA của các gen đích đã được chọn bắt. Toàn bộ quá trình phản ứng trên xảy ra ở điều kiện đẳng nhiệt. Sản phẩm phản ứng được phát hiện dưới dạng tín hiệu ánh sáng tỷ lệ với sự có mặt của tác nhân được phát hiện.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y trình độ đại học trở lên (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Bình chứa nước thải;
- Thùng chứa chất thải rắn;
- Khay đựng dụng cụ;
- Giá cắm ống nghiệm.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Sinh phẩm chẩn đoán và các hoá chất phụ trợ khác;
- Chất chứng (nếu có);
- Mẫu ngoại kiểm (nếu có);
- Nước rửa;
- Nước khử ion.

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm;
- Đĩa xử lý mẫu;
- Đĩa khuếch đại;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Ống để trộn mẫu;
- Đĩa để lưu mẫu sau khi làm xét nghiệm;
- Miếng nhựa để dán phiếu lưu mẫu sau khi làm xét nghiệm;
- Đầu côn để lưu mẫu sau khi làm xét nghiệm;

- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Mũ giấy;
- Khẩu trang giấy;
- Găng tay không bột tan;
- Găng tay xử lý dụng cụ;
- Quần áo bảo hộ;
- Bút bi;
- Bút viết kính;
- Giấy lau tay;
- Giấy A4 để in kết quả;
- Dung dịch rửa tay;
- Túi rác thải y tế;
- Túi rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm;
- Máy gộp mẫu.
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8^{o}C;
- Tủ lạnh âm (nếu có);
- Tủ an toàn sinh học cấp 2;
- Phần mềm;
- Máy in mã vạch;
- Đầu đọc mã vạch.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch: 01 ống chống đông EDTA hoặc mẫu đã được tách huyết thanh/huyết tương.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm: Thể tích: 5-6 ml, trên ống mẫu có đầy đủ mã đơn vị máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm.
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định.
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định.
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.

- Các điều kiện môi trường trong phòng xét nghiệm bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Xét nghiệm sàng lọc phối hợp HIV, HBV, HCV bằng kỹ thuật NAT - Phương pháp khuếch đại theo thời gian thực.

4.1.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

Bước 2. Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Bật máy gộp mẫu, máy xét nghiệm.
- Vệ sinh khu vực bàn xét nghiệm, máy xét nghiệm, máy gộp mẫu, thực hiện bảo dưỡng máy đầu ngày, bảo dưỡng định kỳ (tuần, tháng) theo quy định.
- Chuẩn bị hóa chất, vật tư tiêu hao cho máy xét nghiệm.

Bước 3. Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện trộn mẫu trên máy gộp mẫu tự động theo quy trình đã được phê duyệt.

- Chuyển mẫu đã gôp vào máy xét nghiệm để máy thực hiện tách chiết, khuếch đại tác nhân đích và đọc kết quả. Các mẫu chứng (chứng âm, chứng dương) sẽ được thực hiện cùng với mẫu bệnh phẩm theo từng lượt/mẻ xét nghiệm.

- In kết quả và đẩy kết quả ra phần mềm (nếu có).

- Khử nhiễm hệ thống và khu vực làm việc sau khi kết thúc công việc hoặc khi cần thiết.

4.1.2. Nhận định kết quả

4.1.2.1. Biện luận kết quả mẫu chứng

a. Biện luận kết quả chứng âm MPX (-): Chứng âm đạt điều kiện hợp lệ (valid) khi:

- Kết quả chứng âm là Non- reactive.

- Kết quả chứng kiểm soát nội bộ (IC – Internal Control) trong chứng âm là hợp lệ (valid).

- Nếu chứng âm không hợp lệ (Invalid) thì lô xét nghiệm không có giá trị và phải làm lại xét nghiệm.

b. Biện luận kết quả chứng dương: Chứng dương đạt điều kiện hợp lệ (valid) khi:

- Chứng dương có kết quả là Reactive với gen đích có trong mẫu chứng đó.

- Kết quả chứng kiểm soát nội bộ (IC) trong mỗi chứng dương là hợp lệ (valid).

- Nếu bất kỳ chứng dương nào không hợp lệ (Invalid) thì lô đó không có giá trị và phải làm lại xét nghiệm.

4.1.2.2. Biện luận kết quả mẫu xét nghiệm

Chứng kiểm soát nội bộ (IC) được thực hiện song song và độc lập trong mỗi mẫu xét nghiệm. Kết luận cuối cùng của mẫu bệnh phẩm dựa trên kết quả của chứng IC và của mẫu xét nghiệm.

- Kết luận mẫu xét nghiệm là Non- reactive khi kết quả chứng IC là hợp lệ (Valid) và mẫu bệnh phẩm là Non- reactive.
- Kết luận mẫu xét nghiệm là Invalid khi kết quả chứng IC là không hợp lệ (Invalid) và mẫu bệnh phẩm là Non- reactive/ Invalid.
- Kết luận mẫu xét nghiệm là Reactive khi kết quả chứng IC là hợp lệ hoặc không hợp lệ (Valid/ Invalid) và mẫu bệnh phẩm là Reactive. Các mẫu Reactive cần tiến hành tiếp xét nghiệm theo "Hướng dẫn phương cách xét nghiệm NAT sàng lọc HBV, HCV, HIV cho đơn vị máu" để kết luận tình trạng nhiễm của mẫu đó.

4.2. Xét nghiệm sàng lọc phối hợp HIV, HBV, HCV bằng kỹ thuật NAT - Phương pháp khuếch đại qua trung gian phiên mã

4.2.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Nhận mẫu, bàn giao mẫu và xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định và mẫu bệnh phẩm.
- Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Nhận và bàn giao mẫu bệnh phẩm.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

Bước 2: Chuẩn bị máy xét nghiệm

- Vệ sinh khu vực bàn xét nghiệm và bàn chuẩn bị hóa chất.
- Thực hiện bảo dưỡng máy đầu ngày, bảo dưỡng định kỳ (tuần, tháng) theo quy định.
- Chuẩn bị hóa chất xét nghiệm, vật tư tiêu hao và mẫu xét nghiệm.

Bước 3: Thực hiện xét nghiệm

- Thực hiện trộn mẫu trên máy gộp mẫu.
- Thực hiện nội kiểm trên máy xét nghiệm.
- Thực hiện QC trong các trường hợp sau:

+ Khi sử dụng bộ hóa chất mới.
+ Khi bộ hóa chất đặt trên máy quá 24h.
+ Khi bộ hóa chất đã được lấy ra khỏi máy xét nghiệm.

