BỘ Y TẾ	**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM** **Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**
Số: 3247 /QĐ-BYT	*Hà Nội, ngày 15 tháng 10 năm 2025*

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

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 1214/HHTMTW ngày 8 tháng 9 năm 2025 của Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương về việc hoàn thiện Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh;

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 2, gồm 47 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 2)

(Ban hành kèm theo Quyết định số3247/QĐ-BYT ngày *15* tháng *10*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 (QLKCB)
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 - Phó Chủ tịch hội đồng
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
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, 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 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", 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 hoàn 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 ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chương, chuyên ngành; bao gồm các quy định về chỉ định, chống chỉ định, thận trọng, chuẩn bị thực hiện kỹ thuật, đến các bước thực hiện theo trình tự từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật.
2. Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Huyết học - Tập 2 được xây dựng và ban hành và áp dụng cho các kỹ thuật có trong Phụ lục số 02 nhưng không có trong Phụ lục số 01, 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. Tài liệu chuyên môn này được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh kể từ ngày 01/7/2026.
3. Quy định về thời gian, nhân lực thực hiện kỹ thuật (chức danh chuyên môn nghề nghiệp, số lượng), thuốc, thiết bị y tế… trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật do Bộ Y tế ban hành dựa trên tính phổ biến, thường quy thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Trong thực tế triển khai, căn cứ diễn biến lâm sàng, tình trạng người bệnh, điều kiện thực tế của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, việc triển khai kỹ thuật có thể cần huy động thêm nhân lực, bổ sung thuốc, thiết bị y tế..., Lãnh đạo cơ sở khám bệnh, chữa bệnh ban hành các quy định về thời gian và các quy định khác phù hợp để áp dụng tại cơ sở.
4. Thời gian thực hiện kỹ thuật: là tổng thời gian tiêu tốn để thực hiện kỹ thuật bao gồm cả chuẩn bị, cài đặt máy, kiểm tra chất lượng (nội kiểm, ngoại kiểm, sinh phẩm), rửa máy, thực hiện kỹ thuật, xử lý sai sót, vệ sinh, bảo dưỡng máy, dụng cụ.
5. Chỉ sử dụng các thuốc, thiết bị y tế… được cấp phép theo quy định hiện hành.
6. 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.
7. Trong quá trình triển khai áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, nếu thấy các bất cập hoặc có nhu cầu cần sửa đổi, bổ sung, các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chủ động cập nhật và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, đồng thời báo cáo, đề xuất Bộ Y tế (Cục QLKCB) về việc cập nhật để ban hành áp dụng trong cả nước.

MỤC LỤC

1. XÉT NGHIỆM HÓA HỌC TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI 14
2. XÉT NGHIỆM TIỂU CẦU NON 19
3. PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU/TUỶ TRÊN TIÊU BẢN NHUỘM GIÊMSA BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG 22
4. ĐẾM VÀ PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY CÓ KẾT NỐI HỆ THỐNG NHUỘM, ĐỌC TIÊU BẢN TỰ ĐỘNG 25
5. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG MÁY ĐẾM CÓ KẾT NỐI HỆ THỐNG NHUỘM, ĐỌC TIÊU BẢN TỰ ĐỘNG 28
6. XÉT NGHIỆM MÔ BỆNH HỌC TỦY ĐÔNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HEMATOXYLIN EOSIN 32
7. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GẮN COLLAGEN CỦA YẾU TỐ VON WILLEBRAND (vWF : CBA : Collagen Binding Assay) 36
8. ĐỊNH LƯỢNG TAFI (THROMBIN ACTIVATABLE FIBRINOLYSIS INHIBITOR) 40
9. XÉT NGHIỆM PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN MULTIMER CỦA YẾU TỐ VON WILLEBRAND 44
10. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ VIIIc BẰNG PHƯƠNG PHÁP HAI THÌ (CHROMOGENIC) 48
11. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG ỨC CHẾ THỤ THỂ P2Y12 52
12. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG SILICA (SCT) 56
13. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ VIIa 60
14. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG SINH THROMBIN (THROMBIN GENERATION TEST) 63
15. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG ỨC CHẾ THỤ THỂ GPIIb/IIIa 67
16. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ ADAMTS13 (ADAMTS13 ANTIBODY) 70
17. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ ADAMTS13 (ADAMTS13 ANTIBODY) 74
18. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU ĐÔNG HOẠT HÓA (activated clotting time: ACT) 78
19. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN THROMBIN PHA LOÃNG (diluted thrombin time: dTT) 81
20. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN TIÊU EUGLOBULIN 85
21. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG ỨC CHẾ CYCLO-OXYGENASE (COX) 88

22. ĐẾM SỐ LƯỢNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY 92
23. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG HLA VỚI KHÁNG NGUYÊN ĐƠN (SINGLE ANTIGEN) BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX 97
24. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP CHÉO (CROSS-MATCH) TẾ BÀO LYMPHO BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX 103
25. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE 110
26. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE 114
27. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 117
28. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 121
29. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI TIỂU CẦU HOẶC HUYẾT TƯƠNG HOẶC TỦA LẠNH BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 124
30. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI TIỂU CẦU HOẶC HUYẾT TƯƠNG HOẶC TỦA LẠNH BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE 128
31. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI TIỂU CẦU HOẶC HUYẾT TƯƠNG HOẶC TỦA LẠNH BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 132
32. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC KHỐI BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM 136
33. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC KHỐI BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE 140
34. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC KHỐI BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 144
35. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE 148
36. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU BẰNG KỸ THUẬT ELISA 151
37. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU BẰNG KỸ THUẬT ELISA 155
38. CHỌN MÁU HOÀ HỢP KHÁNG NGUYÊN HỒNG CẦU NGOÀI HỆ ABO, Rh(D) 161
39. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL 166
40. KHÁM TUYỂN CHỌN NGƯỜI HIẾN MÁU 170
41. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC GIANG MAI ĐỐI VỚI ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC THÀNH PHẦN MÁU BẰNG KỸ THUẬT HOÁ PHÁT QUANG 172

42. HUY ĐỘNG NGƯỜI HIẾN MÁU ĐẶC BIỆT 176
43. CHĂM SÓC NGƯỜI HIẾN MÁU CÓ TAI BIẾN TRONG QUÁ TRÌNH HIẾN MÁU VÀ NGƯỜI HIẾN MÁU CÓ XÉT NGHIỆM KHÔNG ĐẠT 179
44. KỸ THUẬT TÁCH CHẾ PHẨM THỂ TÍCH NHỎ 182
45. ĐIỀU CHẾ CÁC CHẾ PHẨM MÁU TỪ MÁU TOÀN PHẦN BẰNG MÁY ÉP MÁU TỰ ĐỘNG 185
46. SẢN XUẤT PANEL HỒNG CẦU SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG 188
47. SẢN XUẤT HỒNG CẦU CHỨNG 191

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)
7934	1		Đánh giá khả năng gắn collagen của yếu tố Von Willebrand (vWF:CBA: Collagen binding assay)
7935	2		Định lượng TAFI (Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor)
7960	27		Xét nghiệm phân tích dạng multimer của yếu tố von Willerbrand (v.WF multimers)
7963	30		Định lượng yếu tố VIIIc bằng phương pháp hai thì (Chromogenic)
7983	50		Xét nghiệm khả năng ức chế cyclo - oxygenase (COX)
7984	51		Xét nghiệm khả năng ức chế thụ thể P2Y12
7992	59		Xét nghiệm thời gian đông Silica (SCT)
8014	81		Xét nghiệm hóa học tế bào máu ngoại vi
8030	97		Xét nghiệm tiểu cầu non
8031	98		Phân tích tế bào máu/tủy trên tiêu bản nhuộm Giemsa bằng máy tự động
8034	101		Đếm số lượng tế bào gốc trung mô bằng kỹ thuật flow cytometry
8037	104		Định danh kháng thể kháng HLA với kháng nguyên đơn (Single Antigen) bằng kỹ thuật Luminex
8058	125		Xét nghiệm hòa hợp chéo (cross-match) tế bào lympho bằng kỹ thuật Luminex
8079	146		Định nhóm máu hệ ABO bằng kỹ thuật microplate
8084	151		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối hồng cầu bằng kỹ thuật microplate
8085	152		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối hồng cầu bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel
8086	153		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối hồng cầu bằng kỹ thuật ống nghiệm
8087	154		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh bằng kỹ thuật ống nghiệm
8088	155		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh bằng kỹ thuật microplate
8089	156		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel
8090	157		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu bằng 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)
8091	158		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu bằng kỹ thuật microplate
8092	159		Định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel
8099	166		Định nhóm máu hệ Rh(D) bằng kỹ thuật microplate
8160	227		Sàng lọc kháng thể kháng tiểu cầu bằng kỹ thuật ELISA
8161	228		Định danh kháng thể kháng tiểu cầu bằng kỹ thuật ELISA
8163	230		Chọn máu hoà hợp kháng nguyên hồng cầu ngoài hệ ABO, Rh(D)
8187	254		Định lượng yếu tố VIIa
8190	257		Xét nghiệm khả năng sinh Thrombin (Thrombin generation test)
8191	258		Xét nghiệm khả năng ức chế thụ thể GPIIb/IIIa
8192	259		Phát hiện kháng thể ADAMTS13 (ADAMTS13 antibody)
8193	260		Định lượng kháng thể ADAMTS13 (ADAMTS13 antibody)
8196	263		Xét nghiệm thời gian máu đông hoạt hóa (Activated Clotting Time: ACT)
8199	266		Xét nghiệm thời gian thrombin pha loãng (diluted thrombin time - *dTT)*
8200	267		Xét nghiệm thời gian tiêu Euglobulin
8203	270		Đếm và phân tích tế bào máu ngoại vi bằng máy có kết nối hệ thống nhuộm, đọc tiêu bản tự động
8204	271		Xét nghiệm huyết đồ bằng máy đếm có kết nối hệ thống nhuộm, đọc tiêu bản tự động
8207	274		Định nhóm máu hệ Rh(D) bằng kỹ thuật ngưng kết cột gel
8219	286		Khám tuyển chọn người hiến máu
8227	294		Xét nghiệm sàng lọc giang mai đối với đơn vị máu toàn phần hoặc thành phần máu bằng kỹ thuật hoá phát quang
Kỹ thuật bổ sung mới			Xét nghiệm mô bệnh học tuỷ đông bằng phương pháp Hematoxylin Eosin
			Huy động người hiện máu đặc biệt
			Chăm sóc người hiến máu có tai biến trong quá trình hiến máu và người hiến máu có xét nghiệm không đạt
			Kỹ thuật tách chế phẩm thể tích nhỏ
			Điều chế các chế phẩm máu từ máu toàn phần bằng máy ép máu tự động
			Sản xuất panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường
			Sản xuất hồng cầu chứng

1. XÉT NGHIỆM HÓA HỌC TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI

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 máu.

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 máu ngoại vi 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 70°

- 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;
- Dụng cụ đếm tế bào
- 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 khí độc;
- Cân hóa chất;
- Máy khuấy hóa chất;
- Thiết bị làm khô tiêu bản;
- Tủ ấm;
- 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. 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 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: 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)…

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.

c. 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 70° trong 30 giây.
+ Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ 30 giây, sấy khô.
+ Nhuộm Giêmsa.
+ Rửa sạch, sấy khô.

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

4.2.Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả:

+ 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:

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

- 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 37-44.

2. Raskin R.E., Santangelo K., và Polak K. (2022). Cytochemical Staining and Immunocytochemistry. *Schalm's Veterinary Hematology*. John Wiley & Sons, Ltd, 478–499.
3. Paessler M.E., Helfrich M., và Wertheim G.B.W. (2017). Cytochemical Staining. *Methods Mol Biol*, **1633**, 19–32.
4. Crook L, Liu PI, Cannon A, Walker EM Jr. Histochemistry of bone marrow aspirations. *Ann Clin Lab Sci*. 1980 Jul-Aug;10(4):290-304. PMID: 6160804.

2. XÉT NGHIỆM TIỂU CẦU NON

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Nhằm khảo sát tỷ lệ % tiểu cầu lưới (Reticulocyte Platelet) còn gọi là tiểu cầu non (Immature Platelet Fraction - IPF) trong máu hoặc tủy

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa:

Máu toàn phần được pha loãng sau đó đưa vào hệ thống đếm tế bào tự động sử dụng kênh đo tiểu cầu huỳnh quang với chất nhuộm đặc hiệu với tiểu cầu để đo và tính toán ra tỷ lệ % IPF.

$$\%\text{IPF} = \frac{\text{Tiểu cầu non}}{\text{Tổng số tiểu cầu}} \text{x}100$$

1.2.2. Nguyên lý đếm tiểu cầu non:

Tiểu cầu non là tiểu cầu mới từ tủy xương ra tuần hoàn. Chúng chứa lượng RNA cao hơn tiểu cầu trưởng thành, có thể phân biệt qua nhuộm và đo 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. Vật tư

- Ống nghiệm có chất chống đông EDTA K2/K3.
- Khay xốp đựng ống nghiệm.
- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Bông, gạc sạch.
- Lam kính kéo lam tự động.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm:

- Hóa chất được sử dụng tùy theo các hệ thống máy phân tích huyết học.
- Mẫu nội kiểm.
- Mẫu ngoại kiểm.
- Thuốc nhuộm Giêmsa

2.2.3. Khác

- Dung dịch sát khuẩn.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng chất thải: độc hại, lây nhiễm, thông thường và rác thải tái chế...

2.3. Trang thiết bị

- Máy phân tích tế bào máu tự động có chức năng đếm tiểu cầu non.
- Kính hiển vi quang học
- 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 toàn phần trong ống có chống đông bằng EDTA K2/K3.
- Bảo quản ở nhiệt độ phòng và xét nghiệm trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

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

- 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 máy đếm tế bào có kèm chương trình đếm cầu non.

Phân phối hóa chất phù hợp và vận hành máy phân tích huyết học tự động.

Bước 2. Kiểm tra chất lượng máy phân tích huyết học tự động theo quy định.

Bước 3. Nhận và đánh giá bệnh phẩm:

- Nhận mẫu và đánh giá chất lượng mẫu theo quy định.
- Ống máu được đưa vào vận hành trên các máy phân tích huyết học tự động.

Bước 4. Vận hành máy: Theo hướng dẫn sử dụng cho máy

Bước 5. Kiểm tra và xác nhận kết quả: Kiểm tra và xác nhận các kết quả do máy đưa ra; Xác định số lượng tiểu cầu và tính tỷ lệ % tiểu cầu non bằng phương pháp thủ công, điều chỉnh (nếu cần thiết).

Bước 6. 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 và nhận định kết quả trên máy phân tích huyết học tự động hoặc trên phần mềm quản lý xét nghiệm.

- Nhận định kết quả: dựa trên kết quả ngưỡng (khoảng tham chiếu, giá trị quyết định lâm sàng…) đã được phòng xét nghiệm công bố.
- Nếu kết quả đạt: in và ký vào kết quả, kẹp kết quả với tờ chỉ định (đối với những trường hợp có giấy chỉ định xét nghiệm) hoặc ký số (với những trường hợp chỉ định qua mạng LAN) và trả kết quả.
- Nếu máy báo lỗi → tìm nguyên nhân và thực hiện quy trình xử lý.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

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

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 ngừa: áp dụng công nghệ thông tin, tập huấn cho nhân viên, (Nếu có thể thì 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: Xây dựng và 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 phân tích huyết học tự động.

2. Nguyễn Ngọc Dũng (2023). Bệnh lý giảm tiểu cầu miễn dịch và xu hướng ứng dụng tiểu cầu non trong quản lý người bệnh. Hội thảo chuyên đề: Vai trò của tiểu cầu và tiểu cầu non trong một số bệnh lý điển hình.

3. Seo A, Yuan D, Daniels S, et al (2015). Reference intervals for immature platelet fraction and immature platelet count. International Journal of Laboratory Hematology; 37:e1.

3. PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU/TUỶ TRÊN TIÊU BẢN NHUỘM GIÊMSA BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định tỉ lệ các loại tế bào có nhân trong máu, tủy và mô tả đặc điểm hình thái tế bào tủy thông qua soi kính hiển vi.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa vào hình thái và đặc điểm bắt màu thuốc nhuộm của các loại tế bào máu/tủy xương trên tiêu bản nhuộm Giêmsa bằng phương pháp thủ công để xác định, tính tỉ lệ các tế bào và nhận xét về các thông số tế bào khi xét nghiệm tủy bằng soi 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

- 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;
- 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

- Tủ ấm 37 độ;
- Kính hiển vi;
- Thiết bị làm khô tiêu bản;
- Tủ lạnh lưu mẫu;
- 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);

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần/dịch hút tủy xương đựng trong ống nghiệm chống đông bằng EDTA K2 hoặc K3. Mẫu 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:

- Xét nghiệm tế bào máu: khoảng 01 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 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 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 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.

4.2. Nhận định kết quả

- Phân tích tiêu bản trên Kính hiển vi bằng vật kính x10, sau đó chuyển sang vật kính x100.
- 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 của người bệnh, thông tin lâm sàng.
- Phân tích kết quả:

  + Đối với xét nghiệm tế bào máu: phân tích thành phần tế bào máu, lập công thức bạch cầu.

  + Đối với xét nghiệm tế bào 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: 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, kiểm tra hóa chất trước khi sử dụng.

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, dùng công nghệ thông tin

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), *Phương pháp làm tiêu bản xét nghiệm,* Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, trang 11–14.
2. 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.
3. 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.
4. Bộ y tế (2022), Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh lý Huyết học.
5. 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.
6. B.J. Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins, Bone Marrow Pathology, Fourth Edition, chapter 1, 2010.
7. 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.

4. ĐẾM VÀ PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY CÓ KẾT NỐI HỆ THỐNG NHUỘM, ĐỌC TIÊU BẢN TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đếm số lượng và phân tích các chỉ số của hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu; đồng thời tự động phân tích hình thái tế bào trường hợp cần thiết

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Là xét nghiệm tế bào máu bằng hệ thống phân tích tế bào tự động khép kín, gồm nhiều bộ phận kết nối với nhau: máy đếm, phân tích các chỉ số của hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu; khi phát hiện dấu hiệu bất thường, bộ phận kéo và nhuộm tiêu bản sẽ tự động hoạt động, sau đó hệ thống phân tích hình thái sẽ nhận dạng các loại tế bào, đồng thời hiển thị hình ảnh để người xét nghiệm kiểm tra, đánh giá.

1.2.2. Nguyên lý

Hệ thống phân tích các chỉ số của hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu: đếm số lượng và phân tích hình thái tế bào theo nhiều nguyên lý khác nhau tùy theo từng dòng máy, như: điện trở kháng, quang học, phân loại bạch cầu dựa vào phản ứng men Peroxydase và chỉ số tính toán. Dựa trên phần mềm cài sẵn, máy kéo - nhuộm tiêu bản hoạt động và qua hệ thống phân tích tiêu bản trên kính hiển vi quét hình ảnh có máy tính tích hợp trí tuệ nhân tạo AI: phân tích hình ảnh.

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 có chất chống đông EDTA K2/K3.
- Khay xốp đựng ống nghiệm.
- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Bông, gạc sạch.
- Lam kính kéo lam tự động.

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm:

- Hóa chất, thuốc nhuộm: theo các hệ thống máy phân tích huyết học tự động; hệ thống kéo, nhuộm và đọc tiêu bản tự động.
- Mẫu nội kiểm.
- Mẫu ngoại kiểm.
- Mẫu hiệu chuẩn.

2.2.3. Khác

- Dung dịch sát khuẩn.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng chất thải: độc hại, lây nhiễm, thông thường và rác thải tái chế...

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy đếm tế bào tự động có kết nối với hệ thống máy kéo, nhuộm

tiêu bản tự động và hệ thống phân tích hiển vi tiêu bản tự động; được cài phần mềm.

- Kính hiển vi quang học.
- 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 toàn phần trong ống có chống đông bằng EDTA K2/K3.
- Mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng (20 - 25°C) và xét nghiệm trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

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

- 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. Chuẩn bị hệ thống máy phân tích tế bào tự động; hệ thống máy kéo, nhuộm tiêu bản; hệ thống máy phân tích tiêu bản tự động.

- Phân phối hóa chất phù hợp.

