

**UBND THÀNH PHỐ HÀ NỘI
TRƯỜNG CAO ĐẲNG Y TẾ HÀ NỘI**

GIÁO TRÌNH

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: /QĐ-... ngàytháng....
năm..... của)*

**MÔN HỌC/MÔ ĐUN: HUYẾT HỌC ĐÔNG MÁU – TRUYỀN MÁU
NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM Y
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG**

Hà Nội, năm 2024

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Cuốn giáo trình “Huyết học đông máu và truyền máu” dành cho sinh viên cao đẳng Xét nghiệm gồm các chủ đề các kiến thức cơ bản và một số bệnh lý của Huyết học đông máu- truyền máu. Cuốn giáo trình cung cấp các kiến thức cơ bản về đại cương về quá trình sinh lý của huyết học đông máu- truyền máu và các kỹ thuật xét nghiệm của huyết học đông máu- truyền máu.

Được sự chỉ đạo của Ban Giám hiệu nhà trường, nhóm tác giả bao gồm các thầy cô giáo trong bộ môn Xét nghiệm y học đã có nhiều năm thâm niên giảng dạy và thực hành, cùng với sự tâm huyết đã chỉnh sửa và biên soạn cuốn giáo trình “Huyết học tế bào” dành cho sinh viên cao đẳng Xét nghiệm.

Chúng tôi xin chân thành đón nhận và cảm ơn những ý kiến đóng góp xây dựng của các quý thầy cô giáo và các bạn đồng nghiệp cho cuốn giáo trình được hoàn chỉnh hơn.

Trân trọng cảm ơn!

.....Ngày.....thángnăm 20

Thay mặt nhóm biên soạn

Ths. Hà Thị Nguyệt Minh

THAM GIA BIÊN SOẠN

- 1. Chủ biên ThS. Hà Thị Nguyệt Minh**
2. ThS. Nguyễn Thị Hà Giang

MỤC LỤC

MỤC LỤC	5
MÔ ĐUN: HUYẾT HỌC 2 (HUYẾT HỌC ĐÔNG MÁU - TRUYỀN MÁU) ...	6
PHẦN LÝ THUYẾT	8
BÀI 1. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐÔNG CÀM MÁU.....	8
BÀI 2. KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh.....	45
Bài 3. ĐẶC ĐIỂM, BẢO QUẢN VÀ SỬ DỤNG CÁC CHẾ PHẨM MÁU.....	78
Bài 4. PHẢN ỨNG HÒA HỢP.....	88
PHẦN THỰC HÀNH	105
BÀI 5. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN MÁU CHẢY- MÁU ĐÔNG.....	105
BÀI 6. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN CO CỤC MÁU - THỜI GIAN HOWELL	113
BÀI 7. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN PROTHROMBIN	121
BÀI 8. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN THROMBOPLASTIN TỪNG PHẦN HOẠT HÓA.....	125
BÀI 9. THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh....	129
BÀI 10. THỰC HÀNH NGHIỆM PHÁP COOMBS TRỰC TIẾP VÀ COOMBS GIÁN TIẾP.....	149
BÀI 11. THỰC HÀNH PHẢN ỨNG HÒA HỢP.....	158

MÔ ĐƠN: HUYẾT HỌC 2 (HUYẾT HỌC ĐÔNG MÁU - TRUYỀN MÁU)

Mã mô đun: XN04

Thời gian thực hiện: 75 giờ

- Lý thuyết: 13 giờ
- Thực hành: 59 giờ
- Kiểm tra: 3 giờ

I. Vị trí, tính chất mô đun

- *Vị trí:* Thực hiện vào học kỳ II, năm thứ 2 của sinh viên cao đẳng xét nghiệm.
- *Tính chất:* Môn huyết học 2 nhằm trang bị cho sinh viên những kiến thức cơ bản về lý thuyết và thực hành huyết học đông máu và truyền máu. Các kiến thức này giúp cho sinh viên giải thích được nguyên tắc của 1 số xét nghiệm huyết học đông máu và truyền máu vào việc chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh.

II. Mục tiêu mô đun

* *Kiến thức*

- Giải thích được nguyên tắc của một số kỹ thuật xét nghiệm huyết học đông máu và truyền máu.
- Trình bày được các nội dung trong phát máu an toàn
- Trình bày được đặc điểm, bảo quản và sử dụng các chế phẩm máu trong lâm sàng.

* *Kỹ năng*

- Nhận định và giải thích được sự thay đổi các xét nghiệm đông máu, truyền máu trong một số tình huống dạy học.

* *Năng lực tự chủ, trách nhiệm*

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm.

III. Nội dung phương pháp đánh giá mô đun

1. Nội dung mô đun

TT	Tên bài	Số tiết			
		TS	LT	TH	KT
1	Kỹ thuật xét nghiệm đông cầm máu	3	3	0	
2	Kỹ thuật định nhóm máu hệ ABO và Rh	2	2	0	

3	Đặc điểm, bảo quản và sử dụng các chế phẩm máu	5	5	0	
4	Phản ứng hòa hợp	4	4	0	
	Kiểm tra	1			1
5	Thực hành kỹ thuật xác định thời gian máu chảy, thời gian máu đông	2	0	2	
6	Thực hành kỹ thuật xác định thời gian co cục máu, thời gian Howell	3	0	3	
7	Thực hành kỹ thuật xác định thời gian Prothrombin	2	0	2	
8	Thực hành kỹ thuật xác định thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa	3	0	3	
9	Thực hành kỹ thuật định nhóm máu ABO và Rh	9	0	9	
	Kiểm tra	1			1
10	Thực hành nghiệm pháp Coombs trực tiếp và Coombs gián tiếp	5	0	5	
11	Thực hành phản ứng hòa hợp	5	0	5	
	Tổng	45	14	29	2

2. Phương pháp đánh giá

- Kiến thức: Kiểm tra nội dung đã học bằng bộ công cụ lượng giá tự luận tình huống, hay trắc nghiệm.
- Kỹ năng: Kiểm tra thực hành tại phòng thực hành chuyên dụng theo quy trình kỹ thuật; sử dụng thang điểm.
- Năng lực tự chủ, trách nhiệm: Đánh giá thái độ thông qua việc sinh viên thực hiện kỹ năng.

Nội dung	Điểm KT thường xuyên (hệ số 1)	Điểm định kỳ (hệ số 2)	Thi (60%)
Hình thức	Tự luận/ Trắc nghiệm	TH QTKT tại phòng TH/ Vấn đáp	Thực hành: KT quy trình kỹ thuật tại phòng thực hành/ Trắc nghiệm
Số lượng	2	1	1
Trọng số	40%		60%

PHẦN LÝ THUYẾT

BÀI 1. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐÔNG CẦM MÁU

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày nguyên tắc, quy trình, giới hạn tham chiếu và nhận định kết quả của 1 số kỹ thuật xét nghiệm đông cầm máu.

* Kỹ năng

- Nhận định và phân tích được sự thay đổi các xét nghiệm đông cầm máu trong một số tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.

- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.

NỘI DUNG

1. Đại cương

Đông cầm máu là sự thay đổi tình trạng vật lý của máu để chuyển một protein hòa tan thành một gen rắn là sợi huyết nhằm mục đích lấp chỗ tổn thương thành mạch hạn chế mất máu đồng thời cũng tham gia duy trì tình trạng lỏng của máu.

Quá trình đông cầm máu bao gồm các tác động qua lại mật thiết giữa ba thành phần: thành mạch, các tế bào máu và các protein huyết tương hoạt động dưới hình thức phản ứng men. Quá trình này hoạt động theo yêu cầu và bị điều hòa bởi các yếu tố thần kinh và thể dịch.

Trong cơ thể luôn có sự cân bằng giữa hai hệ thống: làm đông máu và chống lại quá trình đông máu. Một hệ thống mang tính bảo vệ cơ thể tránh chảy máu, một hệ thống đóng vai trò gìn giữ lưu thông lòng mạch để luôn bảo đảm tuần hoàn duy trì sự sống. Mất cân bằng hai hệ này sẽ dẫn đến hậu quả làm tắc mạch hoặc chảy máu.

2. Các yếu tố tham gia hoạt hóa đông cầm máu

2.1. Cơ mạch

Khi mạch máu bị tổn thương, các yếu tố thần kinh và thể dịch sẽ tác động làm co mạch làm giảm lưu lượng dòng chảy tạo điều kiện cho tiểu cầu dính vào lớp dưới nội mạc.