- Thực hiện xét nghiệm trên mẫu bệnh phẩm
- Khử nhiễm hệ thống và khu vực làm việc

4.2.2. Nhận định kết quả

- Mẫu nội kiểm được thực hiện song song và độc lập trong mỗi mẫu xét nghiệm. Kết luận cuối cùng của mẫu bệnh phẩm dựa trên kết quả của mẫu nội kiểm (IC) và mẫu xét nghiệm.
- Kết luận mẫu xét nghiệm là Non- reactive (không phản ứng): khi kết quả mẫu IC là hợp lệ (Valid) và mẫu bệnh phẩm là Non- reactive.
- Kết luận mẫu xét nghiệm là Reactive (phản ứng): Khi kết quả mẫu IC là hợp lệ (Valid) và mẫu bệnh phẩm là Reactive. Cần tiến hành tiếp xét nghiệm để kết luận tình trạng nhiễm của các mẫu phản ứng đó.

- Kết luận mẫu xét nghiệm là Invalid (không hợp lệ): khi kết quả của mẫu nội kiểm (IC) là Invalid hoặc mẫu xét nghiệm là Invalid.

- Đọc kết quả:

Result (Kết quả)	**Các tiêu chuẩn đối với xét nghiệm Procleix Ultrio Elite**	**Các tiêu chuẩn đối với xét nghiệm phân biệt Procleix Ultrio Elite**
Non-Reactive (Không phản ứng)	Tỷ lệ S/CO của mẫu bệnh phẩm < 1,00 và Giá trị chứng IC ≥ CO_{IC} và Giá trị chứng IC ≤ 650.000 RLU	Tỷ lệ S/CO của mẫu bệnh phẩm < 1,00 và Giá trị chứng IC ≥ CO_{IC} và Giá trị chứng IC ≤ 475.000 RLU
Reactive (Phản ứng)	Tỷ lệ S/CO của mẫu bệnh phẩm ≥ 1,00 và Giá trị chứng IC ≤ 650.000 RLU	Tỷ lệ S/CO của mẫu bệnh phẩm ≥ 1,00 và Giá trị chứng IC ≤ 475.000 RLU
Invalid (không hợp lệ)	Giá trị chứng IC > 650.000 RLU Hoặc Tỷ lệ S/CO của mẫu bệnh phẩm < 1,00 và Giá trị chứng IC < CO_{IC}	Giá trị chứng IC > 475.000 RLU Hoặc Tỷ lệ S/CO của mẫu bệnh phẩm < 1,00 và Giá trị chứng IC < CO_{IC}
Untested (chưa thực hiện xét nghiệm)		

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ theo đúng quy định hiện hành.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm bị tan máu, đông dây, không sử dụng đúng loại chất chống đông.

Giải pháp: Kiểm tra mẫu trước khi làm xét nghiệm, không sử dụng mẫu máu bị tan máu, đông dây, kiểm tra loại chất chống đông sử dụng khi lấy mẫu xét nghiệm.

- Sinh phẩm, hóa chất không được bảo quản theo đúng quy định.

Giải pháp: Kiểm tra chất lượng sinh phẩm, hoá chất trước khi sử dụng.

- Hoạt động của máy xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

- Điều kiện môi trường phòng xét nghiệm (nhiệt độ, độ ẩm, vệ sinh), khu vực thao tác xét nghiệm, sự tuân thủ quy trình của nhân viên.... không được đảm bảo gây nhiễm chéo trong quá trình xét nghiệm.

Giải pháp: Theo dõi nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm, kiểm tra giám sát nhân viên tuân thủ quy trình làm xét nghiệm để tránh nhiễm chéo.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

Giải pháp: Thực hiện lại quy trình kỹ thuật, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Việc phát hiện RNA của HIV-1 nhóm M, nhóm O, HIV-2, RNA của HCV và DNA của HBV phụ thuộc vào số lượng vi rút có trong mẫu bệnh phẩm. Do vậy kết quả xét nghiệm có thể bị ảnh hưởng bởi cách lấy mẫu, hoặc phương pháp gộp mẫu thực hiện trong phòng xét nghiệm.

Giải pháp: Kiểm tra, giám sát việc tuân thủ quy trình lấy mẫu, gộp mẫu trong khi thực hiện xét nghiệm.

- Các vùng bảo tồn của bộ gen vi rút được phát hiện bởi mồi và mẫu dò huỳnh quang đặc hiệu trong xét nghiệm. Trong trường hợp đặc biệt các vùng gen này bị đột biến có thể khiến bộ kit không thể phát hiện được vi rút.

Giải pháp: Sử dụng bộ sinh phẩm có khả năng phát hiện được các vùng gen bị đột biến.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý mẫu xét nghiệm mã barcode để tránh sai sót.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm theo quy định (nếu có).
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù (nếu có).
- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Thông tư số 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013.
- Tổ chức YTTG (2011): Máu và các sản phẩm máu an toàn: Quyển 2 sàng lọc HIV và các tác nhân nhiễm trùng khác.
- Hướng dẫn sử dụng máy xét nghiệm và máy trộn mẫu
- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm xét nghiệm.

230. XÉT NGHIỆM TRƯỚC HIẾN MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Lựa chọn được những người hiến máu đạt tiêu chuẩn về nồng độ hemoglobin và kết quả xét nghiệm HBsAg, nhằm đảm bảo an toàn truyền máu và chất lượng đơn vị máu.

1.2 Định nghĩa, nguyên lý

- Phương pháp đồng sun phát: Khi nhỏ máu vào dung dịch đồng sun phát, protein phản ứng tạo màng proteinate đồng bao quanh giọt máu, ổn định tỷ trọng trong 15 giây. Nếu tỷ trọng máu lớn hơn dung dịch, giọt máu chìm; nếu nhỏ hơn, giọt máu nổi.

- Xét nghiệm nhanh HBsAg: Dựa trên nguyên lý miễn dịch sắc ký enzyme; kháng thể đơn dòng anti-HBsAg cố định trên màng phản ứng gắn với HBsAg trong mẫu, tạo phản ứng sinh màu. Vạch màu tại vùng thử biểu thị kết quả dương tính.

1.3. Phạm vi áp dụng

- Xét nghiệm nồng độ hemoglobin trước hiến máu cho tất cả người đăng ký hiến máu.