Bước 2. Thực hiện kiểm tra chất lượng các hệ thống máy theo quy định.

Bước 3. Nhận và đánh giá ống máu:

- Nhận mẫu và đánh giá chất lượng mẫu theo quy định.
- Đưa bệnh phẩm vào vận hành trên các máy phân tích huyết học tự động.

Bước 4. Vận hành máy phân tích huyết học tự động: Theo hướng dẫn sử dụng.

Bước 5. Kiểm tra kết quả: Kiểm tra và xác nhận các kết quả, phân tích hình ảnh tế bào do máy đưa ra (chỉnh sửa nếu cần).

Bước 6. 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

Dựa trên kết quả ngưỡng (khoảng tham chiếu) đã được phòng xét nghiệm

công bố; nếu bất thường: thông báo lâm sàng.

Nếu máy báo lỗi: tìm nguyên nhân và thực hiện quy trình xử lý.

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 ngừa: 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: Xây dựng và 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. Phạm Quang Vinh (2019). Thiếu máu và phân loại thiếu máu. Bài giảng sau đại học Huyết học Truyền máu, chủ biên: Nguyễn Hà Thanh. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội; tr: 142 - 164.

2. Kiều Thị Vân Oanh, Nguyễn Thị Lan Hương (2020). Tăng tiểu cầu tiên phát. Chẩn đoán và điều trị bệnh lý Huyết học và truyền máu, chủ biên: Nguyễn Tuấn Tùng. Nhà xuất bản y học. Hà Nội. tr: 108 – 115.

3. Kiều Thị Vân Oanh, Nguyễn Thị Lan Hương (2020). Đa hồng cầu. Chẩn đoán và điều trị bệnh lý Huyết học và truyền máu, chủ biên: Nguyễn Tuấn Tùng. Nhà xuất bản y học. Hà Nội. tr: 115 – 122.

5. XÉT NGHIỆM HUYẾT ĐỒ BẰNG MÁY ĐẾM CÓ KẾT NỐI HỆ THỐNG NHUỘM, ĐỌC TIÊU BẢN TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Nhận định số lượng, đặc điểm hình thái các tế bào máu dựa trên hỗ trợ máy đếm tế bào có hệ thống nhuộm, đọc tiêu bản tự động.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Dựa trên kết quả xét nghiệm bằng máy đếm kết nối hệ thống nhuộm, đọc tiêu bản tự động, mô tả, nhận xét, phân tích các chỉ số và đặc điểm hình thái hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu; có thể điều chỉnh và nêu, gợi ý nếu cần.

1.2.2. Nguyên lý

Hệ thống đếm số lượng và phân tích chỉ số tế bào theo nhiều nguyên lý khác nhau như: điện trở kháng, quang học, phân loại bạch cầu dựa vào phản ứng men Peroxydase và chỉ số tính toán; theo phần mềm cài sẵn máy tự chọn và nhuộm, đọc tiêu bản, hiển thị hình ảnh; qua đó người xét nghiệm có thể kiểm tra, phân tích và nêu nhận xét, gợi ý.

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 có chất chống đông EDTA K2/K3.
- Khay xốp đựng ống nghiệm.
- Găng tay khám bệnh, khẩu trang.
- Bông, gạc sạch.
- Lam kính kéo lam tự động.
- 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).

2.2.2. Hóa chất, sinh phẩm:

- Hóa chất được sử dụng tùy theo các hệ thống máy phân tích huyết học tự động; hệ thống kéo, nhuộm và đọc tiêu bản tự động.
- Mẫu nội kiểm.
- Mẫu ngoại kiểm.
- Mẫu hiệu chuẩn.

2.2.3. Khác

- Dung dịch sát khuẩn.
- Hộp dụng cụ chống tràn đổ.
- Thùng đựng chất thải: độc hại, lây nhiễm, thông thường và rác thải tái chế...

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phân tích huyết học tự động có kết nối với hệ thống máy kéo, nhuộm tiêu bản tự động và hệ thống phân tích tiêu bản tự động.
- Kính hiển vi quang học.
- 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 toàn phần trong ống có chống đông bằng EDTA K2/K3.
- Mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng (20 - 25°C) và tiến hành xét nghiệm trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

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

- 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. Chuẩn bị hệ thống máy phân tích tế bào tự động, hệ thống máy kéo nhuộm tiêu bản, hệ thống máy phân tích tiêu bản tự động.

Bước 2. Thực hiện kiểm tra chất lượng máy phân tích huyết học, máy kéo nhuộm tiêu bản và máy phân tích tiêu bản tự động theo quy định.

Bước 3. Nhận và đánh giá ống máu:

- 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 máu được đưa vào vận hành trên các máy phân tích huyết học tự động.

Bước 4. Vận hành máy phân tích huyết học tự động: Theo hướng dẫn sử dụng máy phân tích huyết học tự động.

Bước 5. Vận hành hệ thống kéo, nhuộm và đọc tiêu bản tự động: Theo hướng dẫn sử dụng trên hệ thống kéo, nhuộm tiêu bản và hệ thống phân tích tiêu bản tự động.

Bước 6. Kiểm tra kết quả đọc tiêu bản tự động: Kiểm tra và xác nhận các kết quả do máy đưa ra (chỉnh sửa nếu cần). Nhận định về số lượng hồng cầu, huyết sắc

tố, hình thái, kích thước hồng cầu, phân bố hồng cầu. Nhận định số lượng và công thức bạch cầu. Nhận định về số lượng, hình thái tiểu cầu.

Bước 7. Nhận định kết quả bằng lời: Nhận định kết quả bằng lời, dựa vào dữ liệu và hình ảnh trên hệ thống tự động cung cấp.

Bước 8. 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 và nhận định kết quả.
- Kiểm tra kết quả trên máy hoặc trên phần mềm quản lý xét nghiệm, 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
- Kết quả bất thường: thông báo và trao đổi với bác sỹ lâm sàng.

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 ngừa: 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 đúng 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: Xây dựng và 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, 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. Phạm Quang Vinh (2019). Thiếu máu và phân loại thiếu máu. Bài giảng sau đại học Huyết học Truyền máu, chủ biên: Nguyễn Hà Thanh. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội; trang 142 - 164.

2. Kiều Thị Vân Oanh, Nguyễn Thị Lan Hương (2020). Tăng tiểu cầu tiên phát. Chẩn đoán và điều trị bệnh lý Huyết học và truyền máu, chủ biên: Nguyễn Tuấn Tùng. Nhà xuất bản y học. Hà Nội; trang 108 – 115.

3. Kiều Thị Vân Oanh, Nguyễn Thị Lan Hương (2020). Đa hồng cầu. Chẩn

đoán và điều trị bệnh lý Huyết học và truyền máu, chủ biên: Nguyễn Tuấn Tùng. Nhà xuất bản y học. Hà Nội; trang 115 – 122.

4. ICSH guidelines on blood smear preparation and staining.
5. WHO Laboratory Manual for Haematology (2018).

6. XÉT NGHIỆM MÔ BỆNH HỌC TỦY ĐÔNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HEMATOXYLIN EOSIN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá mật độ, tỷ lệ và hình thái các dòng tế bào trong mô tủy đông để đánh giá khả năng sinh máu 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;
- Parafin nóng chảy;
- Cồn Etylic tuyệt đối, cồn Etylic 90°, cồn Etylic 80°;
- 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;
- Cân hóa chất, máy khuấy hóa chất;
- Tủ hút khí độc;
- Tủ ấm;
- 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).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Mẫu tủy đông 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 về 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 18 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

a. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Để bệnh phẩm trong dung dịch cố định trong khoảng 8 giờ.
- Rửa dưới vòi nước chảy trong khoảng 1 giờ
- Thực hiện chuyển bệnh phẩm qua các dung dịch toluen, cồn Etylic tuyệt đối, cồn Etylic 90°, cồn Etylic 80°, 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 – 3 μm) gắn lên lam kính đã nhỏ dung dịch albumin.

- Sấy khô tiêu bản trong tủ ấm 37°C trong thời gian 3 giờ.

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 etylic tuyệt đối, cồn Etylic 90°, cồn Etylic 80°, 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 90° và cồn 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.

4.2. Nhận định kết quả

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

- Nhận định kết quả:

+ Mật độ và phân bố tế bào: bệnh phẩm giàu tế bào hay chỉ rải rác tế bào.

+ 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: phân bố rải rác với khoảng 1-4 mẫu tiểu cầu/vi trường x40.

+ Lymphocyte: bình thường chiếm khoảng 5% tế bào tủy, phân bố rải rác. Ở người trên 40 tuổi, lymphocyte chiếm khoảng 10-15%.

+ Plasmocyte: dưới 5% tế bào có nhân trong tủy.

+ 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 (2009), 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. 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. Cantadori L.O., Gaiolla R.D., Niero-Melo L. và cộng sự. (2019). Bone Marrow Aspirate Clot: A Useful Technique in Diagnosis and Follow-Up of Hematological Disorders. Case Rep Hematol, 2019, 7590948.

7. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GẮN COLLAGEN CỦA YẾU TỐ VON WILLEBRAND (vWF : CBA : Collagen Binding Assay)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đo khả năng gắn collagen của yếu tố von Willebrand.

1.2. Định nghĩa và nguyên lý

- Định nghĩa: là phương pháp định lượng hoạt tính von Willebrand gắn collagen trong máu.

- Xét nghiệm xác định vWF:CB được sử dụng để bổ sung cho chẩn đoán bệnh von Willebrand, đánh giá khả năng tương tác của vWF với collagen dưới nội mạc. Phương pháp xét nghiệm dựa trên nguyên lý miễn dịch, trong quy trình này hướng dẫn thực hiện xét nghiệm bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang.

- Khi huyết tương của người bệnh được ủ với các hạt từ phủ collagen type III, vWF trong huyết tương sẽ gắn với collagen type III (pha rắn). Sau khi rửa, các hạt từ tiếp tục được ủ với kháng thể đơn dòng có gắn chất phát quang đặc hiệu với vWF. Phản ứng giữa "*collagen type III có gắn từ tính - vWF- kháng thể kháng vWF gắn chất phát quang*"xảy ra. Phản ứng hóa phát quang được hoạt hóa, mức độ phát quang được đo thông qua hệ thống quang học sẽ tỉ lệ với khả năng gắn collagen của vWF 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 man;
- 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 vWF gắn collagen;
- 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°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°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: 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

- 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°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.

- Thực hiện xét nghiệm vWF:CB 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 vWF:CB thể hiện dưới dạng % hoặc tương đương.

+ Bình thường vWF:CB 50,5 – 181,2%. 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, 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: CB giảm trong bệnh von Willebrand như type 1, 2A, 2B và type 3.

+ Người nhóm máu O có nồng độ vWF thấp hơn khoảng 25% so với các nhóm máu còn lại.

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 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.

- Thực hiện ngoại kiểm (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. Ferhat-Hamida MY, Boukerb H, Hariti G. Contribution of the collagen binding activity (VWF:CB) in the range of tests for the diagnosis and classification of von Willebrand disease. Ann Biol Clin (Paris). 2015;73(4):461-468. doi:10.1684/abc.2015.1050

8. ĐỊNH LƯỢNG TAFI (THROMBIN ACTIVATABLE FIBRINOLYSIS INHIBITOR)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ TAFI – một chất điều hòa tiêu sợi huyết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Định nghĩa: là phương pháp xác định nồng độ TAFI trong máu.
- TAFI là một enzyme lưu hành trong huyết tương và liên quan đến việc điều hòa quá trình tiêu sợi huyết. Khi TAFI được hoạt hóa thành TAFIa nhờ thrombin - thrombomodulin, quá trình gắn t-PA và plasminogen vào fibrin bị hạn chế, từ đó ức chế quá trình tiêu sợi huyết.
- Nồng độ TAFI có thể xác định bằng phương pháp ELISA hoặc phương pháp so màu (đo hoạt tính). Trong phương pháp xác định hoạt tính TAFI, hoạt hóa TAFI thành TAFIa bằng phức hợp Thrombin-Thrombomodulin, sau đó TAFIa được xác định dựa trên các phản ứng màu.

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 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 TAFI;
- 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°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°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: khoảng 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°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°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 TAFI 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 TAFI được báo cáo dưới dạng % hoặc tương đương.

+ Bình thường hoạt tính TAFI ở người trưởng thành trong khoảng 108 ± 24,5%. 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 hoạt tính TAFI giảm làm tăng nguy cơ xuất huyết.

+ Nồng độ hoạt tính TAFI 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. ERDOĞAN M, ÖZBEK M, AKBAL E, ÜRETEN K. Plasma thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) antigen levels in acromegaly patients in remission. *Turk J Med Sci*. 2019;49(5):1381-1385. doi:10.3906/sag-1812
3. Guimarães AHC, Bertina RM, Rijken DC. A new functional assay of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor. *J Thromb Haemost*. 2005;3(6):1284-1292. doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01388.x

9. XÉT NGHIỆM PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN MULTIMER CỦA YẾU TỐ VON WILLEBRAND

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Phân tích dạng multimer của yếu tố von Willebrand (vWF).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Yếu tố von Willebrand multimer tồn tại dưới nhiều kích thước khác nhau, bao gồm trọng lượng phân tử thấp, trung bình, cao và rất cao. Trọng lượng phân tử vWF tỷ lệ thuận với khả năng kết dính với tiểu cầu cũng như tổ chức dưới nội mạc. Xét nghiệm phân tích dạng multimer của vWF được sử dụng để đánh giá tình trạng mất HMW vWF, có ý nghĩa trong phân loại vWD type 2. Xét nghiệm này thường được thực hiện bằng phương pháp điện di, phân tách dựa vào sự khác biệt về kích thước, trọng lượng phân tử của vWF.

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 man.
- 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 phân tích Willebrand Multimers.
- Hóa chất nội, 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

- Hệ thống điện di.
- 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.

- 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 ≤ - 20oC 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: khoảng 6 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°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.

- Chuẩn bị đầy đủ hóa chất sinh phẩm Willebrand Multimers.

- Tiến hành xét nghiệm von Willebrand Multimers theo quy trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Đọc kết quả càng sớm càng tốt sau khi xử lý Gel.

+ Đánh giá phân phối của các Multimers, có thể chồng đường cong của một kết quả bình thường trên cùng một Gel lên để so sánh.

+ 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 phân tích dạng multimer của vWF được sử dụng để đánh giá tình trạng mất HMW vWF, có ý nghĩa trong phân loại vWD type 2.

+ Thiếu vWF multimers trọng lượng phân tử cao trong bệnh von Willebrand type 2A, 2B, không thiếu hụt ở type 2M, 2N.

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

- Thiết bị được bảo dưỡng theo đúng quy định.
- Nội, ngoại kiểm (nếu có).

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. Ledford-Kraemer MR. Analysis of von Willebrand factor structure by multimer analysis. *Am J Hematol*. 2010;85(7):510-514. doi:10.1002/ajh.21739

3. Skornova I, Simurda T, Stasko J, et al. Multimer Analysis of Von Willebrand Factor in Von Willebrand Disease with a Hydrasys Semi-Automatic Analyzer—Single-Center Experience. *Diagnostics*. 2021;11(11):2153. doi:10.3390/diagnostics11112153

4. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

10. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ VIIIc BẰNG PHƯƠNG PHÁP HAI THÌ (CHROMOGENIC)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính yếu tố đông máu nội sinh VIII trong máu. Phương pháp này được chỉ định trong chẩn đoán hemophilia A, đặc biệt mức độ nhẹ, người bệnh điều trị emicizumab, có kháng đông lưu hành.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Xét nghiệm định lượng yếu tố VIII được đo bằng nguyên lý so màu trên máy xét nghiệm đông máu tự động. Yếu tố VIII có trong mẫu bệnh phẩm sau khi được kích hoạt bởi thrombin thành yếu tố VIIIa (dạng hoạt hóa) sẽ đóng vai trò là đồng yếu tố với yếu tố IXa để chuyển yếu tố X thành Xa với sự có mặt của Ca^{++} và phospholipid. Nồng độ Xa tạo thành được xác định dựa vào một cơ chất đặc hiệu bằng phương pháp đo so màu. Từ nồng độ Xa sẽ tính được nồng độ yếu tố VIII 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 man.
- 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 VIII chromogenic.
- Yếu tố X.
- Yếu tố IXa, thrombin, Ion Ca^{++} và phospholipid dạng đông khô.
- Cơ chất tạo màu.
- 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;
- 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°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: 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

- 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 tốc độ 1500g/phút trong 15 phút để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°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 bằng phương pháp 2 thì 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 VIII 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 ở người trưởng thành VIII: 50% – 150%. Phòng xét nghiệm nên tự thiết lập khoảng tham chiếu phù hợp.

+ Nồng độ yếu tố đông máu VIII có thể giảm trong một số trường hợp như thiếu yếu tố VIII bẩm sinh (hemophilia), von Willebrand (một số type).

+ Các bệnh lý mắc phải như hemophilia A mắc phải, truyền máu khối lượng lớn, ...

+ Nồng độ yếu tố đông máu VIII 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

- Người bệnh dùng thuốc kháng Xa trực tiếp, có thể sai lệch kết quả nồng độ yếu tố VIII, nên cần cân nhắc khi thực hiện xét nghiệm.

- 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. Barrowcliffe TW, Raut S, Sands D, Hubbard AR (2002) "*Coagulation and chromogenic assays of factor VIII activity: General aspects, standardization, and recommendations*" Semin Thromb Hemostasis, Vol 28:247–256.

3. Karen A. Moser and Dorothy M. (Adcock) Funk (2014*) "Chromogenic factor VIII activity assay",* American Journal of Hematology, Vol. 89, No. 7, P. 781 – 783.

4. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

11. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG ỨC CHẾ THỤ THỂ P2Y12

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá đo mức độ phong tỏa thụ thể P2Y12 của tiểu cầu khi sử dụng thuốc ức chế thụ thể P2Y12 như clopidogrel.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khả năng ngưng tập của tiểu cầu được đo dựa trên sự thay đổi mật độ quang khi cho máu toàn phần của người bệnh vào thiết bị đo có chứa các hạt phủ fibrinogen người và chất kích tập.

Xét nghiệm này đo chức năng tiểu cầu dựa trên khả năng tiểu cầu được hoạt hóa liên kết với fibrinogen khi sử dụng adenosine 5-diphosphate và prostaglandin E1 (ADP/PGE1) làm chất kích tập. Mức độ ngưng tập của các vi hạt phủ fibrinogen trong máu toàn phần tỷ lệ với số lượng thụ thể GPIIb/IIIa tiểu cầu không bị ức chế. Mức độ truyền ánh sáng tăng khi tiểu cầu được hoạt hóa và liên kết với các hạt được phủ fibrinogen. Thiết bị đo sự thay đổi tín hiệu quang này bằng phương pháp quang trở.

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.
- Thẻ nội kiểm điện tử (EQC).

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kít làm xét nghiệm đánh giá khả năng ức chế P2Y12 chứa các hạt được phủ fibrinogen đông khô, adenosine 5-diphosphate và prostaglandin E1 (ADP/PGE1), chất đệm (Kít dùng 1 lần).
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- 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 VerifyNow.
- 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.

- 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% 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: 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

- 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 VERIFYNOW, chờ đủ nhiệt độ (khoảng 5').
- Kiểm soát chất lượng:

+ Kiểm chuẩn điện tử thiết bị EQC hàng ngày.

+ Nội kiểm tra thiết bị với 2 mức tối thiểu 30 ngày 1 lần hoặc khi lô kít mới.

+ Phân tích kết quả thu được, nếu nội kiểm đạt yêu cầu thì tiến hành chạy mẫu người bệnh.

- Đặt ống máu vào khay ủ trong vòng 15 phút.
- Chọn chế độ thực hiện xét nghiệm trên máy VERIFYNOW.
- Chuẩn bị bộ kít xét nghiệm.
- Chèn bộ kít xét nghiệm vào thiết bị tại vị trí chỉ định chạy xét nghiệm trên máy VERIFYNOW.
- Tại vị trí chỉ định, lắc đều ống mẫu ít nhất 5 lần và cắm vào kim của bộ kít sau đó đóng nắp bảo vệ.
- Chú ý: Chỉ loại bỏ bộ kít khỏi máy sau khi xét nghiệm đã hoàn thành.
- In, lưu kết quả từ máy.
- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

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: P2Y12 Reaction Units: PRU.