2.2. Nội mạc và lớp dưới nội mạc

2.2.1. Tế bào nội mạc

Các tế bào nội mạc có vai trò rất quan trọng trong việc chống tạo huyết khối cũng

như tạo cân bằng giữa hệ thống các yếu tố đông máu huyết tương và hệ thống các chất hoạt hóa đông cầm máu nhờ một số đặc tính và cấu trúc sau:

- Các tế bào nội mạc có một lớp glycocalyx trên bề mặt, trong đó chứa heparin sunphat (có vai trò chống đông máu) và glycosaminoglycan (có khả năng hoạt hóa antithrombinIII cũng là chất ức chế đông máu mạnh).
- Tế bào nội mạc chứa thrombomodulin là chất khi gắn với thrombin sẽ hoạt hóa protein C để thoái giáng và ức chế yếu tố đông máu có tên Va, VIIIa. Ngoài ra nó cũng tổng hợp được protein S là đồng yếu tố của protein C.
- Khi có mặt thrombin, tế bào nội mạc cũng có thể hoạt hóa được plasminogen để khởi động tiêu fibrin.
- Tế bào nội mạc cũng tổng hợp được yếu tố Von Willebrand (w-WF), yếu tố rất quan trọng cần thiết cho quá trình dính tiểu cầu vào collagen của tổ chức dưới nội mạc để khởi động quá trình đông máu.

2.2.2. Tổ chức dưới nội mạc

Tổ chức này bao gồm rất nhiều thành phần như collagen, tổ chức chun, màng nền, vi sợi, proteoglycan, mucopolysaccharid, fibronectin... Khi thành mạch bị tổn thương, các thành phần dưới nội mạc bị bộc lộ sẽ gây dính tiểu cầu (nhất là dính vào collagen) để hoạt hóa quá trình cầm máu.

2.3. Tiểu cầu

Tiểu cầu đóng vai trò quan trọng trong hình thành đĩnh cầm máu Hayem (nút trắng tiểu cầu) thông qua chức năng dính, giải phóng và ngưng tập.

Chức năng dính của tiểu cầu vào lớp dưới nội mạc khi thành mạch tổn thương phụ thuộc vào yếu tố Von Willebrand và glycoprotein màng tiểu cầu. Sau khi dính tiểu cầu quá trình giải phóng nhiều chất như ADP, serotonin, yếu tố 4 tiểu cầu... tiếp tục hoạt hóa quá trình đông máu. Phản ứng giải phóng này bị ức chế bởi prostacyclin. Các chất mà tiểu cầu vừa giải phóng ra như ADP và thromboxan A2 sẽ thúc đẩy tiểu cầu dính vào nhau và khuếch đại phản ứng giải phóng để tạo một khối tiểu cầu đủ lớn có thể nút vùng thành mạch tổn thương.

2.4. Yếu tố Von Willebrand

Là yếu tố được tổng hợp từ tế bào nội mạc và mẫu tiểu cầu. Chúng lưu hành trong máu dưới dạng tách rời hoặc tạo phức hợp gắn với yếu tố VIII đông máu (VIII:C). Yếu tố này có vai trò rất quan trọng trong cầm máu kỳ đầu vì nó là cầu nối liên kết giữa tiểu cầu và collagen khi thành mạch bị tổn thương tạo đĩnh cầm máu. Ngoài ra, vì là chất mang yếu tố VIII nên nó cũng có vai trò trong quá trình đông máu huyết tương.

2.5. Các yếu tố đông máu huyết tương

Các yếu tố đông máu đã được xác định được đặt tên bằng cách đánh số La mã theo thứ tự tìm ra, tuy nhiên về sau người ta nhận thấy một số yếu tố không tương ứng với một protein riêng biệt nào nên số đó đã bị bỏ đi (như III, IV, VI), ngoài ra một số yếu tố mới phát hiện thì không đánh số nữa.

BẢNG CÁC YẾU TỐ ĐÔNG MÁU

Tên theo số La mã	Tên thường dùng	Chức năng	Tính chất phụ thuộc vitamin K
I	Fibrinogen	Cơ chất đông máu	Không
II	Prothrombin	Zymogen	Có
III	Yếu tố tổ chức, thromboplastin		
IV	Ion Canxi		
V	Proaccelerin, Plasma accelerator globulin	Đồng yếu tố	Không
VII	Proconvertin	Zymogen	Có
VIII	Yếu tố chống Hemophilie A	Đồng yếu tố	Không
IX	Yếu tố chống Hemophilie B, yếu tố Christmas	Zymogen	Có
X	Yếu tố Stuart	Zymogen	Có
XI	Yếu tố chống Hemophilie C, plasma thromboplastin antecedent	Zymogen	Không
XII	Yếu tố Hageman, yếu tố tiếp xúc	Zymogen	Không
XIII	Yếu tố ổn định sợi huyết	Chuyển amidase	Không
Prekallikrein	Fletcher Factor	Zymogen	Không
High Molecular Weight Kininogen (H.M.W.K)	Fitzgerald Factor	Đồng yếu tố	Không

Các yếu tố đông máu bản chất là các glycoprotein được phân nhóm khác nhau tùy theo chức năng nên ta có các nhóm zymogen (dạng tiền men) hay đồng yếu tố, hoặc có những yếu tố chỉ là cơ chất như fibrinogen.

Ion Canxi có vai trò quan trọng trong đông máu vì nó tạo điều kiện thuận lợi cho các yếu tố phụ thuộc vitamin K kết hợp với phospholipid. Ion canxi cũng cần thiết cho một số phản ứng của một số yếu tố không phụ thuộc vitamin K như thể hiện hoạt tính men của XIIIa, ổn định yếu tố V và phức hệ yếu tố Willebrand và VIII:C.

Yếu tố tổ chức hay thromboplastin ngoại sinh được sinh ra khi tổ chức dập nát, có tác dụng khởi động con đường đông máu nội s

inh. Yếu tố này không có hoạt tính men mà hoạt động như một đồng yếu tố để hoạt hóa yếu tố VII và X.

Các yếu tố đông máu huyết tương thường được phân chia thành 3 nhóm như sau:

2.5.1. Nhóm các yếu tố tiếp xúc

Gồm 4 yếu tố tham gia vào giai đoạn khởi động con đường đông máu nội sinh khi máu tiếp xúc với lớp dưới nội mạc. Đó là các yếu tố XI, XII, prekallikrein và H.M.W.K. Các yếu tố này có đặc điểm chung là bền vững, ổn định tốt trong huyết tương lưu trữ, không phụ thuộc vitamin K khi tổng hợp và không phụ thuộc ion canxi khi hoạt hóa.

2.5.2. Nhóm các yếu tố phụ thuộc vitamin K (hay nhóm prothrombin)

Gồm các yếu tố II, VII, IX, X. Các yếu tố này đều là zymogen (tiền men) của các serin protease (men hoạt động). Đặc điểm chung là đều phụ thuộc vitamin K khi tổng hợp và cần có ion canxi khi hoạt hóa. Khi lưu hành bình thường chúng không có hoạt tính enzyme nhưng có thể bị biến thành serin protease khi phân cắt lựa chọn một hoặc hai dây nối peptid. Các yếu tố trong nhóm này không bị tiêu thụ trong quá trình đông máu nên chúng sẽ có mặt trong huyết thanh (trừ yếu tố II) và chúng ổn định trong huyết tương lưu trữ. Khi cơ thể thiếu vitamin K thì gan chỉ tổng hợp ra tiền chất của các yếu tố trên, các tiền chất có hoạt tính sinh học đông máu rất thấp và đôi khi còn có hoạt tính ức chế đông máu, được gọi chung là PIVKA (proteins induced by vitamin K absence or antagonists).

2.5.3. Nhóm fibrinogen

Gồm các yếu tố I, V, VIII, XIII. Các yếu tố này đều chịu tác động qua lại của thrombin. Đặc điểm chung của các yếu tố này là bị tiêu thụ trong quá trình đông máu nên không có mặt trong huyết thanh và nhanh bị hủy (mất hoạt tính trong huyết tương lưu trữ). Yếu tố VIII còn có đặc điểm không lưu hành đơn độc trong huyết tương mà sau khi tổng hợp ra chỉ thời gian ngắn (8-12 phút) là chúng sẽ gắn với yếu tố von

Willebrand nhờ đó mà đảm bảo được tính ổn định của yếu tố này.