- Xét nghiệm nhanh HBsAg trước hiến máu đối với người đăng ký hiến máu lần đầu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Nhân lực

- Điều dưỡng/ kỹ thuật y: 01 người
- Nhân lực hỗ trợ: 01 người

2.2. Vật tư

- Ống nghiệm chống đông EDTA
- Bơm tiêm;
- Bông;
- Găng tay;
- Cồn 70%;
- Dung dịch sát khuẩn tay nhanh;
- Kít xét nghiệm HBsAg;
- Dung dịch đồng sun phát (nếu áp dụng phương pháp đo trọng lượng);
- Hoá chất xét nghiệm (tuỳ từng phương pháp);
- Túi đựng rác;
- Vật liệu khác.

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm ống nghiệm;
- Thiết bị đo nồng độ hemoglobin (đo quang hoặc máy đếm tế bào)
- Đồng hồ;
- Khay inox;
- Pank;
- Hộp đựng bông;

- Dây garo;
- Giá đựng ống nghiệm;
- Kê tay;
- Thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Mẫu xét nghiệm: mẫu máu lấy vào ống chống đông EDTA, thể tích 1,5 – 2ml.

2.5. Hồ sơ

Phiếu đăng ký hiến máu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện kỹ thuật 0.25 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng/khu vực xét nghiệm phù hợp.

3. AN TOÀN

- Thực hiện đúng quy trình kỹ thuật.
- Nhân viên thực hiện kỹ thuật phải mang găng tay trong suốt quá trình thao tác kỹ thuật.
- Kít xét nghiệm phải được kiểm tra, ghi nhận số lô và hạn sử dụng vào hồ sơ.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Thu gom, phân loại rác đúng quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1. Lấy mẫu xét nghiệm trước hiến máu: Thực hiện quy trình lấy máu tĩnh mạch theo quy định.

Bước 2. Xét nghiệm nồng độ hemoglobin:

- Sử dụng một trong các phương pháp phù hợp như: đếm tế bào tự động, đo quang phổ, đồng sun phát,…
- Nếu dùng phương pháp đếm tế bào tự động hoặc đo quang phổ: thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Nếu dùng phương pháp đồng sun phát:

1. Nhỏ mẫu máu: Dùng pipet hút mẫu máu từ ống nghiệm, nhỏ 1 giọt cách bề mặt dung dịch đồng sun phát khoảng 1 cm.
2. Quan sát giọt máu trong 15 giây

+ Nếu giọt máu chìm, đạt yêu cầu.

+ Nếu giọt máu lơ lửng/nổi, nhỏ lại lần 2

- Lần 2 giọt máu lơ lửng/nổi, kết luận không đạt.
- Lần 2 giọt máu chìm, làm lại lần 3, lấy kết quả trùng nhau của 2 lần.

Bước 3. Xét nghiệm nhanh HBsAg: Thực hiện phát hiện kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B từ mẫu máu đã lấy, theo hướng dẫn của nhà sản xuất kít xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Xét nghiệm hemoglobin: đạt/không đạt điều kiện theo ngưỡng quy định.
- Xét nghiệm nhanh HBsAg:

+ Âm tính: Không phát hiện kháng nguyên HBsAg.

+ Dương tính: Phát hiện kháng nguyên HBsAg.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ghi kết quả xét nghiệm vào phiếu đăng ký hiến máu.

- Chuyển kết quả cho bộ phận tiếp nhận hiến máu để quyết định tiếp tục hoặc trì hoãn quy trình hiến máu.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Mẫu máu xét nghiệm không đủ thể tích (< 1,5 ml). Xử trí: hủy và lấy lại mẫu mới đúng quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Kít xét nghiệm nhanh HBsAg không xuất hiện vạch chứng. Xử trí: loại bỏ kết quả, kiểm tra do kỹ thuật hoặc do chất lượng của kít, thay kít mới và làm lại xét nghiệm từ đầu.

- Giọt máu trong phương pháp đồng sun phát tạo bọt khí hoặc tách giọt. Xử trí: nhỏ lại giọt máu mới từ cùng mẫu, thao tác đúng kỹ thuật.

- Huyết tương đục, có dấu hiệu tan máu (vỡ hồng cầu). Xử trí: nếu tan máu, lấy lại mẫu máu mới; nếu huyết tương đục, tư vấn người hiến đến vào thời điểm khác.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc và nhận định sai kết quả xét nghiệm. Xử trí: Thực hiện lại xét nghiệm, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên.

- Ghi nhầm hoặc thiếu kết quả vào hồ sơ. Xử trí: sửa trực tiếp trên hồ sơ theo quy định, có ký xác nhận của người chịu trách nhiệm.

6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 26/2013/TT- BYT – TT hướng dẫn hoạt động truyền máu.

2. Máu và các sản phẩm máu an toàn: Cho máu an toàn năm 2011.

231. LẤY MÁU TOÀN PHẦN TỪ NGƯỜI HIẾN MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Thực hiện việc lấy máu toàn phần từ người hiến máu đủ tiêu chuẩn nhằm đảm bảo an toàn cho người hiến, duy trì chất lượng đơn vị máu và đáp ứng yêu cầu an toàn truyền máu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Máu toàn phần là máu được lấy từ tĩnh mạch người hiến máu có chứa các loại tế bào máu, huyết tương và được chống đông.
- Đơn vị máu là một thể tích máu hoặc chế phẩm máu được đóng trong túi riêng biệt.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Nhân lực

- Điều dưỡng/kỹ thuật y: 01 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 01 người

2.2. Vật tư

- Túi máu;
- Bông;
- Gạc cầm máu;
- Băng cầm máu;
- Băng dính;
- Găng tay;
- Dung dịch sát khuẩn da;
- Dung dịch sát khuẩn tay nhanh;
- Ống nghiệm các loại;
- Barcode đơn vị máu;
- Bút viết;
- Túi rác;
- Vật tư khác.

2.3. Trang thiết bị

- Máy hàn dây;
- Máy tính;
- Thiết bị đọc Barcode;
- Thiết bị phát wifi;
- Dây điện;
- Thùng bảo quản máu;
- Giường lấy máu;
- Bàn lấy máu,
- Ghế ngồi;
- Máy lắc và cân túi máu tự động (hoặc dùng cân phù hợp);
- Khay inox;
- Pank;
- Kéo;

- Kìm vuốt;
- Hộp inox,
- Dây garo;
- Quả bóp;
- Giá để túi máu
- Xe đẩy;
- Ga trải bàn;
- Đá bảo quản máu;
- Phần mềm quản lý người hiến máu;
- Thiết bị, dụng cụ khác.