+ 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.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả: Đây là xét nghiệm đánh giá mức độ ức chế tiểu cầu do dùng thuốc ức chế tiểu cầu như clopidogrel, từ đó đưa ra các quyết định điều trị phù hợp.

- Đối với xét nghiệm PRU Test (đánh giá khả năng ức chế P2Y12) với người bệnh dùng thuốc ức chế P2Y12 như clopidogrel:

+ PRU < 95: Nguy cơ chảy máu ;

+ 96 ≤ PRU ≤ 208 : Đáp ứng thuốc;

+ PRU > 208: Nguy cơ thuyên tắc.

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 <110G/L và >500G/L.

Giải pháp: Kiểm tra xét nghiệm công thức máu gần nhất của người bệnh.

- 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

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: không áp dụng.
- 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. VerifyNow PRUTest Platelet Reactivity Test: INSTRUCTIONS FOR USE

4. Accriva Diagnostics Inc, *VerifyNow System – User Manual*.

12. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG SILICA (SCT)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện sự có mặt của chất kháng đông lupus (LA), đây là một trong những phương pháp được khuyến cáo trong xét nghiệm LA hiện nay.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Thời gian đông silica [SCT] bản chất là sử dụng silica làm chất kích hoạt hệ thống tiếp xúc để khởi phát con đường đông máu nội sinh khi silica được trộn với huyết tương nghèo tiểu cầu đã được citrate hóa và bổ sung calci. Xét nghiệm SCT nghèo phospholipid rất nhạy với sự có mặt của kháng đông lupus (LA) và được sử dụng như một xét nghiệm để sàng lọc LA. Có thể khẳng định được sự có mặt của LA bằng cách sử dụng xét nghiệm SCT với nồng độ phospholipid cao để trung hòa LA. Căn cứ vào sự chênh lệch thời gian đông ở 2 nồng độ phospholipid để khẳng định sự có mặt của LA.

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 man.
- 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 SCT hiện nay bao gồm SCT Screen (nghèo phospholipid) và SCT Confirm (thừa phospholipid).
- Huyết tương pool bình thường.
- 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;
- 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: 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

- 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°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm SCT trên hệ thống máy đông máu theo quy trình vận hành.
- Tiến hành xét nghiệm SCT screen và SCT confirm với mẫu huyết tương pool bình thường.

- Tiến hành xét nghiệm SCT screen và confirm của mẫu bệnh phẩm trên máy phân tích đông máu tự động.
- Tính tỷ lệ SCT Screen (1) = SCT screen mẫu/SCT screen chứng
- Tính tỷ lệ SCT confirm (2)= SCT confirm mẫu/SCT confirm chứng
- Tỷ lệ SCT(3) = tỷ lệ SCT Screen(1)/ tỷ lệ SCT confirm(2)
- Nếu (3) > cut off: LA dương tính

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả xét nghiệm được báo cáo gồm thời gian SCT screen, confirm và tỷ lệ SCTscreen/confirm và từ các chỉ số trên 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 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, từ 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: 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. 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. Diagnostic accuracy of silica clotting time method for lupus anticoagulant in a clinical population with various symptoms of antiphospholipid syndrome - M Averina, S Johannesen, J Brox, 2016. Accessed September 27, 2023. https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0961203315617540

13. ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ VIIa

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Định lượng yếu tố VIIa.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Yếu tố VIIa có thể đo dựa trên nguyên lý phát hiện điểm đông, so màu hoặc ELISA, trong đó nguyên lý phát hiện điểm đông có thể thực hiện trên hệ thống máy xét nghiệm đông máu.

Yếu tố VIIa tạo phức hợp với yếu tố tổ chức tái tổ hợp đã được phân cắt (rTTF: recombinant truncated human tissue factor), trong đó rTTF không thể hoạt hóa yếu tố VII. Quá trình đông máu được hoạt hóa khi bổ sung thêm ion canxi. Thời gian đông phụ thuộc vào nồng độ yếu tố VIIa trong huyết tương người bệnh, từ đó tính ra nồng độ yếu tố VIIa.

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 man.
- 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 VIIa gồm Human recombinant truncated TF (rTTF), phospholipid tổng hợp, dung dịch đệm, Canxi.
- 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;
- 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°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°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: 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

- 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°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°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 VIIa 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 VIIa được báo cáo dưới dạng UI/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.

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, lưu ý khi trả 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

- Nội kiểm soát chất lượng 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

CLSI Document H21-A5 (2008): “Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma -based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline”.

WHO International Standard, Blood Coagulation Factor VIIa, Concentrate, Human, 2nd International Standard, NIBSC 07/228

14. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG SINH THROMBIN (THROMBIN GENERATION TEST)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng sinh thrombin trong huyết tương người bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Là xét nghiệm sử dụng máy đông máu đo lượng thrombin được sinh ra sau khi cho các chất hoạt hóa đông máu.

Hình thành Thrombin là giai đoạn chủ yếu của quá trình đông máu. Có thể xác định nồng độ thrombin qua phản ứng sinh màu và phổ biến nhất là phản ứng huỳnh quang. Người ta bổ sung vào huyết tương một lượng Phospholipid, Calci, yếu tố mô (Tissue factor- TF), sau đó Thrombin sẽ phản ứng với chất sinh màu hoặc chất huỳnh quang và được tính toán thành dạng biểu đồ (thrombogram).

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 chống đông Natri citrat 3.2%.
- Pipet man.
- Bút marker, bút bi, barcode, giá chứa mẫu.
- Rack thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.
- Cuvette.
- Đầu côn.

2.2.2. Hóa chất

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm TGT.
- Hóa chất QC.
- Hóa chất hiệu chuẩn calibration.
- Dung dịch pha loãng.

2.2.3. Khác:

- Dung dịch sát khuẩn.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống xét nghiệm TGT được hiệu chuẩn và kiểm tra chất lượng
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- 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).
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện.

2.4. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng Natri citrat 3,2% với tỷ lệ máu : chống đông là 9:1; bảo quản ở 15 - 25°C, xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu.
- Huyết tương: Nếu không thể xét nghiệm trong 4 giờ thì tách huyết tương trong 2 giờ từ lúc lấy máu, bảo quản ở ≤ - 20°C trong vòng 2 tuần, hoặc bảo quản ở ≤ - 70°C trong vòng 6 tháng, phải duy trì trạng thái đông khi vận chuyển.
- Mẫu đủ thể tích, đúng loại chất chống đông,không đông, tan máu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 04 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.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước tiến hành

- Bước 1: Chuẩn bị

+ Người thực hiện đội mũ, đeo khẩu trang, găng tay.
+ Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.

- Bước 2: Kiểm tra chất lượng máy

+ Hiệu chuẩn khi thay hóa chất mới, định kỳ, theo yêu cầu của nhà sản xuất.
+ Thực hiện nội kiểm trước khi tiến hành xét nghiệm.
+ Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động.

- Bước 3: Nhận bệnh phẩm

+ Kiểm tra thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm
+ Kiểm tra chất lượng và giao – nhận mẫu, ký xác nhận theo quy định.

- Bước 4: Xử lý mẫu

+ Ly tâm tối thiểu 1500G/phút/15 phút để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.
+ Trường hợp mẫu huyết tương bảo quản dưới -20°C: tan đông hoàn toàn ở 37°C ngay trước thời điểm phân tích. Nếu mẫu tan đông không xét nghiệm ngay thì giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4°C, không được cấp đông lại.

- Bước 5: Thực hiện xét nghiệm

Thực hiện xét nghiệm khả năng sinh thrombin trên hệ thống máy TGT theo quy trình vận hành. Theo dõi máy trong quá trình vận hành.

4.2. Nhận định kết quả

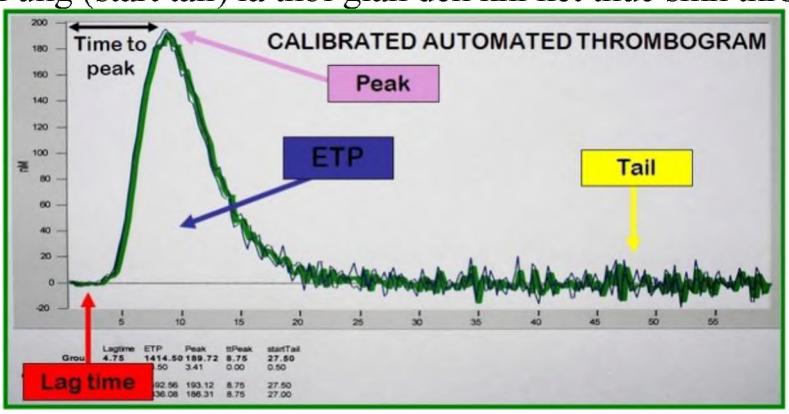
- Kết quả có thể thể hiện dưới dạng biểu đồ và qua các thông số (hình 4.1.):

+ Độ trễ (lag time).
+ Thời gian đến đỉnh phản ứng (time to peak).

+ Đỉnh phản ứng (peak): lượng Thrombin sinh ra nhiều nhất.

+ Thế năng sinh thrombin nội sinh (ETP): là diện tích dưới đường cong của toàn bộ lượng thrombin sinh ra.

+ Đuôi phản ứng (start tail) là thời gian đến khi kết thúc sinh thrombin.



Hình 4.1. Biểu đồ và các tham số của xét nghiệm khả năng sinh thrombin

- Tiến hành xem xét, đối chiếu tham khảo với khoảng tham chiếu, kết quả tiền sử, thông tin lâm sàng của người bệnh.

- Valid, in và ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Giá trị bình thường của các tham số tùy thuộc vào hệ thống xét nghiệm và hóa chất sử dụng

+ Khả năng sinh thrombin giảm: người bệnh có nguy cơ xuất huyết

+ Khả năng sinh thrombin tăng: người bệnh có nguy cơ huyết khối

+ Ngoài ra xét nghiệm có thể sử dụng để theo dõi hiệu quả điều trị, nguy cơ xuất huyết của người bệnh hemophillia, điều trị chống đông.

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. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Lấy 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 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, sủ dụng vận chuyển và phân phối mẫu tự động (nếu có thể)

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, thực hiện quản lý chất lượng, tuân thủ quy trình kỹ thuật, bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Nhận định sai kết quả. Trả nhầm kết quả

Giải pháp: Đào tạo nhân viên.

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. 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. Mann, K.G., Butenas, S. & Brummel, K. (2003) The dynamics of thrombin formation. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 23, 17-25.

3. Mann, K.G., Brummel, K. & Butenas, S. (2003) What is all that thrombin for? J Thromb Haemost, 1, 1504-1514.

4. Tripodi, A., Legnani, C., Palareti, G., Chantarangkul, V. & Mannucci, P.M. (2009) More on: high thrombin generation and the risk of recurrent venous thromboembolism. J Thromb Haemost, 7, 906-907.

5. Brummel-Ziedins, K.E., Whelihan, M.F., Gissel, M., Mann, K.G. & Rivard, G.E. (2009) Thrombin generation and bleeding in haemophilia A. Haemophilia, 15, 1118-1125.

6. Tripodi A (2016). Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. Clinical chemistry; 62: 699-707.

15. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG ỨC CHẾ THỤ THỂ GPIIb/IIIa

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá đo mức độ phong tỏa thụ thể GPIIb/IIIa của tiểu cầu trên người bệnh khi sử dụng thuốc ức chế thụ thể GPIIb/IIIa như abciximab.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Khả năng ngưng tập của tiểu cầu được đo dựa trên sự thay đổi mật độ quang khi cho máu toàn phần của người bệnh vào thiết bị đo có chứa các hạt phủ fibrinogen người và chất kích tập.

Xét nghiệm này đo chức năng tiểu cầu dựa trên khả năng của tiểu cầu được hoạt hóa liên kết với fibrinogen khi sử dụng TRAP (thrombin receptor activating peptide) làm chất kích tập. Mức độ ngưng tập của các vi hạt phủ fibrinogen trong máu toàn phần tỷ lệ với số lượng thụ thể GPIIb/IIIa tiểu cầu không bị ức chế. Mức độ truyền ánh sáng tăng khi tiểu cầu được hoạt hóa và liên kết với các hạt được phủ fibrinogen. Thiết bị đo sự thay đổi tín hiệu quang này bằng phương pháp quang trở.

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.
- Thẻ nội kiểm điện tử (EQC).

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kít làm xét nghiệm đánh giá khả năng ức chế thụ thể GPIIb/IIIa (Kít dùng 1 lần).
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- 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 VerifyNow.
- 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.
- 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°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: 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

- 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 và ký tên xác nhận theo quy định.

- Bật máy VERIFYNOW, chờ đủ nhiệt độ (khoảng 5').
- Kiểm soát chất lượng:

+ Kiểm chuẩn điện tử thiết bị (EQC) hàng ngày.

+ Nội kiểm thiết bị với 2 mức tối thiểu 30 ngày 1 lần hoặc khi lô kít mới.

+ Đặt ống máu vào khay ủ trong vòng 15 phút.

- Chọn chế độ thực hiện xét nghiệm trên máy VERIFYNOW.
- Chuẩn bị bộ kít xét nghiệm.
- Chèn bộ kít xét nghiệm vào thiết bị tại vị trí chỉ định chạy xét nghiệm trên máy VERIFYNOW.
- Tại vị trí chỉ định, lắc đều ống mẫu ít nhất 5 lần và cắm vào kim của bộ kít sau đó đóng nắp bảo vệ.
- Chú ý: Chỉ loại bỏ bộ kít khỏi máy sau khi xét nghiệm đã hoàn thành.
- In, lưu kết quả từ máy.
- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm.

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: platelet aggregation units: PAU

+ 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.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả:

+ Đây là xét nghiệm đánh giá mức độ ức chế tiểu cầu do dùng thuốc ức chế tiểu cầu như abciximab, từ đó đưa ra các quyết định điều trị phù hợp.

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 < 110G/L và > 500G/L.

Giải pháp: Kiểm tra xét nghiệm công thức máu gần nhất của người bệnh.

- 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: không áp dụng.
- 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. Accriva Diagnostics Inc, *VerifyNow System – User Manual*.

16. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ ADAMTS13 (ADAMTS13 ANTIBODY)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện (định tính) kháng thể ADAMTS13 (a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13) trong huyết thanh người bệnh nhằm chẩn đoán bệnh lý TTP liên quan đến tự kháng thể (Immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura).

Cơ thể bình thường không có kháng thể ADAMTS13, tuy nhiên chúng có thể xuất hiện trong bệnh tự miễn như lupus, hội chứng Sjogren, sau nhiễm trùng, HIV, do thuốc (ticlodipine), hoặc không tìm được nguyên nhân. Kháng thể xuất hiện sẽ bất hoạt ADAMTS13 gây ra bệnh giảm tiểu cầu huyết khối (TTP).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng chất phản ứng đặc hiệu với kháng thể ADAMS13 rồi phát hiện nhờ hệ thống Western Blot hay ELISA.

Thuốc thử sẽ gắn kháng thể ADAM13 theo cơ chế kháng nguyên - kháng thể đặc hiệu và phức hợp sẽ gắn enzyme có chỉ thị màu; hệ thống ELISA sẽ nhận diện.

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 chống đông Natri citrat 3.2% hoặc ống không chống đông (tuỳ theo yêu cầu của kít xét nghiệm).
- Pipet.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Bút marker, bút bi, barcode, giá chứa mẫu.
- Rack thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Hóa chất:

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm phát hiện kháng thể ADAMTS13.
- Hóa chất QC (theo kít xét nghiệm).
- Hóa chất hiệu chuẩn calibration (theo kít xét nghiệm).
- Dung dịch pha loãng.

2.2.3. Khác:

- Dung dịch sát khuẩn.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống xét nghiệm ELISA hay Western Blot.

- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- 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).
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng Natri citrat 3,2% với tỷ lệ: 9 máu: 1 chống đông; bảo quản15 - 25°C, xét nghiệm trong 4 giờ kể từ khi lấy mẫu. Cũng có thể dùng máu không chống đông (huyết thanh) tùy theo yêu cầu của kít xét nghiệm.
- Nếu không thể xét nghiệm trong 4 giờ: tách huyết tương/huyết thanh trong 2 giờ từ lúc lấy máu, bảo quản ≤ - 20°C trong 2 tuần, hoặc ở ≤ - 70°C trong 6 tháng, phải duy trì trạng thái đông của huyết tương khi vận chuyển tới phòng xét nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 4 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 tiến hành

- Bước 1: Chuẩn bị

+ Người thực hiện đội mũ, đeo khẩu trang, găng tay.
+ Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
+ Chuẩn bị hệ thống máy xét nghiệm theo quy trình của kít xét nghiệm.

- Bước 2: 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 và ký tên xác nhận theo quy định.

- Bước 3: Xử lý mẫu

+ Ly tâm 1500G/phút/15 phút để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.
+ Trường hợp là mẫu huyết tương bảo quản dưới -20°C: Tan đông hoàn toàn ở 37°C ngay trước thời điểm phân tích; mẫu đã tan đông không được phân tích ngay thì có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4°C, không được cấp đông lại.

- Bước 4: Thực hiện xét nghiệm

+ Thực hiện xét nghiệm theo quy trình hướng dẫn của kít xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả xét nghiệm có thể được nhận xét: Dương tính, âm tính hay nghi ngờ.

+ 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.

+ Bác sĩ/Kỹ thuật y valid/in/ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm

+ Bình thường trong huyết tương, không có kháng thể kháng ADAMTS13.

+ Kháng thể ADAMTS13 xuất hiện trong TTP liên quan tự miễn dịch.

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. 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, tăng hematocrit.

+ Giải pháp: Cần điều chỉnh tỉ lệ chất chống đông natri citrat theo quy định.

- Nhận dạng mẫu sai; bảo quản vận chuyển sai; sai lệch người bệnh - mẫu.

+ Giải pháp: Kiểm tra, từ chối mẫu, lấy lại mẫu. Sử dụng tin học, vận chuyển mẫu tự động nếu có thể

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 đảm bảo chất lượng; bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

Nhận định sai kết quả, trả sai người bệnh; lưu mẫu sai.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên; theo đảm bảo chất lượng; trả kết quả tự động.

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 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. Alwan F, Vendramin C, Vanhoorelbeke K, et al. Presenting ADAMTS13 antibody and antigen levels predict prognosis in immune-mediated thrombotic

thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2017;130(4):466-471. doi:10.1182/blood-2016-12-758656

2. Mackie I, Mancini I, Muia J, et al (2020). International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. Int J Lab Hematol;42(6):685-96.

3. Chiasakul T, Cuker A (2018). Clinical and laboratory diagnosis of TTP: an integrated approach. Hematology Am Soc Hematol Educ Program:530-8.

17. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ ADAMTS13 (ADAMTS13 ANTIBODY)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng kháng thể ADAMTS13 (a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13) trong huyết thanh người bệnh nhằm chẩn đoán và theo dõi bệnh TTP liên quan đến tự kháng thể

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng chất phản ứng đặc hiệu với kháng thể ADAMS13 rồi phát hiện nhờ hệ thống Western Blot hay ELISA.

Kháng thể ADAMTS13 có thể được định lượng trực tiếp bằng phương pháp ELISA hoặc Western Blot, hoặc dựa vào mức độ ức chế hoạt tính của ADAMTS13 theo nguyên lý tìm chất ức chế của Bethesda: tìm nồng độ pha loãng huyết tương người bệnh mà ở đó làm giảm hoạt tính (hay nồng độ) ADAMTS13 của huyết tương control ở dưới một cut-off đặc hiệu cho kít 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).
- 02 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Vật tư

- Ống chống đông Natri citrat 3.2% hoặc ống không chống đông (tuỳ theo yêu cầu của kít xét nghiệm).
- Pipet.
- Cuvette.
- Đầu côn.
- Bút marker, bút bi, barcode, giá chứa mẫu.
- Rack thuốc thử, bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Hóa chất:

- Bộ hóa chất làm xét nghiệm định.
- Hóa chất QC (theo kít xét nghiệm).
- Hóa chất hiệu chuẩn calibration (theo kít xét nghiệm).
- Dung dịch pha loãng.