3. Các giai đoạn của đông cầm máu trong cơ thể

Quá trình đông cầm máu trong cơ thể nhằm bịt kín chỗ tổn thương, không cho máu thoát khỏi thành mạch được phân chia làm 3 giai đoạn chính như sau:

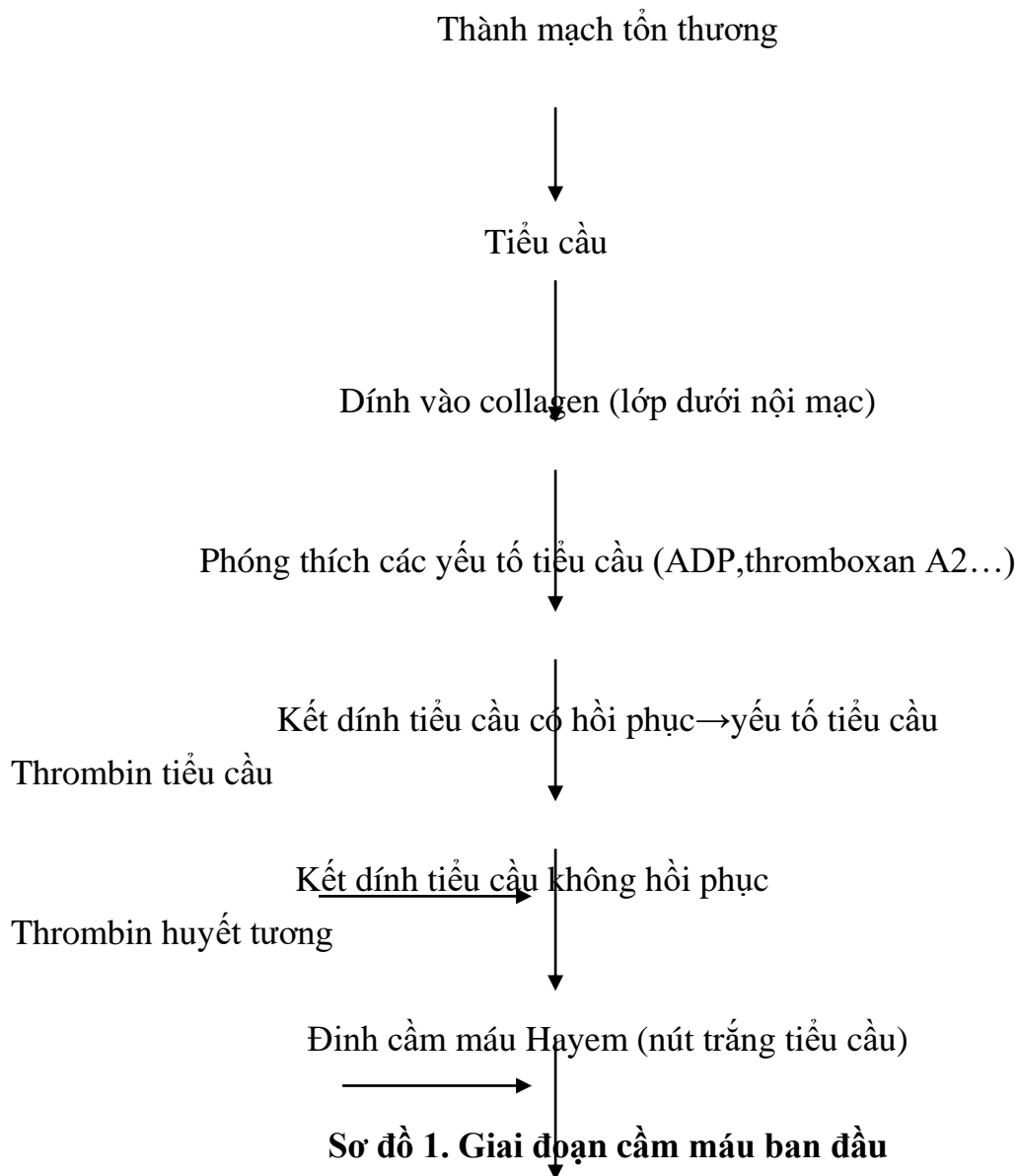
- Giai đoạn cầm máu ban đầu (còn gọi là giai đoạn thành mạch tiểu cầu).
- Giai đoạn đông máu huyết tương.
- Giai đoạn tiêu sợi huyết.

3.1. Giai đoạn cầm máu ban đầu

Khi thành mạch bị tổn thương, quá trình cầm máu lập tức xảy ra. Đầu tiên là phản xạ co mạch dưới tác động của các cơ chế thần kinh (phản xạ tự vệ) và thể dịch (dưới tác động của angiotensin II do tế bào nội mạc phóng thích). Mạch máu khi co lại sẽ làm giảm tốc độ dòng chảy tạo điều kiện bám dính tiểu cầu, việc này rất hiệu quả trong cầm máu ở những mạch máu nhỏ và mao mạch.

Thành mạch bị tổn thương cũng làm bộc lộ lớp dưới nội mạc (collagen, sợi chun....) tạo nên bề mặt không trơn nhẵn và có lực hút tĩnh điện tạo điều kiện cho tiểu cầu bám dính dễ dàng. Tuy nhiên để tiểu cầu có thể bám dính được tối đa cần phải có vai trò của yếu tố von Willebrand và các yếu tố GPIb, GPIIb-IIIa nằm trên màng tiểu cầu. Sự kết dính tiểu cầu xảy ra gần như ngay tức khắc khi thành mạch vừa tổn thương, không phụ thuộc vào canxi hay các yếu tố đông máu huyết tương khác.

Tiểu cầu sau khi bị dính sẽ bị hoạt hóa (thay đổi hình dạng) và giải phóng ra một loạt các sản phẩm như ADP, serotonin, epinephrin và các dẫn xuất của prostaglandin, đặc biệt quan trọng là thromboxan A₂. Các sản phẩm sẽ có tác dụng khuếch đại quá trình ngưng tập tiểu cầu. Các tiểu cầu dính vào nhau tạo nên nút tiểu cầu, nút này lớn lên nhanh chóng và chỉ sau một vài phút đã có thể bịt kín vùng mạch máu (nhỏ) bị tổn thương. Nút tiểu cầu này có tên là nút trắng tiểu cầu hay đinh cầm máu Hayem. Sau khi hình thành, ngoài chức năng lấp mạch, nút trắng tiểu cầu còn làm bộc lộ yếu tố 3 tiểu cầu (một phospholipid bề mặt tiểu cầu) có khả năng thúc đẩy quá trình đông máu. Với những vết thương lớn, đây chỉ là khởi đầu cho quá trình hình thành cục đông bằng con đường đông máu huyết tương.



3.2. Giai đoạn đông máu huyết tương

Quá trình đông máu huyết tương có thể được phát động bằng hai con đường: nội sinh do máu tiếp xúc với bề mặt mang điện tích âm (trong cơ thể là lớp dưới nội mạc, trong thực nghiệm là các bề mặt thủy tinh hay kaolin) hoặc ngoại sinh nhờ vai trò của yếu tố tổ chức. Kết quả khởi động hai con đường đều mang lại kết quả tạo phức hệ prothrombinase làm nhiệm vụ chuyển prothrombin thành thrombin-chất có vai trò rất lớn trong đông cầm máu. Fibrinogen dưới tác dụng của thrombin sẽ tạo ra lưới fibrin giam giữ tiểu cầu và các thành phần khác của máu tạo nên cục máu ổn định vững chắc có đủ khả năng cầm máu.

Các yếu tố đông máu huyết tương sẽ bị hoạt hóa theo kiểu dây chuyền và được ví như dòng thác phản ứng men do hầu hết các yếu tố đông máu đều là serinprotease nghĩa là có khả năng thủy phân các dây peptid. Ví dụ chỉ cần một lượng rất nhỏ (1 phân tử gam) yếu tố XI hoạt hóa thì đã có thể thủy phân để hoạt hóa liên tục các yếu tố IX, X, prothrombin để tạo ra tới 2×10^8 phân tử gam fibrin.

Người ta chia quá trình đông máu huyết tương thành 3 thời kỳ:

- Thời kỳ hình thành thromboplastin hoạt hóa (phức hệ prothrombinase) bằng đường nội sinh và ngoại sinh.
- Thời kỳ hình thành thrombin
- Thời kỳ hình thành fibrin.

Sự phân chia này chỉ mang tính tương đối vì trên thực tế các giai đoạn của quá trình đông máu đan xen với nhau một cách phức tạp, chính vì vậy mà rối loạn đông máu vẫn là vấn đề rất phức tạp.

3.2.1. Thời kỳ hình thành thromboplastin hoạt hóa

3.2.1.1. Con đường đông máu nội sinh

Khi thành mạch tổn thương được bộc lộ, nhóm các yếu tố tiếp xúc trong máu (XII, XI, prekallikrein và H.M.W.K) gặp và cố định lên bề mặt điện tích âm của lớp dưới nội mạc do đó làm hoạt hóa yếu tố IX thành IXa. IXa được hình thành cùng với sự có mặt của ion canxi, đồng yếu tố VIII:C và phospholipid của tiểu cầu tạo thành phức hệ prothrombinase hay thromboplastin nội sinh. Ngoài ra IXa còn có khả năng hoạt hóa yếu tố VII nên đây là đầu mối tạo liên hệ giữa hai con đường nội sinh và ngoại sinh.

3.2.1.2. Con đường đông máu ngoại sinh

Con đường này được khởi phát khi các lipoprotein từ tổ chức bị tổn thương (yếu tố tổ chức-TF) hoạt hóa yếu tố VII thành VIIa. Quá trình này được khuếch đại nhờ chính phức hợp TF-VIIa. Yếu tố VIIa và phức hợp TF-VIIa cùng sự có mặt của Ca^{++} có thể xúc tác hoạt hóa trực tiếp yếu tố X và TF cũng là đồng yếu tố gia tốc cho sự hoạt hóa này.