2.4. Hồ sơ

- Phiếu đăng ký hiến máu.
- Phiếu bàn giao máu, hồ sơ, mẫu xét nghiệm.

2.5. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện kỹ thuật 0.5 giờ.

2.6. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng/khu vực lấy máu phù hợp.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo an toàn cho người hiến máu trước trong và sau hiến máu.
- Đảm bảo an toàn cho đơn vị máu: vô trùng, lấy máu trong hệ thống kín, lấy đúng thể tích.
- Nhân viên đeo găng khi thực hiện kỹ thuật.
- Y dụng cụ lấy máu được hấp sấy trước khi sử dụng.
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.
- Thu gom, phân loại rác đúng quy định.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện lấy máu toàn phần bằng túi dẻo

Bước 1. Chuẩn bị trước lấy máu

- Chuẩn bị đối với điều dưỡng/Kỹ thuật y: Rửa tay thường quy/sát khuẩn tay nhanh, đeo găng tay.
- Chuẩn bị đối với người hiến máu.

+ Kiểm tra hồ sơ và đối chiếu thông tin cá nhân của người hiến máu;
+ Chọn tĩnh mạch tại nếp khuỷu tay (ven to, dễ lấy).

- Chuẩn bị túi máu

+ Bóc túi máu, kiểm tra toàn vẹn của túi máu và dung dịch chống đông.
+ Dán barcode lên: phiếu đăng ký, túi máu, ống nghiệm.
+ Đặt túi lên cân/ máy lắc, tạo nút thắt dây máu, khóa kẹp dây túi máu.

Bước 2: Sát khuẩn da tại vị trí chọc ven, bề mặt da tại vị trí sát khuẩn đảm bảo khô trước khi tiến hành chọc ven.

Bước 3. Tiến hành chọc ven

- Chọc kim theo góc 30–45°, luồn kim vào khoảng 2/3 chiều dài kim.
- Cố định kim, mở kẹp dây để máu chảy vào túi máu xét nghiệm.

Bước 4. Lấy mẫu xét nghiệm

- Lấy máu vào các ống nghiệm đủ thể tích quy định.
- Lắc đều ống nghiệm, đặt vào giá.

Bước 5. Theo dõi quá trình lấy máu

- Theo dõi dòng máu chảy, lắc túi máu; quan sát sắc mặt, trạng thái tỉnh táo của người hiến máu.
- Giao tiếp, động viên, hướng dẫn chăm sóc sau hiến cho người hiến máu.

Bước 6. Kết thúc lấy máu

- Khi đủ lượng máu: khóa kẹp dây, thắt dây máu, rút kim, ép cầm máu.
- Băng ép tay, vuốt dây máu, lắc túi.
- Chuyển túi máu, mẫu, hồ sơ sang bộ phận hoàn thiện.
- Người hiến nghỉ ngơi 3–5 phút tại chỗ.

Bước 7. Hoàn thiện đơn vị máu

- Nhập thông tin đơn vị máu vào phần mềm.
- Xếp ống nghiệm, hồ sơ theo đơn vị máu.
- Cuộn đơn vị máu, đưa vào thùng bảo quản có đá lạnh.

Bước 8. Bảo quản, vận chuyển và bàn giao

- Bảo quản: nhiệt độ 20–24°C, trong thùng bảo quản chuyên dụng.
- Vận chuyển về Trung tâm máu/đơn vị tiếp nhận máu theo thời gian quy định.
- Bàn giao máu, mẫu, hồ sơ cho bộ phận liên quan.

4.2. Chế độ cho người hiến máu sau hiến máu

Theo quy định hiện hành của Bộ Y tế, người hiến máu được hưởng một số chế độ hỗ trợ sau khi hiến máu, nhằm động viên, khuyến khích và đảm bảo sức khỏe bao gồm:

- Chế độ cho người hiến máu tình nguyện không nhận tiền bồi dưỡng: Được phục vụ ăn nhẹ tại chỗ, nhận quà tặng bằng hiện vật hoặc dịch vụ y tế theo thể tích máu đã hiến, cấp giấy chứng nhận hiến máu và hỗ trợ một phần chi phí đi lại theo quy định.
- Chế độ cho người hiến máu có nhận tiền bồi dưỡng: Được phục vụ ăn nhẹ tại chỗ, nhận khoản hỗ trợ bằng tiền mặt theo thể tích máu đã hiến theo quy định.

4.3. Chăm sóc sau hiến máu

Công tác chăm sóc sau hiến máu được thực hiện nhằm thông báo kết quả xét nghiệm, theo dõi sức khỏe người hiến máu và duy trì mối liên hệ với người hiến, qua đó khuyến khích họ tiếp tục tham gia các đợt hiến máu trong tương lai.

Các hoạt động chăm sóc được thực hiện thông qua nhiều kênh như: tin nhắn SMS, thư điện tử (email), ứng dụng hiến máu, tổng đài chăm sóc, hoặc các hình thức truyền thông phù hợp khác.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai thông tin người hiến máu: Nhầm lẫn thông tin người hiến với hồ sơ hiến máu. Xử trí: Đối chiếu lại với giấy tờ tùy thân và phiếu đăng ký hiến máu.
- Túi lấy máu không đảm bảo (rách, rò rỉ, dung dịch chống đông đổi màu, …). Xử trí: Huỷ bỏ và thay túi mới.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Máu chảy chậm hoặc tắc dòng. Xử trí: Điều chỉnh vị trí kim, hướng dẫn người hiến bóp quả bóp nhẹ nhàng; nếu không cải thiện, dừng lấy máu.

- Người hiến có phản ứng hiến máu (chóng mặt, buồn nôn, tụt huyết áp, ngất). Xử trí: Dừng lấy máu, cho nằm đầu thấp, nâng chân, gọi nhân viên y tế hỗ trợ.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đơn vị máu không đạt tiêu chuẩn:

+ Thừa/thiếu thể tích. Xử trí: Kiểm tra cân/ máy lắc hoặc đơn vị máu sau khi kết thúc lấy máu. Ghi cảnh báo lên túi máu và hồ sơ hiến máu.