2.2.3. Khác:

- Dung dịch sát khuẩn.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống xét nghiệm ELISA hoặc Western Blot hoặc hệ thống xét nghiệm định lượng hoạt tính ADAMTS13.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất sinh phẩm.
- 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).
- Phần mềm HIS, LIS, phần mềm quản lý QC kết nối với máy xét nghiệm và hệ thống lưu điện (nếu sử dụng).

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Máu toàn phần chống đông bằng Natri citrat 3,2% với tỷ lệ máu : chống đông là 9:1; bảo quản ở 15 - 25°C, xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy mẫu. cũng có thể là máu không chống đông (huyết thanh) tùy theo yêu cầu của kít xét nghiệm
- Nếu không thể xét nghiệm trong 4 giờ thì tách huyết tương/huyết thanh: trong 2 giờ từ lúc lấy máu, bảo quản ở ≤ - 20°C trong vòng 2 tuần, hoặc bảo quản ở ≤ - 70°C trong vòng 6 tháng, phải duy trì trạng thái đông khi vận chuyển.
- Mẫu đủ thể tích, đúng loại chất chống đông,không đông, tan máu

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Yêu cầu đủ thông tin định danh người bệnh, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 4 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 tiến hành

- Bước 1: Chuẩn bị

+ Người thực hiện đội mũ, đeo khẩu trang, găng tay.
+ Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm, vật tư đầy đủ.
+ Chuẩn bị hệ thống máy xét nghiệm theo hướng dẫn của kít xét nghiệm.

- Bước 2: 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 và ký tên xác nhận theo quy định.

- Bước 3: Xử lý mẫu:

+ Ly tâm 1500G/phút/15 phút để thu được huyết tương nghèo tiểu cầu.
+ Trường hợp là mẫu bảo quản dưới -20°C: Tan đông hoàn toàn ở 37°C ngay trước thời điểm phân tích. Mẫu tan đông không được phân tích ngay thì thời gian có thể giữ mẫu tối đa là 2 giờ ở 4°C, không được cấp đông lại.

- Bước 4: Thực hiện xét nghiệm: theo hướng dẫn của mỗi kít xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả và nhận định kết quả

+ Kết quả xét nghiệm có thể được trả theo đơn vị U/ml.

Bác sĩ/Kỹ thuật y valid/in/ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận kết quả xét nghiệm.

+ Bình thường trong huyết tương, không có kháng thể kháng ADAMTS13.

+ Kháng thể ADAMTS13 cao/ thấp liên quan mức độ rối loạn

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. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Lấy mẫu: Kim lấy máu quá nhỏ (> 21G), garo quá 1 phút, lấy máu từ đường truyền tĩnh mạch, vết chọc trước, lấy máu chậm; sai thông tin, nhầm lẫn.

+ Giải pháp: Dùng kim lấy máu từ 18-21G, đào tạo nhân viên, tin học hóa.

- 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.

- Vận chuyển, bảo quản sai: hộp vận chuyển, nhiệt độ bảo quản, thời gian từ lúc lấy mẫu đến khi bàn giao cho khoa xét nghiệm, nhầm lẫn.

+ Giải pháp: Từ chối nhận mẫu, yêu cầu lấy lại mẫu; sử dụng vận chuyển và phân loại mẫu tự động nếu có thể.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Sai kĩ thuật, hóa chất hỏng, máy không ổn định.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên, thực hiện theo quản lý chất lượng phòng xét nghiệm; bảo dưỡng máy xét nghiệm theo quy định.

5.3. Sau quá trình thực hiện kỹ thuật

- Nhận định sai kết quả; trả kết quả nhầm, chậm

+ Giải pháp: Đào tạo nhân viên; sử dụng trả kết quả tự động

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 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. Alwan F, Vendramin C, Vanhoorelbeke K, et al. Presenting ADAMTS13 antibody and antigen levels predict prognosis in immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2017;130(4):466-471. doi:10.1182/blood-2016-12-758656

2. Mackie I, Mancini I, Muia J, et al (2020). International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for laboratory measurement of ADAMTS13. Int J Lab Hematol;42(6):685-96.

3. Chiasakul T, Cuker A (2018). Clinical and laboratory diagnosis of TTP: an integrated approach. Hematology Am Soc Hematol Educ Program:530-8.

4. Moore GW, Vetr H, Binder NB (2023). ADAMTS13 Antibody and Inhibitor Assays. In: Favaloro EJ, Gosselin RC, eds. *Hemostasis and Thrombosis*. Vol 2663. Methods in Molecular Biology. Springer US:549-565. doi:10.1007/978-1-0716-3175-1_36.

18. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU ĐÔNG HOẠT HÓA (activated clotting time: ACT)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá con đường đông máu nội sinh, thường sử dụng đánh giá đáp ứng điều trị với heparin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Máu toàn phần của người bệnh được thêm vào ống máu có chất hoạt hóa tiếp xúc, quá trình đông máu được khởi phát qua con đường nội sinh. Quá trình này phụ thuộc vào tiểu cầu của người bệnh (nguồn phospholipid).
- Ban đầu, ống được đặt trong bồn nước ở nhiệt độ 37°C trong 60 giây, lấy ra và nghiêng từ từ cứ sau 5 giây cho đến khi hình thành cục máu đông. Thời gian hình thành cục máu đông được gọi tắt là ACT. Hiện nay ACT hầu hết thực hiện bằng các kỹ thuật hoàn toàn tự động, trong đó điểm thời gian hình thành cục máu đông được máy tự động ghi lại.

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

- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bệnh phẩm.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

Kít xét nghiệm.

2.2.3. Vật tư khác

- Bơm kim tiêm.
- 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 ACT tại chỗ.
- 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).

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. Thực hiện xét nghiệm ngay sau khi lấy mẫu.
- Tiêu chuẩn: Đảm bảo thể tích mẫu, không lẫn kháng 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: khoảng 0,5 giờ.
2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Khoa lâm sàng.
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.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, nhiệt độ khe để kít xét nghiệm đủ 37°C.
- Thực hiện xét nghiệm đo ACT tai giường:

+ Dùng bơm tiêm đã có máu người bệnh không lẫn kháng đông nhẹ nhàng bơm máu vào kít xét nghiệm tại vạch kít đến khi được lượng máu đã được đánh dấu sẵn. Lưu ý không bơm máu vào đáy kít xét nghiệm.

+ Nhẹ nhàng cho kít xét nghiệm vào buồng thử trên máy đã chuẩn bị sẵn và theo dõi kết quả. Lưu ý không đặt kít xét nghiệm vào buồng thử trên máy khi nhiệt độ buồng thử chưa đạt 37°C.

4.2. Nhận định kết quả.

- Đọc kết quả và nhận định kết quả:

+ Kết quả được báo cáo dưới dạng giây (s).

+ Kết quả bình thường thời gian máu đông trong khoảng 70-120 giây; Khoảng tham chiếu có thể thay đổi tùy thuộc vào loại kít (chất hoạt hóa tiếp xúc).

+ 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, điều trị của người bệnh.

- Bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.
- Biện luận kết quả xét nghiệm:

+ Nếu người bệnh dùng thuốc chống đông ACT thường trong khoảng 150 - 600 giây tùy thuộc vào chỉ định điều trị.

+ ACT kéo dài có thể gặp trong điều trị heparin, thiếu yếu tố đông máu, kháng đông lupus lưu hành (LA), thuốc kháng vitamin K...

+ Thời gian ACT ngắn có thể gặp trong những trường hợp tăng đông.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả 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, hematocrit giảm, hematocrit. Cần cân nhắc khi biện luận kết quả

+ Nhiệt độ người bệnh thấp

Giải pháp: Ủ ấm người bệnh

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Không tuân thủ quy trình kỹ thuật.
- Kít không đảm bảo chất lượng.
- Nhiệt độ buồng xét nghiệm trên máy chưa đủ.

Giải pháp: Đào tạo nhân viên tuân thủ quy trình kỹ thuật, thực hiện bảo dưỡng và theo dõi nhiệt độ buồng 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 định kì theo quy định của nhà sản xuất

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Horton S, Augustin S. Activated clotting time (ACT). *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2013;992:155-167. doi:10.1007/978-1-62703-339-8_12
2. Levy JH, Staudinger T, Steiner ME. How to manage anticoagulation during extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med*. 2022;48(8):1076-1079. doi:10.1007/s00134-022-06723-z

19. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN THROMBIN PHA LOÃNG (diluted thrombin time: dTT)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Định lượng hoạt tính của thuốc ức chế yếu tố 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.

Huyết tương của người bệnh được pha loãng bằng huyết tương pool của người bình thường để hạn chế ảnh hưởng của các yếu tố trước phân tích. Khi thêm vào huyết tương (đã được pha loãng) một lượng thrombin cố định, sẽ hoạt hóa quá trình đông máu, chuyển fibrinogen thành fibrin. Dabigatran trong huyết tương của người bệnh sẽ có tác dụng ức chế lượng thrombin bổ sung, thời gian đông tương quan với nồng độ thuốc 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 man.
- 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 dTT.
- 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°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°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: 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

- 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 và ký tên xác nhận theo quy định.

- Xử lý mẫu:

+ Ly tâm để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.

+ Mẫu huyết tương bảo quản ≤ -20°C: làm tan đông hoàn toàn ở 37°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°C, không được cấp đông lại.

- Chuẩn bị máy ở trạng thái hoạt động, đảm bảo kiểm soát chất lượng.
- Thực hiện xét nghiệm dTT 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 dTT 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 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.

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. Avecilla ST, Ferrell C, Chandler WL, Reyes M. Plasma-Diluted Thrombin Time to Measure Dabigatran Concentrations During Dabigatran Etexilate Therapy. *Am J Clin Pathol*. 2012;137(4):572-574. doi:10.1309/AJCPAU7OQM0SRPZQ

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.

20. XÉT NGHIỆM THỜI GIAN TIÊU EUGLOBULIN

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá mức độ tiêu sợi huyết.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dựa vào đặc tính tủa trong môi trường acid của các euglobulin huyết tương, người ta acid hoá huyết tương để thu những chất này và loại bỏ các chất ức chế tiêu sợi huyết. Sau đó làm đông euglobulin huyết tương và theo dõi thời gian tiêu đông; Thời gian tiêu của cục đông trong trường hợp này phản ánh mức độ hoạt động của hệ thống tiêu 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

- Pipette man.
- Bút marker, bút bi, barcode (nếu có), giá chứa mẫu.
- Bàn để giá mẫu.

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Nước cất.
- CaCl2 M/40.
- Acid acetic 1,6 % pha loãng thành 1/100 trong nước cất.
- Dung dịch đệm borat pH 7,6.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Hai ống nghiệm tan máu.
- 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.
- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh lưu mẫu.
- 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 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: 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.
- Trong ống nghiệm thủy tinh cho 0,5 ml huyết tương nghèo tiểu cầu, cho thêm 9,5ml acid acid acetic đã được pha 1/100 trong nước cất. Đảo nhẹ ống trộn đều.
- Để vào tủ lạnh 4°C trong 20 phút.
- Lấy ra chia đều sang 2 ống (mỗi ống 5ml).
- Ly tâm 3000 vòng/phút x 10 phút.
- Lấy ra gạn bỏ phần nước trong giữ lại tủa, dùng giấy lọc thấm khô thành ống.
- Cho vào mỗi ống 0,25 ml $CaCl_2$ M/40 đặt vào bình cách thuỷ 37°C, theo dõi tới khi đông và bấm đồng hồ theo dõi thời gian tan.

4.2. Nhận định kết quả

- Dựa vào tình trạng tan của cục đông để nhận định kết quả:

+ Tan trước 10 phút: tiêu sợi huyết tối cấp, nặng.

+ Tan 10-30 phút: tiêu sợi huyết cấp.

+ Tan 30-60 phút: tiêu sợi huyết bán cấp.

+ Tan từ 60-120 phút: tiêu sợi huyết tiềm tàng.

+ Tan sau 120 phút: bình thường.

- 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.

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 nặng fibrinogen, dung dịch không đông được

Giải pháp: Bổ sung fibrinogen, theo dõi quá trình tan

- 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 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. PGS.TS.Cung Thị Tý, Nguyễn Thị Nữ, Thời gian tiêu euglobulin, Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng, NXB Y học, Hà Nội (2016), tr. 87.

3. H21-A5: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline— Fifth Edition.

21. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG ỨC CHẾ CYCLO-OXYGENASE (COX)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1.Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng ngưng tập tiểu cầu của người bệnh khi sử dụng aspirin.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Enzyme cyclo-oxygenase-1 (COX-1) có vai trò trong chuyển acid arachidonic thành thromboxane A2 – là chất có khả năng kích hoạt GPIIb/IIIa, từ đó dẫn đến quá trình kết tập của tiểu cầu. Aspirin có tác dụng ức chế quá trình ngưng tập của tiểu cầu thông qua ức chế COX-1.

Khả năng ngưng tập của tiểu cầu được đo dựa trên sự thay đổi mật độ quang khi cho máu toàn phần của người bệnh vào thiết bị đo có chứa các hạt phủ fibrinogen người và chất kích tập.

Xét nghiệm này đo chức năng tiểu cầu dựa trên khả năng của tiểu cầu được hoạt hóa liên kết với fibrinogen khi sử dụng acid arachidonic làm chất kích tập. Mức độ ngưng tập của các vi hạt phủ fibrinogen trong máu toàn phần tỷ lệ với số lượng thụ thể GPIIb/IIIa tiểu cầu không bị ức chế. Mức độ truyền ánh sáng tăng khi tiểu cầu được hoạt hóa và liên kết với các hạt được phủ fibrinogen. Thiết bị đo sự thay đổi tín hiệu quang bằng phương pháp quang trở.

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.
- Thẻ nội kiểm điện tử (EQC).

2.2.2. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ kít làm xét nghiệm đánh giá khả năng ức chế COX chứa các hạt được phủ fibrinogen, acid arachidonic, chất đệm (Kít dùng 1 lần).
- Hóa chất nội kiểm.
- Hóa chất khử trùng.

2.2.3. Vật tư khác

- Ống chống đông Natri citrate.
- Bơm kim tiêm.
- Mũ giấy, khẩu trang, găng tay, quần áo bảo hộ.
- Thùng và túi đựng rác thải theo quy định.
- 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 VerifyNow.
- 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.
- 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% 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: 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

- 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 VERIFYNOW, chờ đủ nhiệt độ (khoảng 5').
- Kiểm soát chất lượng

+ Kiểm chuẩn điện tử thiết bị EQC hàng ngày.

+ Nội kiểm tra thiết bị với 2 mức tối thiểu 30 ngày 1 lần hoặc khi lô kít mới.

+ Phân tích kết quả thu được, nếu nội kiểm đạt yêu cầu thì tiến hành chạy mẫu người bệnh.

- Đặt ống máu vào khay ủ trong vòng 30 phút.
- Chọn chế độ thực hiện xét nghiệm trên máy VERIFYNOW
- Chuẩn bị bộ kít xét nghiệm
- Chèn bộ kít xét nghiệm vào thiết bị tại vị trí chỉ định chạy xét nghiệm trên máy VERIFYNOW.
- Tại vị trí chỉ định, lắc đều ống mẫu ít nhất 5 lần và cắm vào kim của bộ kít sau đó đóng nắp bảo vệ.
- Chú ý: Chỉ loại bỏ bộ kít khỏi máy sau khi xét nghiệm đã hoàn thành.
- In, lưu kết quả từ máy

- Nhập kết quả vào hệ thống phần mềm thông tin phòng xét nghiệm

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 ARU.

+ 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.

- Đánh giá, in và bác sĩ/cử nhân ký duyệt kết quả xét nghiệm.

- Biện luận:

- Đây là xét nghiệm đánh giá mức độ ức chế tiểu cầu do dùng thuốc kháng tiểu cầu như aspirin, từ đó đưa ra các quyết định điều trị phù hợp:

- Đối với xét nghiệm Aspirin Test (đánh giá khả năng ức chế COX) với người bệnh dùng aspirin:

+ ARU < 550: Đáp ứng với aspirin

+ ARU ≥ 550: Không đáp ứng với aspirin

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 < 92 G/L.

Giải pháp: Kiểm tra xét nghiệm công thức máu gần nhất của người bệnh.

- 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: không áp dụng.
- 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. VerifyNow Aspirin Platelet Reactivity Test: INSTRUCTIONS FOR USE

4. Accriva Diagnostics Inc, *VerifyNow System – User Manual*

5. Chatterton S, Dignan R, Luu Q, Aty W, Chandrasiri S, French JK. Platelet Activity Measured by VerifyNow® Aspirin Sensitivity Test Identifies Coronary Artery Bypass Surgery Patients at Increased Risk for Postoperative Bleeding and Transfusion. *Heart Lung Circ*. 2020;29(3):460-468. doi:10.1016/j.hlc.2019.03.016.

22. ĐẾM SỐ LƯỢNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ BẰNG KỸ THUẬT FLOW CYTOMETRY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đếm số lượng tế bào gốc trung mô (MSC) thông qua dấu ấn miễn dịch 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 MSC có dấu ấn CD73, CD90, CD105 trên bề mặt tế bào, không mang theo dấu ấn của tế bào tạo máu như CD45, 7-Amino-Actinomycin D (7-AAD) là chất màu huỳnh quang chỉ 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 CD73, CD90, CD105, CD45 và 7-AAD, khi phân tích trên hệ thống máy Flow Cytometry sẽ xác định đúng quần thể tế bào MSC sống, qua đó tính được số lượng tế bào trung mô (SLTB MSC) trong mẫu, đồng thời xác định được tỷ lệ tế bào sống, chết dựa trên các tế bào bắt màu hoặc không bắt màu 7-AAD.

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. Hóa chất, thuốc thử

- Bộ kháng thể đơn dòng gắn huỳnh quang bao gồm:
+ Kháng thể kháng CD45 gắn màu huỳnh quang.
+ Kháng thể kháng CD90 gắn màu huỳnh quang.
+ Kháng thể kháng CD73 gắn màu huỳnh quang.
+ Kháng thể kháng CD105 gắn màu huỳnh quang.
+ 7-AAD.
- Dung dịch phá hồng cầu NH4Cl Lysing.
- Hạt bead dùng để định lượng gián tiếp (có thể là loại sinh phẩm riêng biệt hoặc được chuẩn bị sẵn cùng ống nghiệm).
- Hóa chất chuẩn máy.
- Hoá chất khử trùng.
- Dung dịch Sheath chạy máy.
- Dung dịch rửa máy.
- Nước cất.
- Hóa chất đếm tế bào (bạch cầu).

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.
- 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 hóa chất sinh phẩm.
- Bể ổn nhiệt.
- Trang thiết bị đếm tế bào.
- 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, thiết bị

- Các mẫu sản phẩm tế bào gốc sau thu thập, sau nuôi cấy, sau bảo quản đông lạnh từ các nguồn máu dây rốn, dịch tủy xương, mô mỡ và các nguồn khác.
- Đối chiếu mã xét nghiệm trên giấy chỉ định và ống nghiệm chứa mẫu.
- Bật máy tính, máy Flow Cytometry.
- Chuẩn bị hóa chất, máy xét nghiệm.
- Ghi mã xét nghiệm lên ống nhựa chạy máy.
- Với mẫu bệnh phẩm tươi thì có thể chuyển sang bước tiếp theo. Với mẫu bệnh phẩm bảo quản đông lạnh thì cần rã đông trong bể nước ấm 37°C.
- Đếm số lượng bạch cầu của mẫu.
- Dùng dung dịch Sheath 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: khoảng 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

- Kiểm tra đối chiếu mã xét nghiệm trên ống mẫu và ống nhựa chạy máy.
- Thêm kháng thể vào ống nhựa xanh chạy máy với thể tích như sau cho mỗi mẫu:
  + Thêm 10 µl 7-AAD.
  + Thêm 10 µl kháng thể kháng CD73.
  + Thêm 10 µl kháng thể kháng CD90.
  + Thêm 10 µl kháng thể kháng CD105.
  + Thêm 10 µl kháng thể kháng CD45.
- Hút 100µl mẫu đã pha loãng vào ống nhựa chạy máy trên.
- Ủ hỗn hợp trong 20 phút, điều kiện tối, nhiệt độ phòng.

4.1.2. Phá hồng cầu

- Thêm 2ml dung dịch NH_4Cl Lysing phá hồng cầu vào hỗn hợp đã ủ vào ống nhựa chạy máy.