3.2.2. Thời kỳ hình thành thrombin

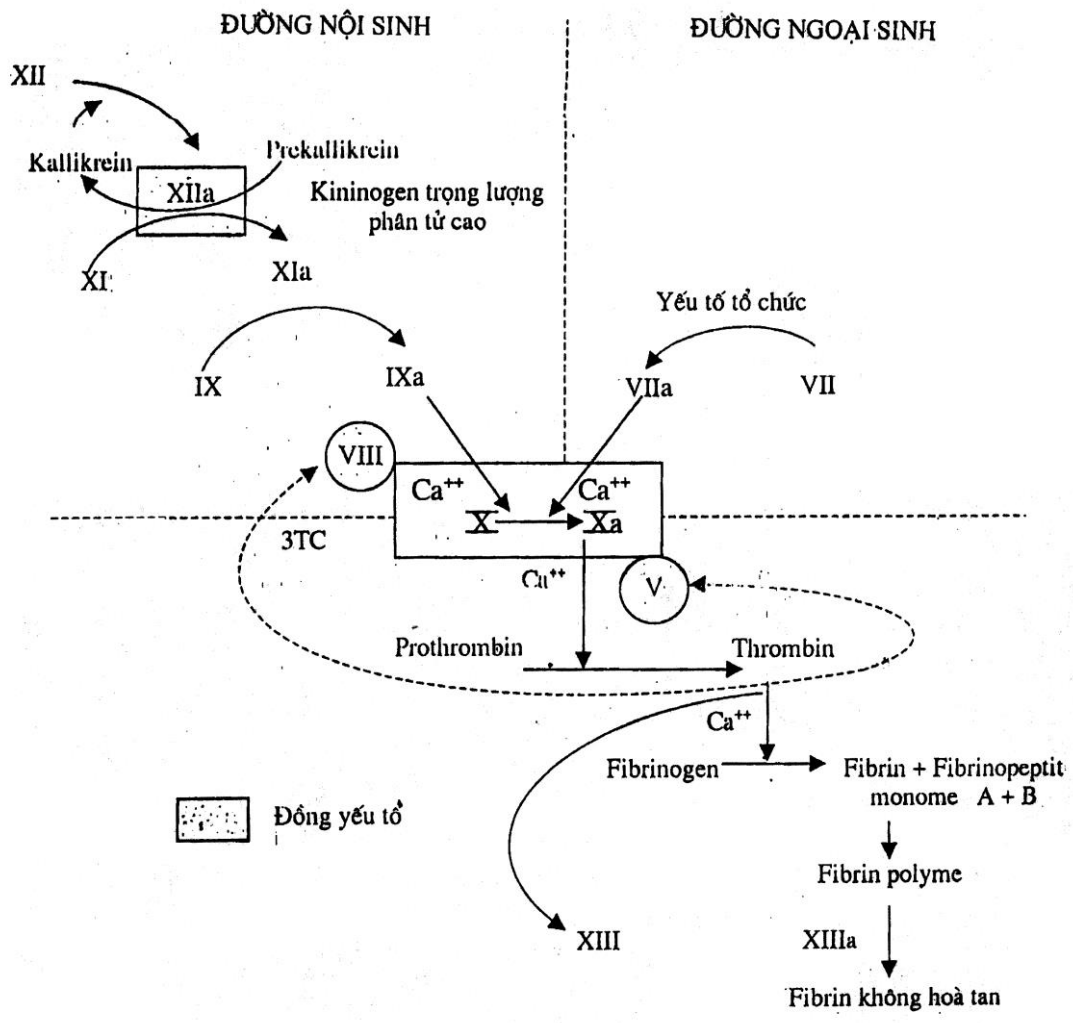
Thromboplastin hoạt hóa (hay là phức hệ prothrombinase) được hình thành từ hai con đường nội sinh và ngoại sinh sẽ có khả năng chuyển prothrombin thành thrombin.

Thrombin là yếu tố có vai trò rất quan trọng trong sinh lý đông cầm máu cũng như các tình trạng bệnh lý. Thrombin là chìa khóa cho sự hình thành fibrin bằng cách chuyển fibrinogen thành fibrin và hoạt hóa yếu tố XIII giúp ổn định sợi huyết. Thrombin mở rộng đông máu huyết tương bằng cách hoạt hóa VIII:C và V làm gia

tốc phản ứng hình thành Xa nên tăng hoạt hóa prothrombin. Thrombin cũng có thể làm tăng tốc độ hình thành chính mình. Thrombin là chất kích tập tiểu cầu mạnh vì nó cố định lên bề mặt bạch cầu làm hoạt hóa chúng. Ngoài ra thrombin còn có thể thúc đẩy chuyển plasminogen thành plasmin vì khi thrombin gắn vào tế bào nội mạc thì kích thích giải phóng t-PA (tissue plasminogen activator). Nó cũng góp phần thúc đẩy kích thích tăng sinh các tế bào xơ (fibroblast). Tuy nhiên thrombin lại là chất có thể giới hạn sự lan rộng của đông máu khi hạn chế hoạt động của chính mình thông qua hoạt hóa protein C.

3.2.3. Thời kỳ hình thành fibrin

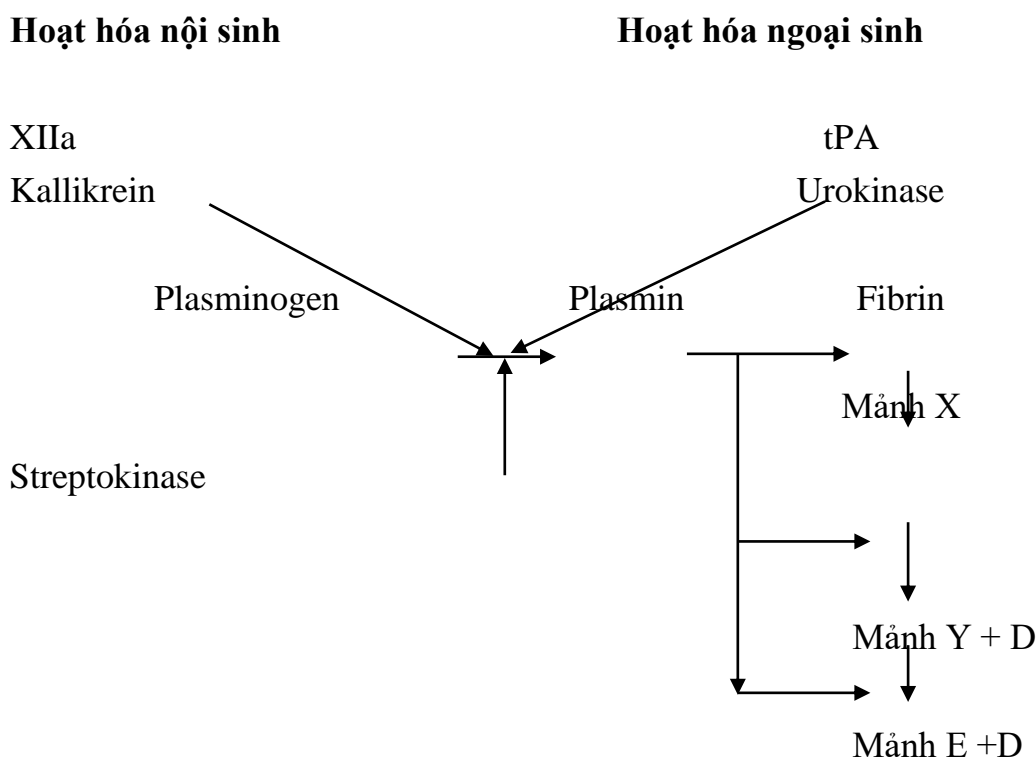
Thrombin được tạo ra sẽ thủy phân fibrinogen thành fibrin monomer (fibrinopeptid A và B). Fibrin monomer trùng hợp với nhau thành fibrin polymer, đây là mối liên kết không bền vững, có thể chuyển đổi hai chiều. Yếu tố XIIIa được tạo ra dưới tác động của thrombin sẽ giúp fibrin polymer trở nên ổn định và tạo ra mối liên kết không hồi phục của fibrin với các protein khác như fibronectin, α 2antiplasmin... nên cục đông hình thành vững chắc hơn. Cục sợi huyết hình thành là khối gel hóa bao gồm lưới fibrin (đường kính khoảng $1\mu\text{m}$) trong đó giam giữ hồng cầu, bạch cầu và đặc biệt là tiểu cầu. Sau đó cục máu sẽ co lại nhờ một protein tiểu cầu tên là actomyosin.