+ Thời gian lấy máu kéo dài. Xử trí: Ghi cảnh báo lên túi máu và hồ sơ hiến máu.

- Người hiến có phản ứng hiến máu (chóng mặt, buồn nôn, tụt huyết áp, ngất). Xử trí: Cho nằm nghỉ, uống nước, ăn nhẹ; theo dõi đến khi ổn định mới cho về; hỗ trợ y tế nếu cần.

6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư 26/2013/TT- BY hướng dẫn hoạt động truyền máu.
2. Bộ Y tế (2023), Thông tư số 15/2023/TT-BYT ngày 20/7/2023 của Bộ Y tế về việc "Quy định giá tối đa và chi phí phục vụ cho việc xác định giá một đơn vị máu. chế phẩm máu đạt tiêu chuẩn.
3. WHO (2011), Máu và các sản phẩm máu an toàn: Cho máu an toàn.

232. CHIẾU XẠ MÁU TOÀN PHẦN VÀ CÁC THÀNH PHẦN MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Hướng dẫn về việc sử dụng máy chiếu xạ các tế bào có thẩm quyền miễn dịch và người bệnh có suy giảm miễn dịch.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Máy chiếu xạ là một hệ thống y tế được thiết kế để chiếu xạ máu toàn phần và các thành phần máu.

- Máy chiếu xạ sử dụng nguồn bức xạ như tia gamma hoặc tia X để chiếu vào túi máu. Bức xạ này có năng lượng đủ cao để ion hoá các nguyên tử và phân tử trong tế bảo đặc biệt là các tế bào miễn dịch để phòng ngừa nguy cơ bệnh ghép chống chủ trước khi truyền cho người bệnh mắc chứng suy giảm miễn dịch.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Nhân viên trực tiếp: 02 người được đào tạo về an toàn bức xạ và cấp chứng chỉ vận hành thiết bị chiếu xạ.

- Nhân viên khác:

+ 01 nhân viên quản lý về an toàn bức xạ (Bác sỹ/Kỹ thuật y).

+ 01 nhân viên quản lý trang thiết bị.

2.2. Vật tư

- Bình chứa chuyên dụng (trụ quay/canister);

- Nắp đậy Canister; bóng đèn X- quang/X-raytube (đối với máy chiếu xạ nguồn tia X);

- Bộ đo liều lượng/Liều kế chiếu xạ;

- Liều kế cá nhân;

- Dụng cụ đựng máu và chế phẩm máu;

- Xe inox 3 tầng/xe đẩy 4 bánh;

- Tem chiếu xạ/Chỉ thị màu chiếu xạ/Chỉ báo liều chiếu xạ;

- Sổ chiếu xạ chế phẩm máu;

- Cuộn nhãn dán để in thông tin chế phẩm máu chiếu xạ;

- Giấy A4;

- Găng tay;

- Túi đựng rác thải: y tế, chất thải nguy hại không lây nhiễm, rác thải sinh hoạt.

2.3. Trang thiết bị

- Máy chiếu xạ tia gamma (nguồn Cesium-137)/Máy chiếu xạ nguồn tia X;

- Máy vi tính kết nối mạng, có phần mềm quản lý;

- Hệ thống quản lý an ninh, an toàn của máy chiếu xạ;

- Phầm mềm quản lý máu và an ninh mạng;

- Đầu đọc mã vạch;

- Máy in;

- Tủ lạnh bảo quản máu và các thành phần máu;

2.4. Chuẩn bị mẫu

Máu và các thành phần máu có chỉ định chiếu xạ.

2.5. Phiếu chỉ đinh xét nghiệm

Kiểm tra đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu chỉ định/dự trù.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0.75 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng đặt máy chiếu xạ.

3. AN TOÀN

- Giới hạn liều đối với nhân viên: nhân viên bức xạ phải được kiểm soát liều hiệu dụng toàn thân trong một năm được lấy trung bình trong 5 năm liên tục không được vượt quá 20 mSV.
- Liều kế được đọc và kiểm tra theo quy định.
- Nhân viên nữ không thực hiện công việc chiếu xạ khi đang có thai hoặc đang nuôi con nhỏ dưới 12 tháng tuổi.
- Máy chiếu xạ được kiểm định và cấp giấy chứng nhận kiểm định theo quy định.
- Phòng đặt thiết bị chiếu xạ được đảm bảo an ninh và an toàn ở mức độ cao.
- Các trang thiết bị được hiệu chuẩn theo quy định.
- Tuân thủ quy trình vận hành máy chiếu xạ.
- Chu kỳ chiếu xạ vẫn được tiếp diễn tối đa 30 phút trong trường hợp mất điện.
- Việc loại bỏ tia xạ sau khi chiếu xạ vẫn được diễn ra trong trường hợp lỗi hệ thống.
- Tuân thủ quy định về kiểm tra sức khoẻ định kỳ với nhân viên chiếu xạ.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chiếu xạ máu và chế phẩm máu bằng máy chiếu xạ tia gamma (nguồn phóng xạ Cesium-137)

- Thiết lập chương chình chiếu xạ

+ Bước 1: Khởi động máy

+ Bước 2: Thiết lập chương trình theo hướng dẫn nhà sản xuất.

+ Bước 3: Lưu dữ liệu và đặt tên chương trình cho từng loại bình chuyên dụng.

- Thực hiện chiếu xạ máu và chế phẩm máu

+ Bước 1: Khởi động máy

+ Bước 2: Điền thông tin những đơn vị máu và các chế phẩm máu có chỉ định chiếu xạ (mã số, nhóm máu, loại chế phẩm máu) trên phần mềm máy chiếu xạ.

+ Bước 3: Chuẩn bị bình chứa chuyên dụng phù hợp đựng máu và chế phẩm máu có chỉ định chiếu xạ.

+ Bước 4: Đưa bình chiếu xạ vào buồng máy chiếu xạ

+ Bước 5: Lựa chọn chương trình đã lưu tên ở trên và thực hiện chiếu xạ.

+ Bước 6: Kết thúc chiếu xạ.

4.1.2. Chiếu xạ máu và chế phẩm máu bằng máy chiếu xạ tia X (nguồn tia X)

+ Bước 1: Khởi động máy.

+ Bước 2: Xếp máu và chế phẩm máu có chỉ định chiếu xạ vào bình chứa chuyên dụng sau đó thiết lập chương trình theo hướng dẫn nhà sản xuất.

+ Bước 3: Thực hiện chiếu xạ.