Tiếp tục ủ trong 10 phút, điều kiện tối ở nhiệt độ phòng.

4.1.3. Trộn hạt bead và chạy mẫu trên máy flow

- Lấy mẫu đã phá hồng cầu, thêm 100µl hạt bead vào ống nhựa chạy máy, trộn đều.
- Đặt ống vào đúng vị trí trong máy Flow cytometry.
- Chọn chương trình chạy phù hợp trên máy tính.
- Chạy máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Tính toán số lượng tế bào (SLTB) MSC:

$$\text{Số tế bào MSC (tb/µl)} = \frac{\text{(Số hạt tế bào MSC) x CAL Factor}}{\text{Số hạt bead}}$$

- Nhận định kết quả:

SLTB MSC tổng = Số tế bào MSC x Số lần pha loãng

$$\text{SLTB MSC trong túi sản phẩm} = \frac{\text{SLTB MSC x Thể tích túi sản phẩm}}{1000}$$

SLTB MSC sống = Số tế bào MSC tổng x tỷ lệ tế bào MSC sống

$$\text{SLTB MSC sống trong túi sản phẩm} = \frac{\text{SLTB MSC sống x Thể tích túi sản phẩm}}{1000}$$

$$\text{Liều tế bào MSC sống/kg} = \frac{\text{SLTB MSC sống trong túi sản phẩm}}{\text{Cân nặng người bệnh}}$$

Đơn vị tính: SLTB MSC: *tế bào/µl*

SLTB MSC trong túi sản phẩm: *10^6 tế bào*

Thể tích túi sản phẩm: *ml*

Liều tế bào MSC: *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	Hiệu chỉnh pipet

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
			cầu trên máy tự động	
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
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 CD45+ chênh lệch nhiều so với số đếm bạch cầu trên máy tự động	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 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 chuẩn máy đạt yêu cầu.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tham khảo từ hãng.

Shalini Vellasamy, Pratheep Sandrasaigaran, Sharmili Vidyadaran, Elizabeth George, Rajesh Ramasamy (2012). Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells derived from human placenta tissue. *World J Stem Cells* 4(6): p53-61.

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.

23. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG HLA VỚI KHÁNG NGUYÊN ĐƠN (SINGLE ANTIGEN) BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định danh tính đặc hiệu kháng thể kháng HLA trong máu người bệnh với các đơn kháng nguyên 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 phủ một loại kháng nguyên) nhằm 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 (đọc và duyệt kết quả).
- 01 Kỹ thuật y trung cấp trở lên (thực hiện kỹ thuật).

2.2. Vật tư

2.2.1. Hóa chất, thuốc thử

- Hóa chất định danh kháng thể kháng HLA đơn kháng nguyên class I, class II:
  + Huyết thanh chứng âm, chứng dương.
  + Hạt bead gắn đơn 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.

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.
- Tủ lạnh -86°C bảo quản 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

- 0,5 ml huyết thanh/huyết tương của người bệnh.
- Đối chiếu thông tin về người bệnh trên ống đựng mẫu và giấy chỉ định.
- Bật máy tính, máy Luminex.
- 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 20µl dung dịch rửa vào mỗi giếng.
+ Vortex ống hạt bead trong 1 phút.
+ Thêm 20µl hạt bead vào mỗi giếng tương ứng.
+ Chuẩn bị chất màu 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: khoảng 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 10µl 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 vào 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 chuẩn bị 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 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 hạt chứng nằm 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.

- Đọc kết quả: Dựa trên mức tin hiệu "raw value" và màu sắc của biểu đồ, màu đỏ là dương tính còn màu xanh là 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

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
			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
Dương tính	Dương tính mạnh hơn		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 can thiệp thủ thuật loại bỏ kháng thể trong cơ thể Thời gian xét nghiệm cách nhau ≥ 6 tháng mà không	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		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.

24. XÉT NGHIỆM HÒA HỢP CHÉO (CROSS-MATCH) TẾ BÀO LYMPHO BẰNG KỸ THUẬT LUMINEX

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Phát hiện kháng thể kháng HLA 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 Luminex. Sự kết hợp kháng nguyên-kháng thể được nhận biết bằng chất màu huỳnh quang.

1.2. Nguyên lý

Dựa vào phản ứng kháng nguyên kháng thể. Tế bào lympho của người hiến được phân lập và ly giải. Sau đó, ủ huyết thanh của người bệnh với hạt bead phủ kháng nguyên tế bào lympho người hiến, dùng kháng thể gắn chất màu huỳnh quang để phát hiện phản ứng trên hệ thống Luminex.

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. Hóa chất:

- Hóa chất xét nghiệm Lympho Crossmatch bằng kỹ thuật Luminex:
  + Lympho chứng, đệm ly giải tế bào lympho.
  + Hạt bead.
  + Hóa chất liên kết huỳnh quang.
  + Huyết thanh chứng âm, chứng dương.
  + Môi trường nuôi cấy tế bào RPMI.
- Dung dịch Ficoll.
- Dung dịch Lysing phá hồng cầu.
- Hóa chất chuẩn máy.
- Dung dịch sheath chạy máy.
- Cồn 70°.
- Nước khử ion.
- Hoá chất khử trùng.

2.2.2. Vật tư:

- Bộ micropipet các loại.
- Đầu côn có màng lọc các loại.
- Ống xét nghiệm chuyên dùng 1,5ml.
- Khay 96 giếng có nắp đậy.
- Khay nhựa đựng ống nghiệm chuyên dùng 1,5ml.
- Pipet nhựa.
- Ống nhựa 5ml vô trùng.
- 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 lạnh bảo quản mẫu.
- Tủ lạnh bảo quản sinh phẩm hóa chất.
- Tủ lạnh -86°C bảo quản hóa chất.
- Tủ an toàn sinh học.
- 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:

- 2ml máu không có chất chống đông từ người bệnh.
- 2ml máu có chất chống đông EDTA từ người hiến.
- Bật máy tính, máy Luminex.
- Chuẩn bị ly giải tế bào lympho người hiến và lympho chứng.

2.4.1. Làm ẩm mẫu tế bào lympho chứng

- Cho 500µl RPMI vào ống chứa 1 viên lympho chứng khô.
- Để ống ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ.
- Dùng pipet trộn đều cho đến khi đám tế bào tan hết trong dung dịch.
- Ly tâm hỗn hợp 1500 vòng/phút trong 5 phút.
- Bỏ dung dịch nổi, lấy phần cặn tế bào.

2.4.2. Chuẩn bị chất ly giải từ tế bào lympho chứng

- Chuẩn bị 500µl dung dịch đệm ly giải lympho.
- Thêm 500µl đệm ly giải lympho vào ống chứa phần cặn tế bào đã được làm ẩm ở bước trên.
- Trộn đều và vortex hỗn hợp cho đến khi ly giải hoàn toàn cặn tế bào.
- Ly tâm hỗn hợp 1500 vòng/phút trong 5 phút để phần màng tế bào lắng xuống.
- Thu phần dịch nổi (chất ly giải từ tế bào lympho).
- Bảo quản phần chất ly giải từ tế bào lympho chứng:

+ Nếu sử dụng ngay thì lưu ở 2-8°C không quá 4 giờ.

+ Nếu lưu: chia nhỏ mẫu vào các ống chuyên dụng 1,5ml và bảo quản ở -80°C trong 2 năm. Khi cần dùng, tiến hành vortex rồi ly tâm ống ở 12.000 vòng/phút trong 5 phút, hút lấy dịch nổi, bỏ cặn.

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 xét nghiệm: khoảng 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Khoa/ phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

3.1 An toàn thực hành

- Mặc áo bảo hộ 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. Chuẩn bị ly giải tế bào lympho người hiến

a. Phân lập tế bào lympho của người hiến

- Ly tâm ống máu chống đông EDTA từ người hiến 3000 vòng/phút trong 5 phút hoặc để lắng trong vòng 1 giờ.
- Hút 1.5ml Ficoll vào ống thủy tinh.
- Hút 200µl buffy coat từ ống mẫu máu EDTA của người hiến thả từ từ vào ống 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 khác.
- Bổ sung 2ml dung dịch sheath, vortex, sau đó ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút, bỏ dịch nổi, thu cặn (thực hiện bước này 2 lần).
- Phá hồng cầu trong cặn bằng cách thêm 2ml dung dịch lysing phá hồng cầu, ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút, đổ bỏ dịch nổi, thu cặn (nếu cần).
- Rửa tế bào 3 lần:

+ Thêm 50µl RPMI, trộn nhẹ nhàng.

+ Ly tâm 2000 vòng/phút trong 5 phút, hút bỏ dịch nổi, thu cặn tế bào.

+ Thực hiện bước này 3 lần.

b. Chuẩn bị chất ly giải từ tế bào lympho người hiến

- Chuẩn bị 50µl dung dịch đệm ly giải lympho.

- Trộn đều cặn và 50µl đệm ly giải lympho và vortex kỹ hỗn hợp để ly giải hoàn toàn tế bào.

- Ly tâm hỗn hợp 3000 vòng/phút trong 5 phút để phần màng tế bào lắng xuống.

- Thu phần dịch nổi vào ống ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml.

- Bảo quản phần chất ly giải từ tế bào lympho người hiến:

+ Nếu sử dụng ngay thì lưu ở 2-8°C không quá 4 giờ..

+ Nếu lưu: chia nhỏ chất ly giải thành 2 ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml, mỗi ống 20 µl và bảo quản ở -80°C trong 2 năm. Khi dùng, vortex rồi ly tâm ở 12.000 vòng/phút trong 5 phút, hút lấy dịch nổi, bỏ cặn.

4.1.2. Ủ hạt bead với chất ly giải từ tế bào lympho người hiến

- Đưa dung dịch đệm và dung dịch pha loãng mẫu về nhiệt độ phòng.

- Ly tâm 1 ống đã chia chứa 20µl chất ly giải từ tế bào lympho ở bước 1 với tốc độ 12.000 vòng/phút trong 5 phút. Thu dịch nổi, bỏ cặn.

- Vortex ống đựng hạt bead trong 1 phút.

- Sử dụng sơ đồ 1 để tạo các giếng tương ứng với các vị trí dự kiến.

- Thêm mỗi loại chất ly giải và hạt bead vào ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml, mỗi giếng cần 8µl chất ly giải từ tế bào lympho và 5µl hạt bead. Vortex nhanh.

- Ủ hỗn hợp chất ly giải tế bào và hạt bead trong 30 phút ở điều kiện tránh ánh sáng, nhiệt độ phòng, vortex đều mỗi 10 phút.

Sơ đồ 1. Các giếng cho mẫu xét nghiệm và mẫu chứng

** Lưu ý: Đối với trường hợp chạy nhiều mẫu xét nghiệm cùng lúc, 3 giếng có lympho chứng chỉ cần làm 1 lần, còn tổ hợp 02 giếng có lympho người hiến sẽ lặp lại tương ứng với số cặp người bệnh – người hiến.*

4.1.3. Ủ mẫu với huyết thanh người bệnh

- Chuẩn bị huyết thanh người bệnh: Ly tâm tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút ống máu không có chất chống đông của người bệnh, chuyển 300-500µl huyết thanh vào ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml.

- Ly tâm ống nghiệm chuyên dụng 1,5ml chứa huyết thanh người bệnh đã tách ở 12.000 vòng/phút trong 5 phút.

- Pha hóa chất chứng ly giải bằng dung dịch pha loãng mẫu (tránh ánh sáng).

- Chuẩn bị làm ẩm giếng trên khay 96 giếng: Thêm 100-300µl nước cất vào các giếng xét nghiệm, để 2-5 phút sau đó hút bằng máy hút chân không.

- Sau 30 phút ủ hỗn hợp hạt bead/chất ly giải ở bước 2, bổ sung thêm 42µl dung dịch đệm. Vortex 30 giây để trộn đều.

- Chuyển 55µl mỗi dung dịch hạt bead/chất ly giải/dung dịch đệm vào các giếng chạy mẫu đã dự kiến theo đúng sơ đồ 1.

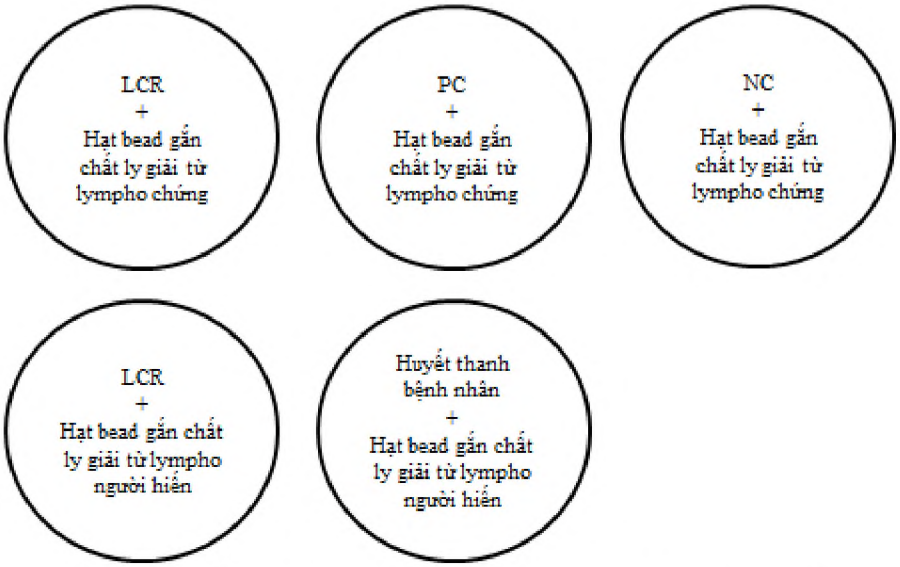
- Thêm 100µl dung dịch đệm vào mỗi giếng, trộn đều bằng pipet, hút chân không để loại bỏ dịch thừa.

- Thêm 250µl dung dịch đệm vào mỗi giếng, hút chân không (Thực hiện bước này 3 lần).

- Thêm 50µl hóa chất chứng ly giải vào giếng dự kiến theo sơ đồ 2.

- Thêm 38µl dung dịch pha loãng mẫu vào mỗi giếng xét nghiệm, thêm 12µl huyết thanh hoặc huyết thanh chứng vào giếng theo sơ đồ 2.

- Ủ mẫu trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, điều kiện tránh ánh sáng, lắc liên tục.



Sơ đồ 2. Vị trí các giếng để ủ loại huyết thanh hoặc hóa chất chứng

** Lưu ý: Đối với trường hợp chạy nhiều mẫu xét nghiệm cùng lúc, 3 giếng có lympho chứng chỉ cần làm 1 lần, còn tổ hợp 02 giếng có lympho người hiến sẽ lặp lại tương ứng với số cặp người bệnh – người hiến.*

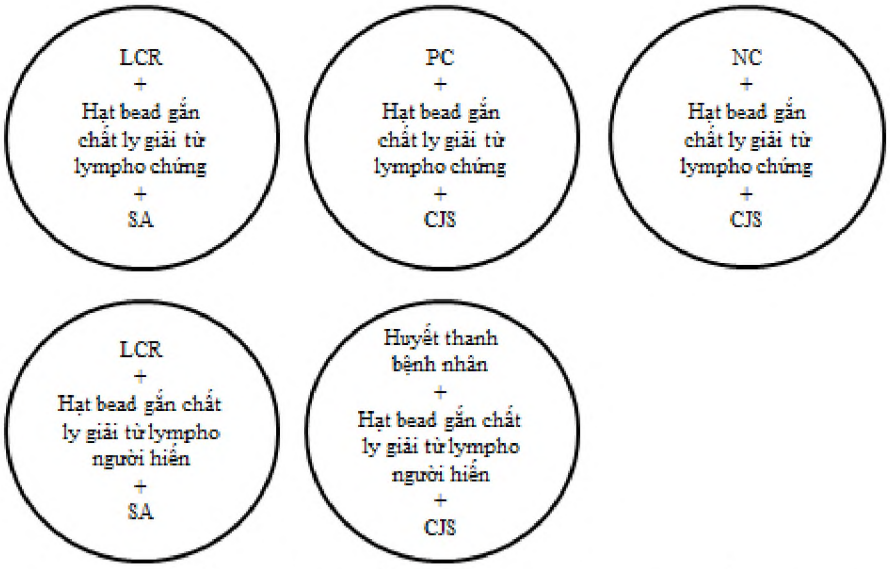
4.1.4. Ủ mẫu với chất màu huỳnh quang

- Chuẩn bị chất huỳnh quang với dung dịch đệm cho mỗi giếng cần xét nghiệm (tránh ánh sáng).

- Sau 30 phút ủ, thêm 100µl dung dịch đệm vào mỗi giếng, hút pipet lên xuống để trộn đều, hút chân không để loại bỏ dịch thừa.

- Thêm 250µl dung dịch đệm vào mỗi giếng, hút chân không, lặp lại 3 lần.

- Thêm 50µl chất màu huỳnh quang vào giếng có hóa chất chứng ly giải theo sơ đồ 3.
- Ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng điều kiện tránh ánh sáng, lắc liên tục.
- Sau 30 phút ủ, nhẹ nhàng bỏ lớp dán trên mặt phiến chạy.
- Thêm 100µl dung dịch đệm vào mỗi giếng, hút pipet lên xuống để trộn đều.



Sơ đồ 3. Các giếng chạy mẫu bổ sung các hóa chất tương ứng

** Lưu ý: Đối với trường hợp chạy nhiều mẫu xét nghiệm cùng lúc, 3 giếng có lympho chứng chỉ cần làm 1 lần, còn tổ hợp 02 giếng có lympho người hiến sẽ lặp lại tương ứng với số cặp người bệnh – người hiến.*

4.1.5. Chạy máy Luminex

- Thiết lập chương trình chạy máy, chọn lot hóa chất đang sử dụng.
- Chuyển phiến nhựa chạy mẫu vào máy.
- Chạy máy.

4.2. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả đã xuất đạt yêu cầu, bao gồm:

+ Hóa chất chứng ly giải chứa kháng thể Anti HLA Class I và II ủ với mẫu hạt bead gắn với tế bào lympho chứng và tế bào lympho người hiến cho kết quả dương tính với MFI ≥ 10000.

+ Mẫu chứng dương cho kết quả dương tính, mẫu chứng âm cho kết quả âm tính.

+ Đọc kết quả: dựa trên kết quả phần mềm cung cấp là "Negative"- tức là âm tính và "Positive" tức là dương tính.

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, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin
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 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 hoá chất 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

- Hướng dẫn tham khảo từ hãng.

25. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE

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 phản ứng ngưng kết trên giếng bằng máy tự động giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan so với kĩ thuật thủ công, thuận lợi khi xét nghiệm đồng thời nhiều mẫu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Nếu có phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể của hệ ABO, 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.

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.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch đệm.
- 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 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: khoảng 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. 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 tấm ống máu 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	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 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

Hướng dẫn sử dụng máy định nhóm máu tự động trên microplate của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

26. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối hồng cầu tại phòng xét nghiệm dựa trên phát hiện ngưng kết trên giếng bằng máy, giúp tăng độ nhạy, độ chính xác và khách quan, 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. 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. Nếu có phản ứng ngưng kết, các đám ngưng kết sẽ tập trung thành đám lớn ở 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.

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.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch đệm.
- 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.
- Ống không chống đông.
- 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 từ đơn vị khối hồng cầu.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 0,5 - 1 ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.
+ Trên ống mẫu 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: khoảng 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. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị khối hồng cầu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 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.
- Ly tâm ống máu để hồng cầu lắng xuống đáy.

4.1.2. Thực hiện xét nghiệm

- 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	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

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 máy định nhóm máu tự động trên microplate của một số hãng.

- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

27. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối hồng cầu tại phòng xét nghiệm dựa trên quan sát ngưng kết qua 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 của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết cột gel. 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. 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. Trường hợp có nhiều quần thể hồng cầu khác nhau về nhóm máu cũng có thể được phát hiện.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

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.
- 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.
- 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 từ đơn vị khối hồng cầu.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ 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: khoảng 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. Xử lý mẫu bệnh phẩm

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị khối hồng cầu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 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.
- Ly tâm ống máu để hồng cầu lắng xuống đáy.