Sơ đồ 2. Quá trình đông máu huyết tương

3.3. Giai đoạn tiêu sợi huyết

Sau khi cục đông đã hoàn thành nhiệm vụ lấp kín chỗ tổn thương, cơ thể sẽ tiếp tục quá trình sợi hóa và sau đó cục sợi huyết sẽ được tiêu đi để trả lại sự thông thoáng cho mạch máu đảm bảo nuôi dưỡng tổ chức phía dưới chỗ tổn thương. Quá trình tiêu cục đông là nhờ hệ tiêu sợi huyết. Plasminogen là một β globulin tồn tại trong máu dưới dạng tiền men, khi hoạt hóa tạo thành plasmin có tác dụng tiêu protein. Plasminogen được hoạt hóa nhờ t-PA tiết ra từ tế bào nội mạc. Plasmin có thể tiêu fibrinogen, fibrin, yếu tố V, VIII và nhiều protein khác. Plasmin bị ức chế bởi $\alpha 2$ antiplasmin và $\alpha 2$ macroglobulin, còn t-PA thì bị ức chế bởi PAI 1.



Sơ đồ 3. Quá trình tiêu sợi huyết

4. Các chất ức chế đông máu

Quá trình đông cầm máu trong cơ thể là phản xạ tự vệ nhằm cầm máu ở vết thương thành mạch nhưng lại có thể gây hậu quả tắc mạch, vì vậy quá trình này cần phải có sự kiểm soát và điều hòa của cơ thể. Một số yếu tố đông máu sẽ được pha loãng và bị gan đào thải, mặt khác sẽ có các chất ức chế làm bất hoạt các yếu tố đã được hoạt hóa hoặc làm thoái hóa các đồng yếu tố. Các chất ức chế sinh lý này nếu thiếu hụt sẽ gây ra hiện tượng tắc mạch.

Các chất ức chế đông máu được chia làm hai nhóm tùy theo hoạt động của chúng.

- Nhóm 1: gồm các chất ức chế serin protease, chúng tạo thành phức hợp với các yếu tố đông máu. Các chất này là anti thrombin III (ATIII), đồng yếu tố II của heparin. Nhóm này có khả năng ức chế IIa, IXa, Xa, XIa, XIIa, nhưng chủ yếu là Iia.

- Nhóm 2: gồm 2 protein huyết tương là protein C (Protein C có thể được hoạt hóa bằng chính thrombin) và protein S và một protein màng tên là thrombomodulin. Hệ thống men này có thể làm bất hoạt hai yếu tố Va và VIII:C.

- Các chất ức chế đông máu sinh lý hầu hết được tổng hợp ở tế bào gan, trừ thrombomodulin là do tế bào nội mạc tổng hợp nên.

- Ức chế bằng dược phẩm: Các thuốc điều trị chống đông: Warfarin, heparin...

2.2. Kỹ thuật xét nghiệm quá trình đông cầm máu

2.2.1. Giai đoạn cầm máu ban đầu

2.2.1.1. Kỹ thuật đếm số lượng và độ tập chung của tiểu cầu (huyết học 1)

2.2.1.2. Nghiệm pháp dấu hiệu dây thắt

* Nguyên lý: đánh giá sức bền mao mạch bằng cách tạo ra một áp lực không đổi với một thời gian nhất định, những mao mạch nhỏ, yếu sẽ bị vỡ ra làm cho máu tràn ra dưới da tạo ra những nốt xuất huyết nhỏ. Nếu vùng tổn thương rộng lớn sẽ tạo ra những vết bầm.

* Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ, trang thiết bị	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Máy đo huyết áp + Dây garo + Đồng hồ
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu thông tin của người bệnh với phiếu yêu cầu xét nghiệm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	Trùng khớp thông tin của người bệnh và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
4	Kiểm tra vùng thực hiện kỹ thuật		Đánh dấu các nốt bất thường trên vùng cánh tay: nốt ruồi son, nốt đỏ, nốt muỗi đốt...
5	Dùng máy đo huyết áp		Đặt băng garo ở vùng trên khuỷu tay, mép dưới băng garo cách khuỷu 5 cm, bơm và đo lấy trị số huyết áp tối đa và huyết áp tối thiểu.
6	Nếu dùng dây garo		Dùng dây garo để garo vùng trên khuỷu tay 5cm với một áp suất vừa phải, vẫn để máu động mạch vẫn lưu thông đều và máu tĩnh mạch bị nghẽn 1 phần trong 5 phút.

7	Thời gian duy trì áp lực 5 phút		Tháo hơi băng huyết áp hoặc tháo garo trong 5 phút
8	Đọc kết quả		Quan sát và đếm số lượng nốt xuất huyết mới tại mặt trong và ngoài cánh tay
9	Nhận định kết quả		Bình thường: không có nốt xuất huyết mới Bất thường: +; ++; +++; +++++
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

* Nhận định kết quả

- Bình thường: không có nốt xuất huyết mới, trường hợp nhẹ các điểm xuất huyết có thể nhỏ li ti, thưa và chỉ có ở vùng nếp gấp khủy. Trường hợp nặng các nốt xuất huyết xuất hiện to rõ, nhiều và lan rộng xuống cánh tay ngoài, cẳng tay, mu tay...

- Cách đánh giá kết quả

+ Có > 5 nốt xuất huyết: (+)

+ Có nhiều điểm ở cánh tay: (++)

+ Có rất nhiều điểm ở cánh tay ngoài, cẳng tay, lan xuống mu tay: (+++)

+ Điểm xuất huyết nhiều, dính, chùm ở cánh tay và mu tay tạo ra các mảng ứ xuất huyết: (++++)

* Biện luận: Dấu hiệu dây thắt dương tính có ý nghĩa, do thành mạch kém bền vững do thiếu vitamin C giảm tiểu cầu, viêm mao mạch..

-Thực hiện nghiệm pháp lần 2 cách lần 1 là 7 đến 10 ngày để các nốt xuất huyết cũ hết.

* Nguyên nhân sai số

- Tạo áp lực chưa đúng có thể là cao hoặc thấp

- Không bảo đảm thời gian
- Nhầm với các noota xuất huyết cũ.

2.2.1.3. Kỹ thuật xác định thời gian máu chảy

- Nguyên lý: Đo thời gian từ lúc tạo một vết thương tiêu chuẩn ở vùng giữa dải tai đến khi máu ngưng chảy. Thời gian máu chảy tùy thuộc vào sự bền vững của thành mạch, số lượng và chức năng của tiểu cầu.
- Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN MÁU CHẢY

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế. + Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.
	Chuẩn bị hóa chất		
3	Chuẩn bị người bệnh Giải thích cho người bệnh	Tránh nhầm lẫn	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh có trùng khớp thông tin như: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Người bệnh đồng ý hợp tác
4	Xác định vị trí chích máu và sát khuẩn.	Kết quả của kỹ thuật chính xác	Vùng dải tai không bị tổn thương, sát khuẩn bằng cồn 70° từ trong ra ngoài, sát khuẩn sạch và để khô tự nhiên.
5	Chích máu bằng kim chích vô khuẩn vào vùng giữa dải tai	Gây tổn thương thành mạch	Vết thương được tạo ra có kích thước 2x2 mm, để máu chảy tự nhiên.

6	Thấm máu bằng giấy thấm sạch và Bấm đồng hồ bấm giây	KQ kỹ thuật chính xác	Máu được thấm bằng giấy thấm, khi thấm không chạm vào da. Cứ 30 giây thấm 1 lần và thấm cho đến khi máu ngừng chảy dùng bấm đồng hồ dừng lại.
7	Ghi lại thời gian máu chảy	Xác định thời gian từ khi có tổn thương thành mạch cho đến khi hình thành nút tiểu cầu.	Đếm các vết máu được thấm trên giấy thấm
8	Nhận định kết quả	Kết quả thời gian máu chảy bình thường hay bất thường.	- 2- 4 phút là bình thường, Nếu > 5 phút KT tai đối diện. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
10	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

* Nhận định kết quả

- Bình thường: 2 – 4 phút
- Kéo dài: Trên 5 phút thì kiểm tra lại tai bên đối diện

* Biện luận

- Thời gian máu chảy kéo dài trong một số bệnh lý
- + Bệnh thành mạch kém bền vững
- + Bệnh giảm tiểu cầu và rối loạn chức năng của tiểu cầu.
- + Bệnh Von Willebrand
- Thời gian máu chảy kéo dài sau 1 lần làm xét nghiệm chưa đủ chính xác để kết

luận bệnh. Do vậy cần kiểm tra bên tai đối diện.