+ Bước 4: Kết thúc chiếu xạ.

4.2. Hoàn thiện hồ sơ

4.2.1. Nhập thông tin trên phần mềm và hoàn thiện hồ sơ ở sổ chiếu xạ chế phẩm máu:

- Nhập thông tin trên phần mềm.

- Ghi đầy đủ thông tin trong sổ chiếu xạ chế phẩm máu: ngày chiếu xạ, bệnh viện cần sử dụng chế phẩm chiếu xạ, số lượng chế phẩm chiếu xạ, thời gian chiếu xạ, nhân viên thực hiện chiếu xạ.

4.2.2. Hoàn thiện máu và chế phẩm máu sau chiếu xạ

- Dán nhãn nhận biết chế phẩm máu "Đã chiếu xạ" lên các túi chế phẩm máu.

- Ghi thông tin ngày chiếu xạ và hạn sử dụng lên từng nhãn chế phẩm máu.

Lưu ý:

+ Khối hồng cầu/máu toản phần sau khi chiếu xạ có hạn sử dụng 28 ngày kể từ ngày chiếu xạ.

+ Các chế phẩm máu sau khi chiếu xạ có hạn sử dụng dưới 28 ngày thì hạn sử dụng lấy theo hạn sử dụng của các chế phẩm máu.

+ Các đơn vị huyết tương chiếu xạ xong cần được đông lạnh ngay.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Lỗi: nguồn điện, hệ thống làm mát bằng nước

- Giải pháp

+ Nguồn điện: đảm bảo cung cấp cho máy chiếu xạ ổn định đúng thông số kỹ thuật.

+ Hệ thống nước làm mát: nguồn nước cần đảm bảo tối thiểu các điều kiện của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Lỗi: báo mã lỗi và âm báo lỗi xảy ra trong quá trình hoạt động

- Giải pháp:

+ Tham khảo bảng mã lỗi và âm báo lỗi trong sổ tay người dùng gốc để xác định nguyên nhân và cách khắc phục.

+ Liên hệ hỗ trợ: Nếu không thể khắc phục, hãy liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của nhà cung cấp.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Lỗi: hệ thống khóa liên động

- Giải pháp: Kiểm tra hệ thống khoá liên động và các tính năng an toàn theo quy định sau khi thực hiện chiếu xạ.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Kiểm tra máu và chế phẩm máu sau chiếu xạ màu sắc không thay đổi và tính toàn vẹn của sản phẩm.
- Kiểm tra tem chiếu xạ/chỉ thị màu chiếu xạ đã đổi màu theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Thông tư 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu, Bộ Y Tế 2013.
- Thông tư 23/2010/TT-BKHCN về hướng dẫn an ninh nguồn phóng xạ.
- Thông tư 13/2014/TTLT-BKHCN-BYT quy định bảo đảm bức xạ trong y tế.
- Hướng dẫn sử dụng máy chiếu xạ Biobeam 8000 và máy chiếu xạ tia X.

233. GẠN TÁCH THÀNH PHẦN MÁU TỪ MỘT NGƯỜI HIẾN MÁU BẰNG MÁY TÁCH TẾ BÀO TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật:

Tiếp nhận chế phẩm máu bằng máy tách thành phần máu tự động từ người hiến để sử dụng cho người bệnh có chỉ định điều trị bằng chế phẩm này.

Chế phẩm máu: Khối tiểu cầu, bạch cầu hạt, huyết tương, khối hồng cầu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kỹ thuật sử dụng thiết bị chuyên dụng để phân tách các thành phần máu, dựa trên nguyên lý ly tâm tỷ trọng. Các thành phần của máu có tỷ trọng, kích thước và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Máy gạn tách sẽ lựa chọn phân lớp phù hợp để thu nhận tế bào máu theo chỉ định và truyền trả về tuần hoàn người hiến các thành phần còn lại.

1.3. Phạm vi áp dụng

Các đơn vị tiếp nhận thành phần máu trực thuộc Bệnh viện, Trung tâm Máu, thực hiện tiếp nhận và điều chế chế phẩm máu.

1.4. Giải thích từ ngữ:

- Người hiến: Là người tham gia hiến thành phần máu được tách bằng máy tách thành phần máu tự động.
- Dung dịch ACD-A (Acid Citrate Dextrose Formula) là dung dịch chống đông.
- Bộ kít thu nhận: Là bộ kít dùng chuyên biệt cho từng loại máy của mỗi hãng khác nhau, dùng để gạn tách thành phần máu từ một người hiến.
- Barcode: Là sự thể hiện thông tin trong các dạng nhìn thấy trên các bề mặt mà máy quét barcode có thể đọc được. Cấu tạo của 01 bộ mã barcode gồm: hai đế, hệ thống mã vạch (gồm có cả mã số và mã vạch), mã số (chỉ có mã số).

2. CHỈ ĐỊNH

- Đạt tiêu chuẩn về hiến thành phần máu theo quy định hiện hành;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch cho phép thực hiện thủ thuật.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không đạt các tiêu chuẩn về hiến thành phần máu;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch không cho phép thực hiện thủ thuật;
- Mẫn cảm với thành phần có trong dung dịch chống đông được sử dụng trong quá trình gạn tách.

4. THẬN TRỌNG

Tiền sử hạ canxi máu

5. AN TOÀN

- Đảm bảo xác định đúng thông tin: người hiến, mã barcode, giấy tờ tuỳ thân;
- Kiểm tra bộ thu nhận, túi ACD – A, nước muối trước khi sử dụng: ngày sản xuất, hạ sử dụng, các bất thường khác;
- Vận hành máy theo đúng theo hướng dẫn;
- Sát khuẩn da đảm bảo đúng theo quy định;
- Đảm bảo an toàn cho người hiến;

- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc.
- Các điều kiện môi trường trong phòng thủ thuật bao gồm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị được bảo dưỡng theo quy định.

6. CHUẨN BỊ

6.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: tối thiểu 01 người;
- Kỹ thuật y/ Điều dưỡng được đào tạo: tối thiểu 01 người (trường hợp gạn tách bạch cầu hạt cần 2 người);
- Nhân lực hỗ trợ: 01.

6.2. Thuốc và dụng cụ cấp cứu

- Dịch truyền: Natriclorid 0.9%, Glucose 5%;
- Calci Clorid 500mg/5ml;
- Huyết áp kế, ống nghe y tế;
- Dây truyền dịch, bơm tiêm, khẩu trang y tế, túi nôn, …
- Hộp cấp cứu chống sốc.