4.1.2. 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 máy bán tự động

- Pha hồng cầu 1% bằng dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Ghi nhãn anti-A, anti-B, anti-AB dưới các cột gel và thông tin của đơn vị khối hồng cầu lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ lần lượt 50µl hồng cầu 1% vào các cột gel.
- Thêm 25 µl 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
A	+	0	+
B	0	+	+
AB	+	+	+
O	0	0	0

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.

28. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI HỒNG CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị khối hồng cầu tại phòng xét nghiệm dựa trên đọc ngưng kết thủ công 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.

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. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mặt thường và/hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

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.
- 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.

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 từ đơn vị khối hồng cầu.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ 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: khoảng 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

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị khối hồng cầu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 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.
- Ly tâm ống máu để hồng cầu lắng xuống đáy.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Chuẩn bị 3 ống nghiệm ghi nhãn anti-A, anti-B và anti-AB, thông tin đơn vị khối hồng cầu.
- Nhỏ 1 giọt huyết thanh mẫu vào các ống nghiệm đã ghi nhãn tương ứng.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% đã pha vào 3 ống nghiệm trên.
- Ly tâm các ống nghiệm trên.

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
A	+	0	+
B	0	+	+
AB	+	+	+
O	0	0	0

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.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

29. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI TIỂU CẦU HOẶC HUYẾT TƯƠNG HOẶC TỦA LẠNH BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO của đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh tại phòng xét nghiệm dựa trên đọc ngưng kết thủ công 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.

Sử dụng hồng cầu mẫu đã biết trước kháng nguyên trên bề mặt là hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A, kháng thể chống B trong huyết tương bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mặt thường hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

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 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.

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: Mẫu huyết tương từ đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 0,5 - 1 ml.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị chế phẩm 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: khoảng 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

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị chế phẩm máu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị chế phẩm máu hoặc dán barcode đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.
- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị chế phẩm máu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống máu để fibrin lắng xuống đáy.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Chuẩn bị 3 ống nghiệm ghi nhãn hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O và thông tin của đơn vị chế phẩm máu.
- Nhỏ 1 giọt hồng cầu mẫu vào mỗi ống nghiệm đã ghi nhãn tương ứng.
- Nhỏ 2 giọt huyết tương từ đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh vào 3 ống nghiệm trên.
- Ly tâm các ống nghiệm trên.
- 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	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	0	+	0
B	+	0	0
AB	0	0	0
O	+	+	0

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 hồng cầu mẫu của một số hãng.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

30. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI TIỂU CẦU HOẶC HUYẾT TƯƠNG HOẶC TỦA LẠNH BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO của đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh tại phòng xét nghiệm dựa trên phát hiện ngưng kết bằng máy 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 của xét nghiệm: phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể. Sử dụng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên là hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A, kháng thể chống B trong huyết tương bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể của hệ ABO, các đám ngưng kết sẽ tập trung thành đám lớn 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.

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

- Hồng cầu mẫu.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch đệm.
- 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.

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: Mẫu huyết tương từ đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 0,5 - 1 ml.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị chế phẩm 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: khoảng 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

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị chế phẩm máu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị chế phẩm máu hoặc dán barcode đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.

- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị chế phẩm máu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống máu để fibrin lắng xuống đáy.

4.1.2. Bước 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	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	0	+	0
B	+	0	0
AB	0	0	0
O	+	+	0

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 máy định nhóm máu tự động trên microplate của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

31. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ KHỐI TIỂU CẦU HOẶC HUYẾT TƯƠNG HOẶC TỦA LẠNH BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO của đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh tại phòng xét nghiệm dựa trên nguyên lý ngưng kết cột gel giúp tăng độ nhạy, đọ chính xác và khách quan của 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 cột gel. Sử dụng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên là hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A, kháng thể chống B trong huyết tương bằng phản ứng ngưng kết. 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.

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.
- 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.

- 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: Mẫu huyết tương từ đơn vị khối tiểu cầu hoặc huyết tương hoặc tủa lạnh.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 0,5 - 1 ml.

+ Trên ống mẫu có ghi mã đơn vị chế phẩm máu hoặc dán barcode nhận dạng đơn vị chế phẩm 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: khoảng 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

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị chế phẩm máu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị chế phẩm máu hoặc dán barcode đơn vị chế phẩm máu lên ống nghiệm.
- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị chế phẩm máu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống máu để fibrin lắng xuống đáy.

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.
- Ghi tên hồng cầu mẫu và thông tin của đơn vị chế phẩm máu lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50 µl hồng cầu mẫu 1% vào các cột gel đã ghi nhãn tương ứng.
- Thêm 25 µl huyết tương của đơn vị chế phẩm máu.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- Ly tâm tấm gelcard bằng máy 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 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	Hồng cầu mẫu A	Hồng cầu mẫu B	Hồng cầu mẫu O
A	0	+	0
B	+	0	0
AB	0	0	0
O	+	+	0

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.

32. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC KHỐI BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT ỐNG NGHIỆM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu tại phòng xét nghiệm dựa trên đọc ngưng kết thủ công 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.

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 và sử dụng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên là hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A, kháng thể chống B trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết. Hiện tượng ngưng kết được quan sát bằng mặt thường và/hoặc dưới kính hiển vi.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- 01 Bác sĩ/ Kỹ thuật y.

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.

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 từ đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 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

- Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu hoặc dán barcode đơn vị khối hồng cầu lên ống nghiệm.
- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Pha hồng cầu của đơn vị chế phẩm máu 5% bằng dung dịch nước muối sinh lý.
- Chuẩn bị 6 ống nghiệm ghi nhãn anti-A, anti-B, anti-AB, hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O và thông tin đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu lên ống nghiệm.
- Nhỏ vào mỗi ống nghiệm 1 giọt sinh phẩm tương ứng với thông tin trên nhãn.

- Nhỏ 2 giọt huyết tương từ đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu vào các ống nghiệm đã nhỏ hồng cầu mẫu.

- Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% đã pha vào các ống nghiệm đã nhỏ huyết thanh mẫu.

- Ly tâm các ống nghiệm trên.

- 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	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

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.

33. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC KHỐI BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu tại phòng xét nghiệm dựa trên phát hiện ngưng kết bằng máy 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 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 của kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu và sử dụng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên là hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A, kháng thể chống B trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên – kháng thể, các đám ngưng kết sẽ tập trung thành đám lớn 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.

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.
- Dung dịch pha loãng hồng cầu.
- Dung dịch đệm.
- 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.

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 từ đơn vị khối hồng cầu.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

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

- 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 và đối chiếu các thông tin trên đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị máu toàn phần/khối bạch 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.

- Ly tâm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 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	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

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 máy định nhóm máu tự động trên microplate.

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

34. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO CHO ĐƠN VỊ MÁU TOÀN PHẦN HOẶC KHỐI BẠCH CẦU BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định nhóm máu hệ ABO cho đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu tại phòng xét nghiệm dựa trên 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 của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết cột gel. 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 và sử dụng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên là hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B, hồng cầu mẫu O để xác định sự có mặt của kháng thể chống A, kháng thể chống B trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết. Nếu có phản ứng 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 phản ứng 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.

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
- Hồng cầu mẫu.
- Huyết thanh 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 pha loãng hồng cầu.

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 từ đơn vị khối hồng cầu.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ Thể tích 1-2 ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống mẫu có thông tin nhận dạng đơn vị máu toàn phần hoặc khối bạch cầu.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

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

- 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 và đối chiếu các thông tin trên đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu với phiếu chỉ định truyền chế phẩm máu cho người bệnh.
- Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô, ghi mã đơn vị máu toàn phần/ khối bạch cầu hoặc dán barcode đơn vị khối hồng cầu lên ống nghiệm.
- Lấy 1-2 đoạn dây từ đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu và cắt máu từ đoạn dây vào ống nghiệm trên.
- Ly tâm ống máu để tách 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 của đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu 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 của đơn vị máu toàn phần/ khối bạch cầu 1% vào các cột gel đã ghi nhãn anti-A, anti-B và anti-AB.
- Nhỏ 25µl huyết tương của đơn vị máu toàn phần/khối bạch cầu vào các cột gel đã nhỏ hồng cầu mẫu A, hồng cầu mẫu B và hồng cầu mẫu O.
- 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

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.

35. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT MICROPLATE

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 phản ứng ngưng kết trên giếng bằng máy tự động giúp tăng độ nhạy, độ chính xác, độ khách quan so với kỹ thuật thủ công và thuận lợi khi xét nghiệm đồng thời nhiều mẫu.

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. 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, độ nhạy 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

a) Dụng cụ

- Thanh xếp mẫu,
- Pipetman.
- Hộp đựng đầu côn.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bút ghi nhãn.
- Khay đựng dụng cụ.
- Giá cắm ống nghiệm…

b) Hóa chất, thuốc thử

- 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.

c) 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:

+ Thể tích 1-2ml, mẫu máu không bị đông dây, không bị tan máu.

+ Trên ống có đầy đủ thông tin đinh 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: khoảng 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. 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 tấm ống máu để tách huyết tương.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- 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 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

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.
- Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

36. SÀNG LỌC KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU BẰNG KỸ THUẬT ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Phát hiện kháng thể kháng tiểu cầu IgG trong huyết tương/ huyết thanh của người bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Huyết tương hoặc huyết thanh của người bệnh được ủ trong thời gian ngắn trong giếng đã gắn tiểu cầu để nếu có mặt kháng thể, kháng thể sẽ gắn lên lớp đơn tiểu cầu. Các globulin miễn dịch không gắn lên tiểu cầu trong giếng được rửa sạch và thêm vào đó hồng cầu chỉ thị đã cảm nhiễm anti-IgG. Ly tâm để cho các hồng cầu chỉ thị tiếp xúc với các kháng thể đã gắn với các tiểu cầu cố định. Trong trường hợp xét nghiệm dương tính, sự di chuyển của các hồng cầu chỉ thị xuống đáy giếng bị cản trở bởi cầu nối anti-IgG được hình thành giữa các hồng cầu chỉ thị và kháng thể kháng tiểu cầu đã gắn lên tiểu cầu từ trước. Với sự bắc cầu như vậy, các hồng cầu chỉ thị sẽ dính với tiểu cầu cố định. Trong trường hợp xét nghiệm âm tính, không có tương tác kháng nguyên-kháng thể tiểu cầu, 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 như là nút hồng 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

- 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.
- Dung dịch rửa.

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 tự động hoặc hệ thống máy bán tự động: 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.

+ Hoặc 01 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ 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 dạng bệnh phẩm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 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, 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/ 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 máy bán tự động

- Lấy giếng xét nghiệm ra khỏi túi bảo quản.
- Nhỏ 2 giọt dung dịch đệm LISS (100 ± 10 uL) vào tất cả các giếng.
- Nhỏ 1 giọt chứng dương vào giếng đã thiết kế. Thêm 1 giọt chứng âm vào giếng đã thiết kế. Cả hai giếng này đều chứa tiểu cầu pool.
- Thêm 1 giọt huyết tương hoặc huyết thanh của người bệnh vào giếng xét nghiệm đã gắn tiểu cầu.
- Khuấy đều các hàng để trộn huyết thanh và dung dịch đệm LISS bằng cách nhẹ nhàng chạm vào các cạnh của hàng liên tục.
- Ủ các hàng ở 37°C trong 30-60 phút.
- Rửa tiểu cầu trong các giếng bằng máy rửa chuyên dụng để loại bỏ các globulin miễn dịch thừa.
- 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: Huyết tương/ huyết thanh người bệnh có kháng thể kháng tiểu cầu. Cần làm thêm xét nghiệm định danh kháng thể kháng tiểu cầu để xác định tên kháng thể kháng tiểu cầu lưu hành trong huyết tương/ huyết thanh người bệnh.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Huyết tương/ huyết thanh người bệnh có kháng thể kháng tiểu 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 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

Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của một số hãng.

37. ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU BẰNG KỸ THUẬT ELISA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xác định tên kháng thể kháng tiểu cầu có trong huyết thanh/huyết tương của người bệnh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể (KT) kháng tiểu cầu trong huyết thanh/huyết tương của người bệnh có bản chất là IgG, khi gặp kháng nguyên (KN) tương ứng trên bề mặt của tiểu cầu sẽ tạo ra liên kết KN-KT. Sử dụng KT đơn dòng đặc hiệu cố định KN tiểu cầu (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigen – MAIPA) và thực hiện kỹ thuật ELISA (dùng kháng kháng thể gắn enzym) có thể phát hiện được liên kết trên.

Dùng các tiểu cầu nhóm máu O đã xác định KN (HPA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -15) cho tiếp xúc với huyết thanh/huyết tương của người bệnh ở điều kiện phù hợp, dựa vào kết quả của phản ứng KN-KT có thể xác định được tên của KT kháng 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

- 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

- Bộ kít tiểu cầu định danh.
- Bộ kít huyết thanh chứng (CONTR 1a, CONTR 5b, CONTR HLA, CONTR NEG).
- Bộ kít MAIPA (microplate, các kháng thể đơn dòng - Mab, dung dịch rửa tế bào, dung dịch ly giải tiểu cầu,...).
- Bộ kít ELISA (microplate phủ kháng kháng thể, kháng kháng thể dê, dung dịch rửa ELISA, CHROM, STOPSOL,...).
- Nước cất.

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Microplate.
- Đầu côn các loại.
- Ống và lọ pha loãng thuốc thử.
- Bể chứa thuốc thử.

- Giấy thấm.
- Ống nghiệm polypropylene hoặc polyethylene.
- 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 trộn vortex
- Máy lắc microplate
- Đầu đọc vi bản để đo mật độ quang ở bước sóng 450 nm với bộ lọc tham chiếu 600-650 nm
- Máy ly tâm microplate
- Tủ ấm 37°C.
- Tủ lạnh ở 2 – 8°C

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm của người bệnh: máu tĩnh mạch

+ 1 ống chống đông EDTA hoặc 1 ống không có chất chống đông.

- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

+ 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 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: khoảng 24 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 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/ huyết thanh.

4.1.2. Bước 2. Thực hiện xét nghiệm

- Giai đoạn 1: Pha dung dịch rửa

+ Pha loãng đệm rửa tế bào (1/10) bằng nước cất, bảo quản ở nhiệt độ phòng.

+ Pha loãng đệm rửa ELISA (1/20) bằng nước cất, bảo quản ở nhiệt độ phòng.

- Giai đoạn 2: Chuẩn bị tiểu cầu

+ Lấy microplate trong bộ kít ra khỏi hộp, đặt vào một giá trống để làm xét nghiệm.

+ Nhỏ 50 µl tiểu cầu sàng lọc (tiểu cầu nhóm máu O, pool của 6-12 người hiến đã xác định kháng nguyên) vào mỗi giếng từ C1 đến F1 (4 giếng) để làm mẫu chứng.

+ Các giếng kế bên được sử dụng để làm mẫu người bệnh. Nhỏ lần lượt vào mỗi giếng (mỗi người bệnh cần 6 giếng, theo chiều từ A đến F) 50 µl tiểu cầu định danh theo bộ kít (tiểu cầu nhóm máu O từ 1 người hiến đã xác định kháng nguyên HPA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -15).

+ Ly tâm microplate với tốc độ 1000G/phút x 3 phút cho tiểu cầu lắng xuống đáy giếng, sau đó lật ngược microplate để loại bỏ dịch nổi (chú ý thao tác để giữ được tiểu cầu ở đáy giếng).

+ Trộn tiểu cầu bằng máy lắc: lắc microplate với tốc độ 700-1000 vòng/phút trong 10 giây theo 1 chiều, sau đó lắc theo chiều ngược lại với cùng tốc độ và thời gian trên.

+ Thêm 200 µl đệm rửa tế bào vào mỗi giếng trên, ly tâm với tốc độ 1000G/phút x 3 phút cho tiểu cầu lắng xuống đáy giếng.

+ Lật ngược microplate để loại bỏ dịch nổi, sau đó trộn tiểu cầu trong giếng theo hướng dẫn ở trên.

+ Tiếp tục thêm 200 µl đệm rửa tế bào vào mỗi giếng và thực hiện thao tác rửa tiểu cầu.

- Giai đoạn 3: Bổ sung huyết thanh/huyết tương

+ Nhỏ 50µl huyết thanh chứng vào các giếng tương ứng:

✓ Giếng C1: CONTR 1a (anti-HPA-1a)
✓ Giếng D1: CONTR 5b (anti-HPA-5b)
✓ Giếng E1: CONTR HLA (anti-HLA)
✓ Giếng F1: CONTR NEG (Negative)

+ Nhỏ 50µl huyết thanh/huyết tương của người bệnh vào 6 giếng đã có tiểu cầu định danh.

+ Trộn nhẹ bằng máy lắc theo hướng dẫn ở trên.

+ Ủ 37^0C trong thời gian 30 phút.

+ Ly tâm 1000G/phút x 3 phút, lật ngược plate để loại bỏ dịch nổi.

+ Trộn tiểu cầu trong giếng bằng máy lắc theo hướng dẫn ở trên.

- Giai đoạn 4: Loại bỏ kháng thể không tham gia phản ứng

+ Thêm 200 µl đệm rửa tế bào vào mỗi giếng trên, ly tâm với tốc độ 1000G/phút x 3 phút cho tiểu cầu lắng xuống đáy giếng.

+ Lật ngược microplate để loại bỏ dịch nổi, sau đó trộn tiểu cầu trong giếng theo hướng dẫn ở trên.

+ Tiếp tục thêm 200 µl đệm rửa tế bào vào mỗi giếng và thực hiện thao tác rửa tiểu cầu.

- Giai đoạn 5: Bổ sung kháng thể đơn dòng (Mab-lấy từ chuột)

+ Nhỏ 50 µl kháng thể đơn dòng tương ứng vào các giếng chứng tương ứng:

✓ Giếng C1: anti - GpIIbIIIa
✓ Giếng D1: anti – GpIaIIa
✓ Giếng E1: anti – HLA/β2 microglobulin
✓ Giếng F1: anti – GpIbIX

+ Nhỏ 50 µl kháng thể đơn dòng (loại dẫn đến kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể kháng tiểu cầu dương tính) vào mỗi giếng xét nghiệm mẫu của người bệnh (6 giếng).

+ Trộn nhẹ bằng máy lắc theo hướng dẫn ở trên.

+ Ủ 37^0C trong thời gian 30 phút.

+ Ly tâm 1000G/phút x 3 phút, lật ngược plate để loại bỏ dịch nổi.

+ Trộn tiểu cầu trong giếng bằng máy lắc theo hướng dẫn ở trên.

- Giai đoạn 6: Loại bỏ kháng thể đơn dòng không liên kết

+ Thêm 200 µl đệm rửa tế bào vào mỗi giếng trên, ly tâm với tốc độ 1000G/phút x 3 phút cho tiểu cầu lắng xuống đáy giếng.

+ Lật ngược microplate để loại bỏ dịch nổi, sau đó trộn tiểu cầu trong giếng theo hướng dẫn ở trên.

+ Tiếp tục thêm 200 µl đệm rửa tế bào vào mỗi giếng và thực hiện thao tác rửa tiểu cầu (lặp lại 3 lần).

- Giai đoạn 7: Hòa tan màng tiểu cầu

+ Thêm 130 µl dung dịch đệm ly giải tiểu cầu (Platelet lysis buffer) vào mỗi giếng. Dùng pipet hút trộn tiểu cầu và dung dịch vừa bổ sung vào giếng (thao tác này chú ý tránh lây chéo các giếng).

+ Ủ 2^0 - 8^0C trong thời gian 15 phút.

+ Ly tâm tốc độ 1000G/phút trong thời gian 15 phút.

+ Thu hồi dịch nổi (dịch ly giải).

- Giai đoạn 8: Phân tích dịch ly giải

+ Hút 100 µl dịch ly giải vào giếng tương ứng trong plate đã phủ sẵn kháng kháng thể (kháng kháng thể đơn dòng từ chuột lấy từ dê).

+ Ủ 37^0C trong thời gian 30 phút.

- Giai đoạn 9: Loại bỏ các protein lysate không liên kết

+ Làm sạch giếng bằng cách lật ngược microplate.

+ Thêm 200 µl đệm rửa ELISA vào mỗi giếng, sử dụng pipet để hút trộn.

+ Lật ngược micoplate để loại bỏ dịch nổi

+ Thực hiện lại thao tác rửa trên 5 lần.