* Nguyên nhân sai số

- Tạo vết thương không đúng tiêu chuẩn.
- + Vết đâm quá nông: Rút ngắn thời gian chảy máu.
- + Vết đâm quá sâu: Kéo dài thời gian chảy máu.
- Trường hợp daï tai lạnh (do lo sợ, do thời tiết lạnh) nên chà xát daï tai cho ấm trước khi thực hiện xét nghiệm.
- Trong trường hợp chưa đến 30 giây máu đã nhỏ thành giọt lớn, hãy để máu nhỏ xuống bông thấm nước, sau đó cứ đúng 30 giây tiếp theo dùng giấy thấm giọt máu.
- Sau 10 phút vẫn còn chảy máu, ngừng không thực hiện trắc nghiệm nữa. Làm ngừng chảy máu bằng cách dùng bông ép chặt vết thương trong 5 phút hay dùng bột thrombin cầm máu.
- Vì daï tai trẻ em quá mỏng không thích hợp cho việc tạo vết thương như thế, nên phải chích ở cạnh bên ngón chân cái hoặc ở gót chân.
- Động tác thấm máu từ vết chích quá mạnh làm phá vỡ đỉnh tiểu cầu vừa thành lập.

2.2.1.4. Kỹ thuật xác định thời gian co cục máu

* Nguyên lý:

Quá trình đông máu là quá trình hình thành cục máu đông do vai trò của tiểu cầu và sợi huyết, sau đó sợi huyết co lại, quá trình này có thể đánh giá sơ bộ vai trò của tiểu cầu, số lượng và chất lượng của sợi huyết.

* Tiến hành kỹ thuật theo: quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN CO CỤC MÁU

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu tĩnh mạch, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.

	Chuẩn bị hóa chất		+ Bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch. + Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm thủy tinh	Tránh nhầm lẫn	Đánh số ống nghiệm 1 và ống nghiệm 2 ghi đầy đủ thông tin người bệnh: Họ tên/ mã số và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Cho máu vào ống nghiệm 1	Tạo môi trường để cục máu co.	Máu được cho vào ống nghiệm 1 là 2 ml máu tĩnh mạch. Bơm máu nhẹ và từ từ để chảy vào thành ống nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu, để lắng huyết tương có màu vàng chanh. Bấm đồng hồ bấm giây khi máu bắt đầu tiếp xúc với thành ống nghiệm 1.
6	Cho máu vào ống nghiệm 2	Tạo môi trường để cục máu co.	Máu được cho vào ống nghiệm 2: 2 ml máu tĩnh mạch. Bơm máu nhẹ và từ từ để chảy vào thành ống nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu, để lắng huyết tương có màu vàng chanh.

7	Đề 2 ống nghiệm vào bình cách thủy	Đúng nhiệt độ cơ thể người	Nhiệt độ 37°C, trong 4 giờ
8	Đọc kết quả	Đánh giá đúng hiện tượng co cục máu.	Kết quả được đọc sau 2 giờ và sau 4 giờ. Có 4 mức độ: - Cục máu co hoàn toàn, co không hoàn toàn, không co, cục máu bị nát.
9	Nhận định kết quả	Đánh giá vai trò của tiểu cầu, số lượng và chất lượng của sợi huyết	- Bình thường: cục máu co hoàn toàn là cục máu bờ rõ ràng, phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50- 60% thể tích máu ban đầu, không có hồng cầu tự do hoặc bất thường (cục máu không co, cục máu bị nát, cục máu co không hoàn toàn). - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

*** Nhận định kết quả**

Tạo cục máu tách biệt rõ ràng và nổi lên trên. Phần trên cục máu dính vào thành ống. Phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50 đến 65% thể tích máu ban đầu.

Có hai cách để đánh giá kết quả:

* Dựa vào mức độ co của cục đông (co hoàn toàn, co không hoàn toàn, không co, cục đông bị tan).

- Cục máu co hoàn toàn

Tạo cục máu bờ rõ ràng, phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50- 60% thể

tích máu ban đầu, không có hồng cầu tự do

- Cục máu co không hoàn toàn

Khối máu hầu như bám dính hoàn toàn vào thành ống, không co hoặc co rất ít. Có thể có một ít huyết thanh được tiết ra.

Phần huyết thanh còn lại ít dưới 40% thể tích máu ban đầu hoặc còn hồng cầu tự do.

- Cục máu không co

Huyết tương vàng không tạo riêng phần huyết thanh ở trên và cặn hồng cầu lắng xuống đáy.

- Cục máu bị nát

Hầu hết cầu tự do trong huyết thanh. Máu nghèo sợi fibrin hoặc tăng tiểu cầu.

+ Dựa vào lượng hồng cầu tự do còn lại dưới đáy ống sau khi co và chia ra làm các mức độ: (+), (++) , (+++)

+ Tùy theo mức độ bệnh lý số lượng, chất lượng tiểu cầu hoặc sợi huyết sẽ gây nên tình trạng cục máu không co, co không hoàn toàn hoặc bị tan (hình.....)

* Nguyên nhân sai số

- Lượng máu lấy không đúng.

- Ống nghiệm không sạch, kích thước không đúng.

- Nhiệt độ bình cách thủy không đúng 37⁰ C.

2.2.2. Giai đoạn đông máu huyết tương

2.2.2.1. Kỹ thuật xác định thời gian máu đông

◆ Kỹ thuật xác định thời gian máu đông trên lam kính (phương pháp Millian)

* Nguyên tắc: Là thời gian thăm dò tốc độ của sự xuất hiện sợi huyết trong giọt máu.

* Tiến hành kỹ thuật: theo quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN MÁU ĐÔNG (PP MILLIAN)

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm

	Chuẩn bị hóa chất		giây, lam kính, đĩa petri, thùng đề vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế. - Cồn sát khuẩn
3	Chuẩn bị người bệnh - Kiểm tra đối chiếu người bệnh với phiếu yêu cầu xét nghiệm - Giải thích cho người bệnh	Tránh nhầm lẫn	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh trùng khớp thông tin như: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Người bệnh đồng ý hợp tác
4	Đánh số lam kính	Tránh nhầm lẫn	Đánh số lam kính 1 và lam kính 2
5	Xác định vị trí chích máu	Ít đau khi tiếp xúc.	Vị trí chích máu thường là đầu ngón tay áp út bàn tay trái, là vị trí ít tiếp xúc sau khi trích máu. Chọn vị trí da lành, không bị tổn thương.
6	Sát khuẩn vị trí chích máu	Đảm bảo an toàn cho người bệnh	Sát trùng sạch đầu ngón tay áp út của người bệnh, để khô tự nhiên
7	Chích máu và nhỏ máu lên lam kính	Lau bỏ giọt máu đầu là loại bỏ tiểu cầu. Hạn chế sự tác động của yếu tố nhiệt độ, độ ẩm lên kết quả kỹ thuật	Tạo vết chích bằng kim chích vô khuẩn ở đầu ngón tay: căng da và chích nhanh, loại bỏ giọt máu đầu. Nhỏ lên chính giữa mỗi lam kính 1 giọt máu có đường kính khoảng 0,3 cm. Dùng 2 đĩa petri đặt lên lam kính có giọt máu
8	Tính thời gian máu đông	Xác định đúng thời gian máu đông	Bấm giờ khi nhỏ máu lên lam kính thứ 2. Chờ khoảng 3 phút, sau đó quan sát lam kính thứ nhất, cứ 30 giây quan sát 1 lần. Khi giọt máu 1 đông thì

			nghiêm giọt máu thứ 2 lên quan sát nếu xuất hiện sợi huyết (xuất hiện hiện tượng giọt máu đông) ở lam kính thứ 2 thì bấm đồng hồ dừng lại. Ghi lại thời gian máu đông
9	Nhận định kết quả	Kết quả thời gian máu chảy bình thường hay bất thường.	- 5-10 phút là bình thường; > 10 phút là kéo dài. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

*** Nhận định kết quả**

- Trị số bình thường: 5 phút đến 10 phút.
- Kéo dài trên 10 phút là bất thường.

◆ Kỹ thuật xác định thời gian máu chảy trong ống nghiệm

- Nguyên lý: Thời gian từ khi máu tiếp xúc với bề mặt ống nghiệm đến khi hình thành cục máu đông là thời gian máu đông.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN MÁU ĐÔNG (PP LEE WHITE)

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục: đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn

2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bơm tiêm sử dụng 1 lần vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, ống nghiệm khô sạch, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế. + Cồn sát khuẩn
3	Chuẩn bị người bệnh - Kiểm tra đối chiếu người bệnh với phiếu yêu cầu xét nghiệm - Giải thích cho người bệnh	Tránh nhầm lẫn	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh trùng khớp thông tin như: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Người bệnh đồng ý hợp tác
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm không có chất chống đông	Tránh nhầm lẫn	Đánh số 2 ống nghiệm 1; 2 và ghi đầy đủ thông tin: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Cho máu vào ống nghiệm	Đủ máu để thực hiện kỹ thuật	Mỗi ống nghiệm cho 2 ml máu tĩnh mạch 2 ml
6	Bấm đồng hồ bấm giây	Đánh giá vai trò các yếu tố tiếp xúc	Bấm đồng hồ khi máu bắt đầu tiếp xúc với thành ống nghiệm số 1.
7	Đề 2 ống nghiệm vào bình cách thủy	Đúng nhiệt độ cơ thể người	Nhiệt độ 37°C, trong 3 phút
8	Đọc kết quả ống 1	Đánh giá các yếu tố tham gia vào quá trình đông máu	Đọc kết quả ống 1: Kiểm tra bằng cách nghiêng nhẹ ống 1 góc 45°. Cứ 30 giây nghiêng 1 lần cho đến khi máu đông hoàn toàn bằng cách dốc ống nghiệm, khối máu đông ko chảy xuống được.
9	Đọc kết quả ống 2	Đánh giá chính xác các yếu tố tham gia vào quá trình đông	Sau khi ống 1 đã đông, cứ sau 30 giây nghiêng ống 2 cho đến

		máu	khi đông hoàn toàn. Ghi lại kết quả bằng giây
10	Nhận định kết quả	Kết quả thời gian máu đông bình thường hay bất thường.	5-10 phút là bình thường; > 10 phút là kéo dài
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
12	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

* Nhận định kết quả

- Bình thường: 8-10 phút
- Trên 12 phút: bất thường.