6.3. Vật tư

- Bộ thu nhận (kit) phù hợp;
- Dung dịch chống đông ACD - A hoặc tương đương, dung dịch Natriclorid 0,9%;
- Bơm tiêm các loại;
- Kim luồn tĩnh mạch phù hợp;
- Bông 3x4 cm, bông 2x3 cm, cồn 70%, dung dịch sát khuẩn cồn iod, dung dịch sát khuẩn tay nhanh, dung dịch sát khuẩn bề mặt;
- Găng tay vô trùng, băng dính vải, băng chun cuộn, dây garo, quả bóp, túi đựng rác theo phân loại, giỏ đựng rác;
- Ống nghiệm các loại (xét nghiệm sàng lọc, ống xét nghiệm gói quà tặng);
- Pank, kéo;
- Barcode, nhãn túi chế phẩm.

6.4. Trang thiết bị

- Các thiết bị theo dõi dấu hiệu sinh tồn của người hiến trong quá trình gạn tách;
- Máy gạn tách thành phần máu tự động

+ Các bước chuẩn bị máy như sau:
+ Bật công tắc nguồn, khởi động máy;
+ Lựa chọn chương trìng gạn tách phù hợp;
+ Kiểm tra hạn sử dụng và sự nguyên vẹn của bộ kít trước khi mở.
+ Lắp đặt bộ thu nhận và chạy chương trình kiểm tra hệ thống:
+ Lắp đặt bộ kít gạn tách theo hướng dẫn của máy;
+ Kết nối kít với dung dịch chống đông và nước muối;
+ Chạy chương trình tráng dung dịch chống đông và/ nước muối, đuổi khí trong bộ kít.
+ Nhập chỉ số người hiến:

+ Nhập các thông tin vào máy bao gồm các chỉ số của người hiến/người bệnh như chiều cao, cân nặng, chỉ số xét nghiệm máu;

+ Điều chỉnh các chỉ số đầu vào;

+ Trước khi tiến hành chọc tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến cần thực hiện đuổi khí phần dây hệ thống chưa test;

+ Kết thúc chuẩn bị máy màn hình sẽ chuyển về "Start run".

- Máy hàn dây, máy lắc, máy đếm tế bào, máy tính, máy in, đầu đọc code;
- Giường/ ghế nằm gạn tách;
- Bộ lưu điện, dây điện;
- Dụng cụ: Xe đẩy 3 tầng, pank, kéo, trụ cắm pank, hộp đựng bông, dây garo, quả bóp, giá để xét nghiệm, dấu dập ngày, pipetman, cân đĩa.

6.5. Hồ sơ

- Phiếu đăng kí hiến máu hoặc hồ sơ bệnh án, các phiếu chỉ định, kết quả xét nghiệm, đảm bảo đối chiếu đúng thông tin;
- Phiếu theo dõi gạn tách thành phần máu từ máy tách tự động;
- Các mẫu hồ sơ quản lý;
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

6.6. Chuẩn bị người hiến

- Hướng dẫn người hiến vào vị trí thực hiện gạn tách;
- Nhân viên thực hiện tiếp nhận, kiểm tra các thông tin người hiến, kết quả xét nghiệm, giải thích cho người hiến về kỹ thuật trước khi thực hiện: mục đích, các bước tiến hành, biến chứng, nguy cơ có thể xảy ra, tiên lượng, ... và cách phối hợp trong quá trình gạn tách.

6.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật (ước tính, đơn vị là giờ)

- Tuỳ từng loại chế phẩm gạn tách:

+ Khối tiểu cầu, huyết tương, khối hồng cầu: 3 giờ;

+ Bạch cầu hạt: 5 giờ.

6.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng thủ thuật hoặc phòng chuyên môn phù hợp.

7. TIẾN HÀNH QUY TRÌNH KỸ THUẬT

7.1. Chọn tĩnh mạch và kết nối kit với người hiến

- Lựa chọn tĩnh mạch tốt nhất trên 2 tay để đảm bảo áp lực dòng chảy từ cơ thể vào máy và từ máy trả về cơ thể được ổn định;
- Xác định vị trí đưa kim vào tĩnh mạch;
- Sát khuẩn vị trí chọn bằng dung dịch sát khuẩn cồn iod từ trong ra ngoài theo hình xoáy ốc, sau đó sát khuẩn vị trí chọn bằng cồn 70°;
- Đưa kim gắn sẵn bộ kít gạn tách hoặc kim luồn phù hợp vào tĩnh mạch;
- Cố định đốc kim sau khi đã đưa được vào tĩnh mạch;
- Kết nối đường lấy máu ra và đường trả máu về với kim chọc tĩnh mạch;
- Lấy mẫu xét nghiệm sàng lọc: Mở khóa đường lấy máu ra, lấy các mẫu xét nghiệm sàng lọc, mẫu xét nghiệm khác (nếu có).

7.2. Thực hiện chương trình gạn tách

- Bấm nút khởi động để bắt đầu thực hiện quy trình theo hướng dẫn xuất hiện trên màn hình.
- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn;

- Điều chỉnh các chỉ số để thu nhận sản phẩm tốt nhất: lượng máu vào, dòng huyết tương, lượng thu nhận, thể tích, số chu kỳ, thời gian xử lý…

- Tùy theo chỉ định yêu cầu để cài đặt chỉ số thể tích thu thập và thể tích lọc máu cho phù hợp. Thông thường thể tích máu xử lý không quá 3 lần thể tích máu của người hiến (những trường hợp đặc biệt thì cân nhắc để đảm bảo đủ liều và không ảnh hưởng đến sức khỏe người hiến);

- Theo dõi áp lực dòng chảy, ghi lại các diễn biến trong suốt quá trình;

- Theo dõi người hiến, hoạt động của máy;

- Các trường hợp dừng gạn tách:

+ Sự cố về vị trí lấy máu ra: tĩnh mạch nhỏ, lệch kim;

+ Người hiến máu có phản ứng không mong muốn không thể tiếp tục quá trình gạn tách;

+ Sự cố do máy trong quá trình gạn tách.