+ Loại bỏ hoàn toàn dịch nổi sau lần rửa thứ 6.

- Giai đoạn 10: Bổ sung kháng kháng thể của dê có peroxidase (CONJ)
+ Thêm 100 µl CONJ vào mỗi giếng.
+ Ủ 37^0C trong thời gian 30 phút.
- Giai đoạn 11: Loại bỏ kháng kháng thể của dê có peroxidase không liên kết
+ Lật ngược microplate để loại bỏ dịch nổi.
+ Thêm 200 µl dung dịch rửa ELISA vào mỗi giếng, dùng pipet hút trộn.
+ Lật ngược microplate để loại bỏ dịch nổi.
+ Thực hiện lại thao tác rửa trên 5 lần.
+ Loại bỏ hoàn toàn dịch nổi sau lần rửa thứ 6.
- Giai đoạn 12: Bổ sung chất nền
+ Thêm 100 µl dung dịch TMB (CHROM) vào mỗi giếng.
+ Ủ 37^0C với thời gian 15 phút ở trong bóng tối.
- Giai đoạn 13: Dừng phản ứng
+ Thêm 100 µl dung dịch STOPSOL (acid H2SO4) vào mỗi giếng.
- Giai đoạn 14: Đọc kết quả
Đo mật độ quang ở bước sóng 450nm với bộ lọc tham chiếu 600-650nm và ghi lại kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

- Đọc kết quả:
+ Sau khi trừ trắng, OD ≥ 0,2: dương tính
+ Sau khi trừ trắng, OD < 0,2: âm tính
Dựa vào kết quả phản ứng giữa huyết thanh/huyết tương của người bệnh với các tiểu cầu định danh để phiên giải kết quả.

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, biến tính...).
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 đúng quy định.
- Hóa chất được kiểm tra chất lượng trước khi sử dụng.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Campbell K, Rishi K, Howkins G, Gilby D, Mushens R, Ghevaert C, Metcalfe P, Ouwehand WH, Lucas G. (2007), A modified rapid monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay for the detection of human platelet antigen (HPA) antibodies: a multicentre evaluation, Vox Sang, 93(4), 289-297.
- Foxcroft Z, Campbell K, Mérieux Y, Urbaniak S, Brierley M, Rigal D, Ouwehand WH, Metcalfe P. (2007), Report on the 13th International Society of Blood Transfusion Platelet Immunology Workshop, Vox Sang, 93(4), 300-305.
- Nguyen XD, Goebel M, Schober M, Klüter H, Panzer S. Transfusion (2010), The detection of platelet antibodies by simultaneous analysis of specific platelet antibodies and the monoclonal antibody-specific immobilization of platelet, Epub 2010 Apr 23, 50(7), 1429-1434.
- https://apdiagroup.com/wp-content/uploads/2020/03/IFU-900006-MAIPA-procedure-V12-2019-RUO-1.pdf

38. CHỌN MÁU HOÀ HỢP KHÁNG NGUYÊN HỒNG CẦU NGOÀI HỆ ABO, Rh(D)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Lựa chọn đơn vị máu hòa hợp kháng nguyên hồng cầu ngoài hệ ABO, Rh(D) (máu phenotype) để truyền cho người bệnh có kháng thể bất thường, cho người bệnh phải truyền máu nhiều lần trong quá trình điều trị (người bệnh thalassemia, rối loạn sinh tủy, suy tủy xương, lơ xê mi, ghép tế bào gốc …) để dự phòng sinh kháng thể bất thường.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của xét nghiệm: Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể.

Cách thức lựa chọn: Lựa chọn đơn vị máu không có kháng nguyên tương ứng với kháng thể bất thường của người bệnh hoặc đơn vị máu phù hợp với kháng nguyên ngoài hệ ABO và Rh(D) của người bệnh. Cụ thể:

- Nếu người bệnh có kháng thể bất thường: Chọn đơn vị khối hồng cầu không có kháng nguyên tương ứng với kháng thể bất thường trong huyết thanh người bệnh. Ví dụ: Nếu huyết thanh người bệnh có anti-E: Chọn đơn vị khối hồng cầu E-.

- Nếu người bệnh có kết quả xác định kháng nguyên ngoài hệ ABO: Chọn đơn vị khối hồng cầu theo các kháng nguyên âm tính. Ví dụ: Người bệnh có kiểu hình C+, E-, c-, e+, Jka-,Jkb+, Mia+: Chọn đơn vị khối hồng cầu E-, c-, Jka-.

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

- Kháng huyết thanh ngoài hệ ABO và Rh(D).
- Gelcard AHG đơn giá (gelcard có thuốc thử kháng globulin người loại anti-IgG).
- 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.
- 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 của người bệnh:

+ 01 ống chống đông EDTA.

+ 01 ống không có chất chống đông.

- 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.

- Mẫu máu từ túi chế phẩm máu của người cho: 0,5 – 1 ml, không bị tan máu hoặc đông dây.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đầy đủ thông tin theo quy định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 24 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 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 của người bệnh để tách huyết tương và huyết thanh.
- Chuẩn bị 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

Xác định các kháng nguyên âm tính theo kết quả định danh kháng thể bất thường hoặc kết quả xác định kháng nguyên ngoài hệ ABO và Rh(D) của người bệnh.

- Pha hồng cầu người cho 1%:

+ Chuẩn bị 10 ống nghiệm sạch, khô và ghi thông tin của 10 đơn vị khối hồng cầu lên ống nghiệm.

+ Nhỏ vào mỗi ống nghiệm 1000 µl dung dịch pha loãng hồng cầu.

+ Thêm vào mỗi ống nghiệm 10 µl hồng cầu khối tương ứng với thông tin trên ống nghiệm.

+ Trộn đều.

- 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 50 µl hồng cầu 1% của đơn vị khối hồng cầu đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard.
- Thêm 25 µl kháng huyết thanh tương ứng vào các giếng gelcard trên.
- Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ 37°C 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.

4.2. Nhận định kết quả

Đọc kết quả và 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: Có mặt kháng nguyên.

+ Nếu không có hiện tượng ngưng kết: Không có mặt kháng nguyên.

- Phiên giải và báo cáo kết quả:

+ Chọn được đơn vị máu hòa hợp: Khi chọn được đơn vị khối hồng cầu không có kháng nguyên tương ứng với kháng thể bất thường hoặc phù hợp với tất cả các kháng nguyên âm tính của người bệnh.

+ Không chọn được đơn vị máu hòa hợp: Khi không chọn được đơn vị khối hồng cầu không có kháng nguyên tương ứng với kháng thể bất thường hoặc một trong các kháng nguyên không phù hợp với các kháng nguyên âm tính của 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.

Trong trường hợp không chọn được đơn vị máu hòa hợp, cần thông báo ngay cho bác sĩ điều trị để bác sĩ điều trị xem xét chỉ định xét nghiệm chọn máu hòa hợp kháng nguyên hồng cầu ngoài hệ ABO, Rh(D) 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

- 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).

Denise M Harmening (2019), Modern blood banking and transfusion practices 7th Edition.

39. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D) BẰNG KỸ THUẬT NGƯNG KẾT CỘT GEL

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 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 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. 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.

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,
- Anti-D IgM hoặc anti-D IgM/ IgG.
- 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.
- 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: 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, 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: khoảng 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, bàn giao và xử lý mẫu bệnh phẩm

- 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 tương.

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 máy bán tự động

- 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 của người bệnh lên tấm gelcard, mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel.
- Nhỏ 50µl hồng cầu 1% của người bệnh vào giếng gelcard.
- Thêm 25µl anti-D vào các giếng gelcard.
- Riêng giếng control: chỉ nhỏ 50µl hồng cầu 1% của người bệnh.
- Ủ tấm gelcard trong vòng 10 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 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.

Cột gel tự chứng phải âm tính, nếu cột gel tự chứng dương tính thì kết quả 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.

40. KHÁM TUYỂN CHỌN NGƯỜI HIẾN MÁU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Lựa chọn được những người hiến máu đủ tiêu chuẩn sức khoẻ nhằm đảm bảo chất lượng đơn vị máu và an toàn truyền máu.

1.2. Định nghĩa và giải thích từ ngữ

- Đánh giá tình trạng sức khỏe tổng quát của người đăng ký hiến máu. Phát hiện và loại trừ các trường hợp có yếu tố nguy cơ lây truyền bệnh qua đường máu hoặc không đủ điều kiện hiến máu theo quy định.
- Người hiến máu: là người đủ điều kiện hiến máu theo quy định và tự nguyện hiến máu toàn phần hoặc một số thành phần máu.
- 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.
- Thông tin cá nhân người hiến máu: Họ và tên, nghề nghiệp, ngày sinh, giới tính, địa chỉ thường trú, địa chỉ liên lạc, số điện thoại, Email, số căn cước công dân (hoặc chứng minh thư, hộ chiếu, thẻ quân nhân, thẻ sinh viên,…).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Nhân lực

- Bác sỹ: 01 người
- Điều dưỡng/ kỹ thuật y: 01 người

2.2. Vật tư

- Mực in;
- Phiếu đăng ký hiến máu/ phôi phiếu đăng ký hiến máu;
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Huyết áp kế, ống nghe;
- Cân sức khoẻ;
- Máy tính;
- Máy in;
- Thiết bị đọc Bacode;
- Thiết bị phát wifi;
- Dây điện;
- Phần mềm quản lý người hiến máu;
- Thiết bị khác.

2.4. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 0,25 giờ.

2.5. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại phòng khám đủ điều kiện khám, tư vấn để đảm bảo chuyên môn và quyền bí mật riêng tư cho người hiến máu.

3. AN TOÀN

- Các cơ sở tiếp nhận máu phải quản lý thông tin người hiến máu theo đúng mẫu hồ sơ quy định.

- Thông tin cá nhân của người hiến máu phải được bảo mật và chỉ được sử dụng nhằm đảm bảo sức khỏe cho người hiến máu, đồng thời ngăn ngừa nguy cơ lây truyền bệnh cho người nhận máu.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bước 1. Người đăng ký hiến máu xuất trình giấy tờ tùy thân.

Bước 2. Tra cứu thông tin hiến máu trên phần mềm hiến máu.

Bước 3. Hướng dẫn người hiến kê khai thông tin và bảng hỏi sức khoẻ trên phiếu đăng ký hiến máu.

Bước 4. Khám lâm sàng dựa trên các tiêu chuẩn hiến máu, trì hoãn hiến máu theo quy định.

Bước 5. Kết luận

- Trường hợp đủ điều kiện hiến máu: Chỉ định thể tích máu dự kiến và hướng dẫn người hiến máu thực hiện các bước tiếp theo.
- Trường hợp không đủ điều kiện hiến máu: Giải thích lý do và thời gian trì hoãn cho người hiến máu.

5. 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.

41. XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC GIANG MAI 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 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 miễn dịch hai bước nhằm phát hiện định tính kháng thể kháng Treponema Pallidum.
- Kháng thể kháng Treponema Pallidum có trong mẫu bệnh phẩm sẽ gắn với vi hạt phủ kháng nguyên đặc hiệu của Treponema Pallidum tạo 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 trung cấp trở lên (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. 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;
- Đầu côn hút bệnh phẩm;
- Đầu côn hút hóa chất;
- Nhãn barcode;
- Mực in;
- Ống phản ứng;
- 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 xét nghiệm;
- Bộ lưu điện;
- Máy ly tâm;
- Máy tính;
- Máy in;
- Tủ lạnh 2-8°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 theo mẫu phiếu yêu cầu.

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

- 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

- 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.

42. HUY ĐỘNG NGƯỜI HIẾN MÁU ĐẶC BIỆT

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Huy động người hiến máu có nhóm máu đặc biệt như Rh(D) âm hoặc phenotype,… đến tham gia hiến máu/ thành phần máu nhằm đảm bảo cung cấp kịp thời, đầy đủ chế phẩm máu phù hợp theo nhu cầu điều trị, đồng thời quản lý hiệu quả và khai thác tối ưu nguồn người hiến máu hiếm, đáp ứng yêu cầu chuyên môn, đảm bảo an toàn truyền máu và đúng quy định hiện hành.

1.2. Định nghĩa và giải thích từ ngữ

- Huy động người hiến máu: Các cách thức liên lạc để mời người hiến máu đến tham gia hiến máu.
- Người hiến máu nhóm máu Rh(D) âm: là những người hiến máu có kết quả xét nghiệm hệ nhóm máu Rh(D) được kết luận Âm tính.
- Người hiến máu Phenotype: người hiến máu được thực hiện các xét nghiệm kháng nguyên ngoài hệ nhóm máu ABO, Rh(D) và phù hợp với kiểu hình kháng nguyên của người bệnh thì được gọi là người hiến máu hòa hợp phenotype.

1.3. Phạm vi áp dụng: các cơ sở tiếp nhận máu/ thành phần máu

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

01 cán sự.

2.2. Trang thiết bị

- Máy tính, tai nghe.
- Máy in, máy scan.
- Giấy A4, bút viết.
- Phần mềm quản lý thông tin người hiến máu.
- Tổng đài hoặc thiết bị gọi điện di động hoặc cố định.

2.3. Hồ sơ, biểu mẫu

- Phiếu yêu cầu huy động NHM nhóm máu đặc biệt.
- Kịch bản gọi điện.
- Phiếu bàn giao danh sách huy động NHM nhóm máu đặc biệt theo yêu cầu.
- Danh sách người hiến máu được huy động.

2.4. Thời gian thực hiện: ½ giờ/ 1 người hiến máu được huy động.

2.5. Địa điểm thực hiện

- Bộ phận chăm sóc khách hàng
- Các điểm tiếp nhận máu cố định, lưu động và gạn tách thành phần máu.

3. AN TOÀN

- Không huy động người chưa đủ thời gian nghỉ giữa hai lần hiến theo quy định.
- Không huy động người hiến máu có chỉ định tạm ngừng/ngừng vĩnh viễn.
- Giữ bí mật các thông tin có liên quan đến người hiến máu, người nhận máu và chế phẩm máu.
- Đảm bảo tự nguyện đối với người hiến máu được huy động, không ép buộc người hiến máu/ thành phần máu.

- Xác minh chính xác nhóm máu trước khi liên hệ huy động.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Tiếp nhận dự trù từ các khoa/phòng/đơn vị sử dụng máu/chế phẩm máu.

Bước 2: Tra cứu người hiến máu phù hợp

- Tra cứu người hiến trên phần mềm quản lý người hiến máu hoặc danh sách người hiến do đơn vị quản lý: chọn nhóm hệ ABO, Rh(D) và các kháng nguyên khác ngoài hệ nhóm máu ABO, Rh(D) phù hợp với yêu cầu của dự trù. Chọn loại hình hiến máu phù hợp.
- Chọn người hiến đủ khoảng cách thời gian giữa 2 lần hiến theo quy định.
- Loại trừ các trường hợp đang bị tạm hoãn hoặc chưa/không đủ điều kiện hiến máu.

Bước 3: Huy động người hiến máu

- Liên hệ, mời gọi người hiến;
- Nếu người hiến đồng ý: Xác nhận thời gian, địa điểm hiến, gửi tin nhắn xác nhận tới ngời hiến máu và cập nhật thông tin vào danh sách quản lý.
- Nếu người hiến từ chối: ghi nhận lý do và cập nhật vào hệ thống hoặc danh sách quản lý.

Bước 4: Bàn giao danh sách cho đơn vị phụ trách tiếp nhận máu/ thành phần máu.

4.2. Theo dõi kết quả

- Sau 3 ngày, tra cứu hoặc nhận phản hồi từ đơn vị tiếp nhận máu/ thành phần máu.
- Xác nhận tình trạng: đã hiến/không hiến/ đổi lịch/không đủ điều kiện và lý do tương ứng.
- Cập nhật tình trạng hiến máu/chưa hiến và xử lý tiếp nếu chưa đáp ứng đủ.

4.3. Tổng hợp và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu yêu cầu huy động Huy động người hiến máu có nhóm máu đặc biệt.
- Phiếu bàn giao danh sách huy động Huy động người hiến máu có nhóm máu đặc biệt theo dự trù.

5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2013), Thông tư 26/2013/TT-BYT - Hướng dẫn hoạt động truyền máu.
2. Bùi Thị Mai An (2012), *Truyền máu hòa hợp nhóm máu – Một giải pháp hữu hiệu để đảm bảo an toàn truyền máu*, Một số chuyên đề Huyết học – Truyền máu Tập IV, NXB Y học, 140 – 145.
3. Trần Ngọc Quế (2012), *Nghiên cứu kháng nguyên, kiểu hình của hệ nhóm máu Rh ở nhóm máu hiếm để xây dựng ngân hàng máu hiếm tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương*, Tạp chí Y học Việt Nam tháng 18 – Số đặc biệt/2012, 396, 493 – 498.
4. Hoàng Thị Thanh Nga (2020), *Kết quả truyền máu hòa hợp một số kháng nguyên hồng cầu ở bệnh nhân Thalassemia tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương*, Tạp chí Y học Việt Nam tập 496 – Tháng 11 – Số đặc biệt 2020, 100 – 107.

5. Nguyễn Phương Liên (2024), *Đánh giá sự đáp ứng nhu cầu truyền khối hồng cầu phenotype tại Bệnh viện Truyền máu Huyết học*, Tạp chí Y học Việt Nam tập 544 – Tháng 11 – Số đặc biệt – Quyển 2 - 2024, 64 - 72.

43. CHĂM SÓC NGƯỜI HIẾN MÁU CÓ TAI BIẾN TRONG QUÁ TRÌNH HIẾN MÁU VÀ NGƯỜI HIẾN MÁU CÓ XÉT NGHIỆM KHÔNG ĐẠT

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Chăm sóc, theo dõi sức khỏe của người tham gia hiến máu có các tai biến trong và sau hiến máu, giúp người hiến máu hồi phục sức khoẻ.

Tư vấn cho người tham gia hiến máu về các xét nghiệm có bất thường, giúp cải thiện sức khỏe cho người hiến máu và biết tự trì hoãn hiến máu nếu có các xét nghiệm không đủ điều kiện hiến máu.

1.2. Thuật ngữ

- Người hiến máu: Là người đủ điều kiện hiến máu theo quy định và tự nguyện hiến máu toàn phần hoặc một số thành phần máu.
- Tai biến trong quá trình hiến máu: Là các phản ứng không mong muốn khi tham gia hiến máu.

a) Tai biến do tổn thương khu trú:

- Tổn thương mạch máu: tụ máu, chọc vào động mạch, viêm tắc mạch máu, phình động mạch, rò động tĩnh mạch;
- Tổn thương thần kinh: Tổn thương dây thần kinh ngoại vi;
- Tổn thương khác: tổn thương gân-cơ, nhiễm trùng tại chỗ.

b) Tai biến ảnh hưởng toàn thân:

- Ngất do phản ứng cường phó giao cảm;
- Tai nạn có liên quan đến ngất do phản ứng cường phó giao cảm.

c) Các tai biến ngẫu nhiên trùng hợp: Đau thắt ngực, nhồi máu cơ tim, tai biến mạch não, hysteria.

d) Các tai biến liên quan đến gạn tách thành phần máu:

Xét nghiệm máu: là các xét nghiệm phải làm khi tham gia hiến máu, có nguyên tắc và yêu cầu kỹ thuật riêng đối với từng loại xét nghiệm theo quy định hiện hành bao gồm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Nhân lực

- 01 bác sỹ.
- 01 Điều dưỡng.

2.2. Thiết bị và dụng cụ

- Bộ dụng cụ đo huyết áp, tai nghe, thuốc cấp cứu, giường nằm.
- Phần mềm quản lý thông tin người hiến máu.
- Thiết bị nghe gọi của tổng đài hoặc thiết bị gọi điện di động hoặc cố định.

2.3. Hồ sơ, biểu mẫu

- Sổ ghi nhận các sự việc bất thường trong quá trình hiến máu.
- Sổ theo dõi và sử dụng thuốc cấp cứu.
- Sổ bàn giao và quản lý phiếu tư vấn người hiến máu.
- Phiếu tư vấn người hiến máu.

2.4. Địa điểm thực hiện

2.4.1. Khu vực tiếp nhận máu:

Khu vực cấp cứu riêng, yên tĩnh, thông thoáng, có giường nằm cho người hiến máu.