Thời gian máu đông kéo dài khi có sự rối loạn đường đông máu nội sinh như bệnh Hemophilia, điều trị heparin...Phương pháp thực hiện trong ống chính xác hơn phương pháp trên kính.

Thời gian máu đông là xét nghiệm đơn giản, độ chính xác bị hạn chế dù đã được thực hiện đúng quy trình kỹ thuật.

* Nguyên nhân sai số

- Ống nghiệm không sạch.
- Nhiệt độ bình thường cách thủy không đúng.
- Kỹ thuật lấy máu sai: chọc hút nhiều lần, kim quá to...
- Lượng máu lấy ra quá nhiều hoặc quá ít.
- Kỹ thuật đọc độ đông không đảm bảo.

2.2.2.2. Kỹ thuật xác định thời gian Howell (thời gian phục hồi canxi)

* Nguyên lý

Quá trình đông máu sẽ bị ngừng do sự có mặt của Natricitrat ở giai đoạn cần ion CaCl_2 . Quá trình đông máu sẽ được tái lập với sự hiện diện của ion Ca^{2+} . Dựa vào

đặc tính này, người ta khảo sát thời gian đông của huyết tương sau khi cho thừa Calci để đánh giá đường đông máu nội sinh với sự có mặt của tiểu cầu

* Tiến hành theo Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN HOWELL

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Đồng hồ bấm giây, ống nghiệm thủy tính khô sạch, bình cách thủy, thùng rác thải y tế. - Cồn sát khuẩn, CaCl ₂ , Natri citrat 3,8%. + Huyết tương chứng giàu tiểu cầu.
	Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/ máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ly tâm ống bệnh phẩm hoặc để lắng	Huyết tương giàu tiểu cầu	Ly tâm 1000v/phút x 5 phút hoặc để lắng.
5	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm thủy tinh	Tránh nhầm lẫn	Đánh số ống nghiệm 1 (Ống chứng) và trên ống nghiệm 2 ghi đầy đủ thông tin người bệnh: Họ tên/ mã số và trùng với thông tin

			trên ống mẫu bệnh phẩm
6	Cho huyết tương vào ống nghiệm thủy tinh đã ghi đủ thông tin	Để thực hiện kỹ thuật	Ống nghiệm 1: 0,2 ml huyết tương chứng. Ống nghiệm 2: 0,2 ml huyết tương người bệnh.
7	Đổ ống nghiệm huyết tương và CaCl_2 vào bình cách thủy.	Đúng nhiệt độ của cơ thể	Nhiệt độ 37°C trong 5 phút
8	Cho CaCl_2 vào ống nghiệm 1. Bấm đồng hồ bấm giây	Xác định vai trò của Caci trong quá trình đông máu	CaCl_2 được hút bằng micropipette 0,2 ml, nhỏ vào ống huyết tương 1 và lắc đều để huyết tương và CaCl_2 tạo thành hỗn dịch. Bấm đồng hồ bấm giây đồng thời khi cho CaCl_2 vào ống nghiệm 1
9	Cho CaCl_2 vào ống nghiệm 2		Sau 15-30 giây thì cho 0,2 ml CaCl_2 M/40 vào ống nghiệm 2 và lắc đều để huyết tương và CaCl_2 tạo thành hỗn dịch.
10	Đọc kết quả.	Kết quả thời gian Howell.	Sau 1 phút nghiêng ống 1, cứ 30 giây sau lại nghiêng 1 lần cho đến khi đông chắc. Thì làm như vậy với ống nghiệm 2. Khi ống nghiệm 2 đông chắc thì bấm tắt đồng hồ và ghi kết quả.
11	Nhận định kết quả	Kết quả thời gian Howell đánh giá con đường đông máu nội sinh.	- Mẫu chứng nằm trong khoảng: 1 phút 15 giây đến 2 phút 30 giây. Nếu ngoài khoảng thì kiểm tra lại dụng cụ, hóa chất, kỹ thuật thực hiện. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần

12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

*** Nhận định kết quả**

- Thời gian Howell bình thường từ 1 phút 15 giây đến 2 phút 30 giây. Trị số này có thể thay đổi từng phòng xét nghiệm.
- Nếu thời gian Howell của ống chứng nằm ngoài giá trị trên thì phải kiểm tra lại thuốc thử, kỹ thuật và máu chứng.
- Thời gian Howell kéo dài trong các trường hợp bệnh lý có rối loạn đường đông máu nội sinh do thiếu hụt các yếu tố đông máu (như bệnh Hemophilia) hoặc do các kháng đông lưu hành hoặc do điều trị heparin.
- Thời gian Howell là một xét nghiệm đơn giản nhưng độ chính xác không cao vì vậy hiện nay nhiều phòng xét nghiệm đã áp dụng xét nghiệm APTT thay cho thời gian Howell để đánh giá đường đông máu nội sinh.

*** Nguyên nhân sai lầm**

- Ống nghiệm bẩn, không đúng kích thước.
- Nhiệt độ bình cách thuỷ không đủ 37°C.
- Chất lượng CaCl₂ M/40.
- Mẫu huyết tương được chuẩn bị sai: không đúng chất chống đông, tỷ lệ chống đông, ly tâm mạnh.

2.2.2.3. Kỹ thuật xác định thời gian prothrombin (thời gian Quick, PT)

*** Nguyên lý**

Máu sau khi chống đông bằng natri citrat 3,8%, quá trình đông theo đường ngoại sinh sẽ được khởi động lại khi được bổ sung ion CaCl₂ và thromboplastin.

*** Tiến hành theo quy trình kỹ thuật**

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN PT

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
-----	----------	---------	------------

1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet tự động, thùng rác thải y tế. + Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín. CaCl ₂ M/40, Thromboplastin Calci. - Huyết tương chứng nghèo tiểu cầu
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm thủy tinh	Tránh nhầm lẫn	Đánh số ống nghiệm 1 (ống chứng) và ống nghiệm 2 ghi đầy đủ thông tin người bệnh: Họ tên/ mã số và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Cho huyết tương chứng và huyết tương nghèo tiểu cầu vào 2 ống nghiệm	Đủ lượng huyết tương để thực hiện kỹ thuật	Ống nghiệm số 1: 0,2ml huyết tương chứng. Ống nghiệm số 2: 0,2 ml huyết tương của người bệnh.

	thủy tinh đã ghi đủ thông tin		
6	Đề nhiệt độ 37°C	Nhiệt độ tối ưu để khởi động quá trình đông máu	Hai ống nghiệm số 1 và 2 được ủ 37°C x 5 phút.
7	Cho Thromboplastin calci vào ống số 1 Bấm đồng hồ tính giờ.	Khởi động con đường đông máu ngoại sinh	Cho 0,2 ml thromboplastin calci vào ống 1 (ống chứng), bấm đồng hồ tính giờ. Trộn đều thromboplastin calci trong bình cách thủy 37°C.
8	Quan sát màng đông của ống chứng	Theo dõi quá trình đông.	Sau 9 giây đảo nhẹ và quan sát nhanh thấy màng đông bám đồng hồ dừng lại. Ghi lại thời gian
9	Cho thromboplastin calci vào ống số 2 (ống người bệnh). Bấm đồng hồ tính giờ.		Cho 0,2 ml thromboplastin calci vào ống nghiệm 2, bấm đồng hồ tính giờ. Trộn đều thromboplastin calci trong bình cách thủy 37°C
10	Quan sát màng đông của ống người bệnh	Theo dõi quá trình đông.	Sau 9 giây đảo nhẹ và quan sát nhanh thấy màng đông bám đồng hồ dừng lại. Ghi lại thời gian
11	Đọc kết quả và nhận xét kết quả	Nhận định đúng kết quả	Bình thường 11- 13 giây Mẫu của người bệnh kéo dài hơn so với mẫu chứng >2 giây là bệnh lý - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay

13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm
----	-------------	---	------------------------------------

* Nhận định kết quả

Tùy theo loại thuốc thử sử dụng.