7.3. Kết thúc chương trình

- Máy sẽ kết thúc chương trình gạn tách khi đã đủ số lượng, thể tích chế phẩm theo yêu cầu;

- Ghi lại các kết quả gạn tách;

- Sau khi máy kết thúc trả máu cho người hiến, khoá tất cả các van, bấm dừng máy;

- Rút kim ra khỏi người hiến, băng ép cầm máu;

- Hướng dẫn cách chăm sóc sau hiến, cám ơn và mời người hiến sang khu vực nghỉ ngơi, ăn nhẹ và thực hiện chế độ cho người hiến theo quy định;

- Tháo bộ kít thu nhận ra khỏi máy gạn tách, chuyển về khu vực hoàn thiện và sử dụng máy hàn dây tách sản phẩm ra khỏi bộ thu nhận;

- Phân loại rác thải theo quy định.

7.4. Lấy mẫu kiểm tra chất lượng chế phẩm gạn tách

Thực hiện lấy mẫu kiểm tra chất lượng chế phẩm theo quy định.

7.5. Bàn giao và hoàn thiện hồ sơ

- Hoàn thiện hồ sơ, điền đầy đủ thông tin vào phiếu theo dõi;

- Bàn giao chế phẩm, hồ sơ cho nhóm xử lý;

- Vệ sinh máy và khu vực làm việc;

- Với trường hợp gạn tách bạch cầu hạt: bàn giao người hiến/người bệnh cho đơn vị lâm sàng, có thể lấy máu kiểm tra lại kết quả xét nghiệm tại khoa lâm sàng nếu cần. Tiếp tục theo dõi đến khi các chỉ số lâm sàng, xét nghiệm ổn định có thể cho ra viện.

8. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ CÁC TAI BIẾN

8.1. Theo dõi

- Theo dõi diễn biến các dấu hiệu lâm sàng của người hiến;

- Theo dõi diễn biến trong quá trình vận hành của máy;

- Theo dõi kết quả gạn tách tế bào máu;

- Ghi hồ sơ bệnh án/phiếu theo dõi theo mẫu.

***8.2.* Nguyên tắc xử trí**

Mức độ	*Biểu hiện*	*Nguyên tắc xử trí*
Tai biến nhẹ	Tai biến thoáng qua hoặc khu trú, chỉ gây khó chịu mức độ nhẹ.	Tiếp tục gạn tách, kết hợp với xử trí.
Tai biến trung bình	có thể có biểu hiện toàn thân như mệt mỏi, chóng mặt, ban toàn thân nhưng không đe dọa tính mạng.	Tạm dừng gạn tách nếu cần, xử trí ổn định và tiếp tục gạn tách.
Tai biến nặng	Có thể đe dọa tính mạng.	Ngừng gạn tách, tập trung xử trí ổn định.

8.3. Xử trí một số tai biến cụ thể

8.3.1. Phản ứng bất thường của người hiến

Các trường hợp phản ứng hầu hết do quá nhạy cảm, có yếu tố tâm lý: Sự chuẩn bị tư tưởng không tốt, sự lo lắng của người hiến, ...

- Các biểu hiện phản ứng bất thường:

+ Nhẹ: Có những biểu hiện xây xẩm nhưng không mất đi sự nhận biết;

+ Vừa: Có sự tăng nhanh của phản ứng nhẹ và dẫn đến sự mất nhận biết;

+ Nặng: Có các biểu hiện trên kèm theo sự co giật (ít gặp).

- Xử trí các trường hợp phản ứng:

+ Không tiếp tục thực hiện gạn tách;

+ Nhấc cao chân và hạ thấp đầu của người bệnh/người hiến;

+ Nới lỏng hoặc cởi những áo quá chật, tạo không khí thoáng;

+ Trường hợp người hiến bị nôn: hướng dẫn người hiến nằm nghiêng, có túi nôn;

+ Kiểm tra biểu hiện toàn thân và mạch thường xuyên;

+ Nếu tình trạng tốt lên cho người hiến uống nước mát, nghỉ ngơi đầy đủ;

+ Đảm bảo người hiến hồi phục hoàn toàn trước khi rời vị trí thực hiện kỹ thuật;

+ Với các trường hợp phản ứng cụ thể, bác sỹ sẽ cho các chỉ định dung thuốc cho người hiến;

+ Trường hợp các cơn co giật kéo dài hơn 5 phút, đây là tình trạng cấp cứu, xử trí cơn co giật theo phát đồ;

+ Ghi lại phản ứng vào hồ sơ/ bệnh án.

8.3.2. Hạ can xi huyết

- Trường hợp nhẹ:

+ Biểu hiện: dị cảm môi, mặt.

+ Xử trí: Giảm tốc độ lấy máu ra và trả về của máy, có thể bổ sung canxi nếu cần;

- Trường hợp nặng:

+ Biểu hiện: Co rút cơ nhiều, đau, khó thở...

+Xử trí: Tạm dừng chương trình và tiêm canxi tĩnh mạch chậm, khi người hiến hết triệu chứng có thể chạy tiếp.

8.3.3. Tai biến tại vị trí lấy ven

- Biểu hiện:

+ Đau nhức vị trí lấy ven;

+ Tĩnh mạch bị tắc, cản trở lưu thông;

+ Phồng tĩnh mạch hoặc phần mềm xung quanh;

- Xử trí:

+ Tạm dừng chương trình và dừng kết nối với tĩnh mạch bị tổn thương, có thể cho máy chạy tiếp bằng dung dịch muối để tránh đông dây;

+ Thay đổi vị trí lấy ven tĩnh mạch khác, nên ưu tiên lấy ở tay khác;

+ Băng cố định, giảm đau vị trí tĩnh mạch tổn thương.

8.3.4. Các tai biến ít gặp khác

Có thể gặp các tai biến ít gặp khác như tăng/tụt huyết áp, dị ứng, sốt, xuất huyết giảm tiểu cầu…, cần xử trí theo chuyên khoa với từng trường hợp cụ thể.

9. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG:

- Yêu cầu thực hiện đánh giá chất lượng chế phẩm theo quy định;

- Thiết bị được vận hành, bảo dưỡng theo quy định;

10. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ y tế (2013), Thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu, số 26/2013/TT-BYT ngày 16/09/2013 về tiêu chuẩn lựa chọn người hiến máu và việc lấy máu, thành phần máu.

2. Terumo (2018). Spectra Optia® Apheresis System. Operator’s Manual.

3. Areman EM, Loper K (2009). Collection of Cellular Therapy Products by Apheresis, Chapter 23, in Cellular Therapy: Principles, Methods, and Regulations, AABB, p 251-277.

4. Protocol của từng hãng máy.