2.4.2. Khu vực tư vấn:

- Có phòng tư vấn riêng, yên tĩnh để đảm bảo tính bí mật riêng tư cho người hiến máu;
- Có đầy đủ máy tính, tai nghe có mic, phần mềm gọi tổng đài, hồ sơ.

3. AN TOÀN

- Phát hiện sớm và chăm sóc kịp thời người hiến máu có các tai biến không mong muốn xảy ra trong và sau hiến máu.
- Các cơ sở tiếp nhận máu phải quản lý thông tin người hiến máu theo đúng mẫu hồ sơ quy định.

4. QUY TRÌNH THỰC HIỆN

4.1. Tại điểm tiếp nhận máu

4.1.1. Phát hiện sớm và chăm sóc kịp thời người hiến máu có các tai biến không mong muốn xảy ra trong và sau hiến máu.

4.1.2. Ghi hồ sơ diễn biến tình trạng sức khỏe và xử trí vào "Sổ ghi nhận các sự việc bất thường trong quá trình hiến máu" và "Sổ theo dõi và sử dụng thuốc cấp cứu" nếu sử dụng thuốc hay dịch truyền.

4.1.3. Báo cáo về các tai biến xảy ra ở người hiến máu cho người phụ trách tiếp nhận máu.

4.1.4. Các trường hợp nghiêm trọng có thể ảnh hưởng đến tính mạng, có thể gây ra các di chứng, bệnh lý lâu dài phải được báo cáo theo quy định hiện hành.

4.1.5. Thông báo về tai biến đã xảy ra với người hiến máu và các biện pháp xử trí được áp dụng sau khi người hiến máu hồi phục.

4.1.6. Cung cấp cách thức liên lạc với bác sỹ khi cần.

4.2. Tư vấn chăm sóc người hiến máu qua tổng đài

4.2.1. Gọi lại hỏi thăm các trường hợp các trường hợp có tai biến khi hiến máu.

4.2.2. Tiếp nhận các thông tin phản hồi về các vấn đề sức khỏe của người hiến máu sau đó gọi tư vấn cho người hiến máu.

4.2.3. Ghi lại diễn biến vào sổ ghi nhận các sự việc bất thường trong quá trình hiến máu để theo dõi diễn biến sức khỏe người hiến máu.

4.2.4. Duy trì liên lạc với người hiến máu cho đến khi hồi phục hoàn toàn.

4.3. Tư vấn xét nghiệm không đạt trước và sau hiến máu

4.3.1. Xét nghiệm trước hiến máu: tư vấn luôn tại điểm tiếp nhận máu các trường hợp huyết sắc tố thấp, phản ứng với test nhanh HbsAg, huyết tương đục.

4.3.2. Xét nghiệm sàng lọc sau hiến máu: Trường hợp xét nghiệm sàng lọc sau hiến máu có phản ứng phải xét nghiệm lại cho người hiến máu thêm một lần và tư vấn cho người hiến máu sau khi có kết quả.

4.3.3. Bác sỹ tư vấn gọi điện tư vấn kết quả cho người hiến máu và chỉ định tiếp tục được hiến máu hay ngừng vĩnh viễn theo quy định.

4.3.4. Với các xét nghiệm bất thường phát hiện trong quá trình điều chế máu phải lập "phiếu báo cáo đơn vị máu bất thường" sau đó tìm hiểu thông tin đơn vị máu và người hiến máu, đưa ra các hành động khắc phục cho đơn vị chế phẩm máu và người hiến máu.

5. 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.

44. KỸ THUẬT TÁCH CHẾ PHẨM THỂ TÍCH NHỎ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Chia tách các chế phẩm máu (khối hồng cầu, huyết tương tươi,...) có thể tích nhỏ (50 ml, 100 ml, 150 ml) từ thể tích lớn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Chia tách chế phẩm máu thể tích nhỏ theo dự trù về số lượng, nhóm máu, phân loại thể tích từ đơn vị chế phẩm máu có thể tích lớn hơn.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người.

2.2. Vật tư

- Dao nối vô trùng.
- Túi máu rỗng (túi chuyển).
- 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.
- Dung dịch khử khuẩn.
- Giấy lau tay.
- Văn phòng phẩm.

2.3. Trang thiết bị

- Máy nối dây vô trùng.
- Máy hàn dây túi máu.
- Tủ lạnh/ Nhà lạnh duy trì nhiệt độ 2 - 6 ºC.
- 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.
- Cân.
- Giá đỡ túi máu.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Đơn vị chế phẩm máu: Thể tích chế phẩm máu lấy phù hợp với số lượng, nhóm máu được dự trù cần chia tách.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Mẫu hồ sơ quản lý và điều chế chế phẩm máu.
- Phần mềm quản lý chế phẩm máu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo an toàn cho nhân viên thực hiện, cho chế phẩm và người bệnh.
- 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 túi chế phẩm máu đã có đầy đủ kết quả xét nghiệm an toàn theo dự trù (số lượng, nhóm máu, phân loại thể tích).

Bước 2: Thực hiện chia tách túi chế phẩm máu thể tích nhỏ bằng máy nối vô trùng. Sử dụng bộ túi chùm dành cho trẻ nhỏ trong trường hợp chia tách nhiều đơn vị từ cùng một túi chế phẩm máu có thể tích lớn.

Bước 3: Cân trọng lượng túi chế phẩm máu chia tách.

Bước 4: Nối túi chế phẩm máu và túi chuyển.

Bước 5: Đặt túi chuyển lên cân để cân lượng chế phẩm máu cần tách theo dự trù.

Bước 6: Đuổi khí, cài dây, kiểm tra trọng lượng của từng túi chế phẩm máu đã chia tách.

Bước 7: Khi đã đạt trọng lượng (thể tích cần dự trù và bì túi), hàn rời túi đã chia tách, hàn chéo thành 4 đến 5 đoạn, mỗi đoạn dài từ 4 - 5 cm và có một mã số dây, buộc gọn cùng với túi chế phẩm máu ban đầu.

Bước 8: Dán nhãn và lưu hồ sơ 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 chế phẩm máu: bị thủng túi. Giải pháp: không sử dụng chế phẩm có các biểu hiện bất thường nêu trên.

- Do máy nối dây vô trùng 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 chế phẩm máu sau khi nối: bị hở mối nối. Giải pháp: sử dụng chế phẩm máu khác để chia tách.

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 chế phẩm máu.
- 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.

45. ĐIỀU CHẾ CÁC CHẾ PHẨM MÁU TỪ MÁU TOÀN PHẦN BẰNG MÁY ÉP MÁU TỰ ĐỘNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Điều chế và tách khối hồng cầu, huyết tương, khối tiểu cầu từ đơn vị máu toàn phần bằng máy ép máu tự động.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Điều chế khối hồng cầu, huyết tương, khối tiểu cầu từ đơn vị máu toàn phần thể tích 450 ml được lấy vào bộ kít (có bầu lọc/ không có bầu lọc).

Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước khác nhau của hồng cầu, tiểu cầu, huyết tương, sử dụng máy ép máu tự động để ly tâm và tách từng loại chế phẩm máu.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Kỹ thuật y/Dược sĩ/ Điều dưỡng: 2 người;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Vật tư

- Bộ kít lấy máu toàn phần (có/không có bầu lọc bạch cầu).
- 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 ép tách máu tự động.
- Máy hàn dây túi máu.
- 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.
- Cân.
- Trang thiết bị khác.

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Đơn vị máu toàn phần được lấy vào bộ kít, thể tích máu toàn phần lấy phù hợp với dung dịch chống đông;
- Máu toàn phần được bảo quản ở điều kiện quy định.

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

Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 1 giờ.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế/ phòng sản xuất của cơ sở Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo an toàn cho nhân viên thực hiện, cho chế phẩm và người bệnh.
- 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: Lắp bộ kít có chứa máu toàn phần vào máy tách máu tự động và thực hiện theo quy trình vận hành máy.

Bước 2: Kết thúc chạy máy, từ một đơn vị máu toàn phần tách được 3 sản phẩm, gồm khối hồng cầu (có/không lọc bạch cầu), huyết tương, khối tiểu cầu.

Bước 3: Hàn ống dây, in nhãn và bảo quản các chế phẩm máu.

Lưu ý: Có thể pool khối tiểu cầu từ 2 đến 5 túi để điều chế khối tiểu cầu pool hoặc khối tiểu cầu pool 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, hở dây. Giải pháp: Huỷ bỏ túi máu toàn phần.

- Do 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

- Do túi máu bị hở. Giải pháp: Hủy bỏ túi 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/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, khối tiểu cầu, huyết tương.
- 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.

46. SẢN XUẤT PANEL HỒNG CẦU SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Sản xuất sinh phẩm panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường từ máu toàn phần để sàng lọc kháng thể bất thường trong huyết tương hoặc huyết thanh người.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường gồm một bộ panel có từ 2 - 3 hồng cầu, tối thiểu có mặt các kháng nguyên sau: Rh(D, C, c, E, e), Lewis(Le^a, Le^b), Kell(k), Kidd(Jk^a, Jk^b), Lutheran(Lu^b), MNS(M, N, S, s, Mi^a), Duffy(Fy^a, Fy^b), P1PK(P_1) để xác định sự có mặt của kháng thể bất thường có trong mẫu huyết tương hoặc huyết thanh người.

Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu, sử dụng phương pháp ly tâm để rửa hồng cầu và loại bỏ các thành phần huyết tương, bạch cầu, tiểu cầu.

Pha loãng hồng cầu trong dung dịch bảo quản để được nồng độ phù hợp, sử dụng cho các kỹ thuật xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/Kỹ thuật y/Dược sĩ: 2 người được đào tạo;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Hóa chất, vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Huyết thanh mẫu (anti-A, anti-B, anti-AB).
- Thuốc thử kháng globulin người/ gelcard AHG
- Kháng huyết thanh: Anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e …
- Nước muối sinh lý 0,9%;
- Dung dịch bảo quản hồng cầu (nếu sử dụng).

2.2.2 Vật tư

- Vật tư để rửa hồng cầu (túi máu, ống falcon …).
- Găng tay vô trùng.
- Khẩu trang.
- Mũ giấy.
- Quần áo bảo hộ.
- Lọ thủy tinh đựng sinh phẩm 10 ml, có quả bóp và công tơ hút.
- Ống nghiệm thuỷ tinh.
- Giá cắm ống nghiệm.
- Cốc thuỷ tinh.
- Pipet nhựa.
- Nhãn.
- Túi nilon.

- Túi rác thải y tế.
- Túi rác thải sinh hoạt.
- Dung dịch khử khuẩn.
- Giấy lau tay.
- Văn phòng phẩm (Bút bi, bút marker, giấy in…)

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm thường/ lạnh.
- Tủ an toàn sinh học/ Phòng xét nghiệm được chiếu tia UV khử khuẩn.
- Máy/ pipet phân phối mẫu
- Máy hút chân không/ pipet.
- Máy ly tâm ống nghiệm/ gelcard.
- Thiết bị bảo quản lạnh.
- Kính hiển vi.

2.4. Chuẩn bị mẫu

2-3 mẫu máu O, tối thiểu có mặt các kháng nguyên tại mục 1.2 và được xét nghiệm âm tính với một số tác nhân lây bệnh qua đường truyền máu (HIV, HBV, HCV, giang mai).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm/ Hồ sơ

Hồ sơ quản lý và sản xuất sinh phẩm hồng cầu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4 giờ (trung bình cho 1 bộ sinh phẩm).

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Đơn vị điều chế (sản xuất) của Trung tâm máu/ Truyền máu.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo an toàn cho nhân viên thực hiện, cho sinh phẩm.
- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- 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.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị dụng cụ, trang thiết bị, hóa chất cho sản xuất panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường.

Bước 2: Lựa chọn 2-3 người hiến máu nhóm O, tối thiểu có mặt các kháng nguyên tại mục 1.2, các hồng cầu tốt nhất ở trạng thái đồng hợp tử

Bước 3: Lấy máu của người hiến máu.

Bước 4: Kiểm tra nguyên liệu sản xuất:

- Mẫu máu đã được khẳng định nhóm máu O và được xét nghiệm âm tính với một số tác nhân lây bệnh qua đường truyền máu (HIV, HBV, HCV, giang mai);
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp: Âm tính.

Bước 5: Rửa hồng cầu:

- Ly tâm loại bỏ huyết tương;
- Rửa hồng cầu 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý;
- Rửa lần cuối cùng bằng dung dịch bảo quản hồng cầu (nếu có).

Bước 6: Pha hồng cầu ở các nồng độ thích hợp trong dung dịch bảo quản hoặc nước muối sinh lý tùy theo mục đích sử dụng của xét nghiệm.

Bước 7: Phân phối sản phẩm vào lọ sinh phẩm.

Bước 8: Kiểm tra chất lượng thành phẩm, bao gồm:

- Hiện tượng tan máu.
- Nhóm máu hệ ABO.
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp.
- Tính kháng nguyên của 1 số hệ nhóm máu, ví dụ: Rh(D, C, c, E, e) …

Bước 9: Hoàn thiện hồ sơ, bảo quản sinh phẩm.

4.2. Nhận định kết quả

- Sinh phẩm hồng cầu 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 (nếu cần).
- Lưu hồ sơ sản xuất panel hồng cầu.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chuẩn bị đầy đủ thiết bị, dụng cụ, hóa chất, nguyên liệu phù hợp, đúng nhóm máu cần sản xuất sinh phẩm từ hồng cầu.
- Do máy ly tâm, máy ép máu và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Cần 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 đúng quy trình kỹ thuật. Đảm bảo sản xuất đạt yêu cầu về chất lượng, số lượng sinh phẩm từ hồng cầu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Dán nhãn sinh phẩm từ hồng cầu theo lô sản xuất, đầy đủ thông tin theo quy định.
- Kiểm tra chất lượng, ghi hồ sơ đầy đủ mỗi lô sinh phẩm hồng cầu sau khi sản xuất.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Hiện tượng tan máu: Không.
- Nhóm máu O.
- Mức độ ngưng kết của hồng cầu với kháng thể tương ứng: Từ 3+ trở lên.
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp: Âm tính.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quy trình sản xuất sinh phẩm hồng cầu sàng lọc tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương.

2. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.

47. SẢN XUẤT HỒNG CẦU CHỨNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Sản xuất hồng cầu chứng từ máu toàn phần, sinh phẩm này dùng để kiểm tra chất lượng thuốc thử kháng globulin và các xét nghiệm có sử dụng thuốc thử kháng globulin bằng kỹ thuật ống nghiệm.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Hồng cầu chứng: Là hồng cầu đã được cảm nhiễm kháng thể loại IgG, thường sử dụng hồng cầu O, Rh(D) dương cảm nhiễm với anti-D IgG.

Dựa vào tốc độ lắng, tỷ trọng, kích thước của các thành phần máu, sử dụng phương pháp ly tâm để tách hồng cầu, rửa hồng cầu và loại bỏ các thành phần huyết tương, bạch cầu, tiểu cầu.

Pha loãng hồng cầu trong dung dịch bảo quản để được nồng độ 5%, sử dụng cho kỹ thuật ống nghiệm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ/Kỹ thuật y/Dược sĩ: 1 người được đào tạo;
- Nhân lực hỗ trợ: 1 người.

2.2. Hóa chất, vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Huyết thanh mẫu (anti-A, anti-B, anti-AB).
- Anti-D IgM.
- Anti-D IgG.
- Thuốc thử kháng globulin người.
- Nước muối sinh lý 0,9%;
- Dung dịch bảo quản hồng cầu (nếu sử dụng).

2.2.2 Vật tư

- Vật tư để rửa hồng cầu (túi máu, ống falcon …).
- Găng tay vô trùng.
- Khẩu trang.
- Mũ giấy.
- Quần áo bảo hộ.
- Lọ thủy tinh đựng sinh phẩm 10 ml, có quả bóp và công tơ hút.
- Ống nghiệm thuỷ tinh.
- Giá cắm ống nghiệm.
- Cốc thuỷ tinh.
- Pipet nhựa.
- Nhãn.
- Túi nilon.
- Túi rác thải y tế.
- Túi rác thải sinh hoạt.
- Dung dịch khử khuẩn.

- Giấy lau tay.
- Văn phòng phẩm (Bút bi, bút marker, giấy in…)

2.3. Trang thiết bị

- Máy ly tâm thường/ lạnh.
- Tủ an toàn sinh học/ Phòng xét nghiệm được chiếu tia UV khử khuẩn.
- Máy/ pipet phân phối mẫu
- Máy hút chân không/ pipet.
- Máy ly tâm ống nghiệm/ gelcard.
- Thiết bị bảo quản lạnh.
- Kính hiển vi.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Mẫu máu đã được khẳng định nhóm máu O, Rh(D) dương và được xét nghiệm âm tính với một số tác nhân lây bệnh qua đường truyền máu (HIV, HBV, HCV, giang mai);

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm/ Hồ sơ

Hồ sơ quản lý và sản xuất sinh phẩm hồng cầu.

2.6.Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 giờ (trung bình cho 1 bộ sinh phẩm).

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng điều chế (sản xuất) của cơ sở Truyền máu/ phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo an toàn cho nhân viên thực hiện, cho sinh phẩm.
- Mặc trang phục bảo hộ khi thực hiện kỹ thuật.
- 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.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị dụng cụ, trang thiết bị, hóa chất cho sản xuất hồng cầu chứng.

Bước 2: Kiểm tra nguyên liệu sản xuất:

- Mẫu máu đã được khẳng định O và được xét nghiệm âm tính với một số tác nhân lây bệnh qua đường truyền máu (HIV, HBV, HCV, giang mai);
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp: Âm tính.

Bước 3: Rửa hồng cầu:

- Ly tâm loại bỏ huyết tương;
- Rửa hồng cầu 3 lần bằng dung dịch nước muối sinh lý;

Bước 4: Cảm nhiễm hồng cầu O, Rh(D) dương bằng anti-D loại IgG:

- Pha hồng cầu O, Rh(D) dương 5% bằng nước muối sinh lý NaCl 0,9%.
- Ủ dung dịch hồng cầu O, Rh(D) dương 5% với anti-D IgG đã pha loãng theo tỷ lệ 1:1 ở 37°C trong vòng 30 phút. Lưu ý pha loãng anti-D IgG bằng nước muối sinh lý NaCl 0,9% với tỷ lệ phù hợp để sản phẩm hồng cầu chứng cho phản ứng ngưng kết từ 2+ đến 3+ với thuốc thử kháng globulin.

Bước 5: Rửa hồng cầu đã cảm nhiễm kháng thể 3 lần trong dung dịch NaCl 0,9% và rửa lần cuối cùng bằng dung dịch bảo quản hồng cầu (nếu có).

Bước 6: Pha hồng cầu chứng 5% bằng dung dịch bảo quản hoặc nước muối sinh lý.

Bước 7: Phân phối sản phẩm vào lọ sinh phẩm.

Bước 8: Kiểm tra chất lượng thành phẩm, bao gồm:

- Hiện tượng tan máu.
- Nhóm máu hệ ABO, Rh(D)
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp.

Bước 9: Hoàn thiện hồ sơ, bảo quản sinh phẩm.

4.2. Nhận định kết quả

- Sinh phẩm hồng cầu 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 (nếu cần).
- Lưu hồ sơ sản xuất hồng cầu mẫu.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chuẩn bị đầy đủ thiết bị, dụng cụ, hóa chất, nguyên liệu phù hợp, đúng nhóm máu cần sản xuất sinh phẩm từ hồng cầu.
- Do máy ly tâm, máy ép máu và các dụng cụ khác: hoạt động không ổn định. Cần 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 đúng quy trình kỹ thuật. Đảm bảo sản xuất đạt yêu cầu về chất lượng, số lượng sinh phẩm từ hồng cầu.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Dán nhãn sinh phẩm từ hồng cầu theo lô sản xuất, đầy đủ thông tin theo quy định.
- Kiểm tra chất lượng, ghi hồ sơ đầy đủ mỗi lô sinh phẩm hồng cầu sau khi sản xuất.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Hiện tượng tan máu: Không
- Nhóm máu O, Rh(D) dương
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp: Ngưng kết từ 2+ đến 3+.

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quy trình sản xuất hồng cầu chứng tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương.

2. AABB (2020), Technical Manual, 20th edition.