- Trị số bình thường từ 11 đến 13 giây khi sử dụng thromboplasbin có hoạt tính đầy đủ. Kéo dài hơn huyết tương chứng 2 giây là bệnh lý.

- Kết quả có thể biểu thị bằng thời gian (giây) hoặc bằng phần trăm.

- Ngày nay, để tránh những sai sót kết quả do các loại thromboplastin khác nhau, Ủy ban chuẩn hóa quốc tế của Tổ chức y tế thế giới yêu cầu mỗi loại thromboplastin phải ghi rõ I.S.I (chỉ số độ nhạy quốc tế). Từ đó tính ra chỉ số hiệu chỉnh quốc tế INR.

$$\text{INR} = (\text{PT bệnh} / \text{PT chứng})^{\text{ISI}}$$

* Biện luận

Thời gian Quick khảo sát con đường đông máu ngoại sinh gồm các yếu tố đông máu VII, X, V, II và I.

Thời gian Quick kéo dài trong các trường hợp rối loạn đường đông máu ngoại sinh như:

- Thiếu hụt các yếu tố: VII, X, V, II, I.
- Dùng thuốc chống đông dicumaron.
- Điều trị thuốc chống đông kháng vitamin K.
- Suy gan.

* Nguyên nhân sai số

- Sai tỷ lệ chống đông, có hiện tượng đông dây ở mẫu bệnh phẩm.
- Tiến hành kỹ thuật sau 4 giờ kể từ khi lấy máu với mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.
- Do chất lượng thromboplastin không đảm bảo hoặc sử dụng thromboplastin đã bảo quản lâu sau khi pha chế.

2.2.2.4. Kỹ thuật xác định thời gian APTT (activated partial thromboplastin time) còn gọi là thời gian cephalin-kaolin.

* Nguyên lý

Đánh giá thời gian phục hồi CaCl_2 của huyết tương citrat hóa bằng cách ủ với một lượng thừa Kaolin và cephalin. Kaolin có tác dụng hoạt hóa yếu tố tiếp xúc. Cephalin thay thế yếu tố 3 của tiểu cầu. Xét nghiệm này giúp đánh giá chính xác các yếu tố khác đường đông máu nội sinh.

* Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN APTT

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet tự động, thùng rác thải y tế. - Natricitrat 3,8%, cephalin-Kaolin, CaCl ₂ 0,025M, nước cất + Huyết tương chứng nghèo tiểu cầu
	Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/ máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Đánh dấu 2 ống nghiệm thủy tinh: ống chứng và ống huyết tương người bệnh	Tránh nhầm lẫn	Đánh số ống nghiệm 1 (ống chứng) và ống 2 (ống của người bệnh), ghi đủ thông tin của người bệnh, tên, mã số

5	Cho huyết tương chứng và huyết tương nghèo tiểu cầu vào 2 ống nghiệm thủy tinh đã ghi đủ thông tin	Đủ lượng huyết tương để thực hiện kỹ thuật	Cho vào ống nghiệm 1: 0,1 ml huyết tương chứng Ống nghiệm 2: 0,1 ml huyết tương của người bệnh.
6	Nhỏ Cephalin – kaolin vào ống huyết tương và lắc trộn	Khởi động con đường đông máu nội sinh	0,1 ml Cephalin – kaolin được nhỏ lần lượt vào 2 ống nghiệm trong bình cách thủy trong 3 phút. Lắc trộn đều
7	Cho CaCl_2 0,025M vào ống nghiệm 1 (ống chứng) và bấm giờ	Quá trình đông máu sẽ tiếp tục sau khi có Ca^{2+} .	Cho 0,1 ml CaCl_2 0,025M, vào ống nghiệm 1 và cứ 15 giây lại nghiêng ống nghiệm 1 lần, bấm đồng hồ dừng ngay khi thấy ống nghiệm 1 đông lại. Ghi thời gian
8	Cho CaCl_2 0,025M vào ống nghiệm 2 (ống người bệnh) và bấm giờ	Quá trình đông máu sẽ tiếp tục sau khi có Ca^{2+} .	Cho 0,1 ml CaCl_2 0,025M, vào ống nghiệm 2 và cứ 15 giây lại nghiêng ống nghiệm 1 lần, bấm đồng hồ dừng ngay khi thấy ống nghiệm 2 đông lại. Ghi thời gian
9	Đọc và nhận định kết quả	Kết quả thời gian APTT bình thường hay bất thường.	- Bình thường: 30-35 giây với huyết tương chứng - Kéo dài: khi thời gian đông của mẫu bệnh nhân hơn mẫu chứng 8 giây - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định.

			- Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

*** Nhận định kết quả**

Tùy theo loại thuốc thử sử dụng, trị số bình thường của APTT thay đổi từ 25 - 30 giây so với huyết tương chứng.

Kéo dài hơn huyết tương chứng 8 giây là thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa kéo dài.

*** Biện luận**

- Đường đông máu nội sinh gồm các yếu tố đông máu tham gia như: XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I và các yếu tố tiếp xúc.

- APTT kéo dài do:

+ Giảm tiêu cầu nặng.

+ Thiếu hụt các yếu tố thuộc đường đông máu nội sinh: IX, VIII, X, V, II, I

+ Có chất kháng đông lưu hành.

+ Đang điều trị bằng heparine.

+ Suy gan nặng

*** Nguyên nhân sai số**

- Thời gian ủ không đủ.

- Không trộn đều thuốc thử Cephalin - Kaolin trước khi sử dụng. Vì Kaolin rất dễ lắng xuống đáy ống nghiệm.

- Sai tỷ lệ chống đông, có hiện tượng đông dây ở mẫu bệnh phẩm.

- Tiến hành kỹ thuật sau 4 giờ kể từ khi lấy máu với mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.2.2.5. Kỹ thuật xác định thời gian thrombin (TT = Thrombin time)

*** Nguyên lý**

Đông máu huyết tương dù nội sinh hay ngoại sinh đều tạo ra thromboplastin để chuyển prothrombin thành thrombin. Khi có thrombin thì fibrinogen sẽ chuyển thành fibrin để tạo cục đông. Thời gian thrombin là thời gian đông khi cho thrombin vào huyết tương. Mục đích xét nghiệm này là đánh giá fibrinogen - yếu tố cuối cùng của đông máu.

*** Ý nghĩa**

Kết quả phải so với chứng bình thường, thông thường khoảng 14 - 16 giây. Khi TT bệnh nhân kéo dài hơn TT của chứng 5 giây được gọi là TT kéo dài. TT kéo dài

là do thiếu fibrinogen hoặc phân tử fibrinogen bất thường. TT còn kéo dài do có mặt heparin hay một số chất trung gian như PDF.

* Quy trình kỹ thuật

* Nguyên nhân sai số

2.2.2.6. Kỹ thuật định lượng Fibrinogen

* Nguyên lý

Cho thrombin vào huyết tương, huyết tương sẽ đông và thời gian đông tùy thuộc vào lượng fibrinogen. Dựa trên cơ sở đó người ta pha dung dịch fibrinogen chuẩn ở các nồng độ khác nhau rồi cho thêm thrombin. Kết quả lần xét nghiệm này sẽ tạo được một đường cong nồng độ fibrinogen - thời gian.

Huyết tương bệnh nhân được pha loãng và xét nghiệm thời gian đông với thrombin rồi đối chiếu đường cong chuẩn sẽ biết nồng độ fibrinogen.

- Quy trình kỹ thuật

* Nhận định kết quả

Kết quả bình thường từ 2 - 5g/l

Fibrinogen tăng trong viêm nhiễm.

Fibrinogen giảm có thể do tiêu thụ (đông máu rải rác), tiêu fibrin (tiêu sợi huyết), hay mắc bệnh không có fibrinogen.

* Nguyên nhân sai số

2.2.3. Giai đoạn tiêu sợi huyết

2.2.3.1. Kỹ thuật định lượng D- Dimer huyết tương

- Nguyên lý

- Quy trình kỹ thuật

- Nhận định kết quả

- Nguyên nhân sai số

2.2.3.2. Kỹ thuật định lượng Plasminogen

- Nguyên lý

- Quy trình kỹ thuật

- Nhận định kết quả

- Nguyên nhân sai số

2.2.3.3. Kỹ thuật định lượng alpha2- antiplasmin

- Nguyên lý

- Quy trình kỹ thuật

- Nhận định kết quả

- Nguyên nhân sai số

Tự lượng giá: câu hỏi trắc nghiệm

LƯỢNG GIÁ

Khoanh tròn vào chữ cái đầu tiên chỉ câu trả lời đúng nhất

1. Để hình thành đỉnh cầm máu Hayem tiêu cầu phải trải qua các giai đoạn
 - A. Dính, ngưng tập.
 - B. Dính, ngưng tập, giải phóng.
 - C. Ngưng tập, dính, giải phóng.
 - D. Dính, giải phóng, ngưng tập.
 - E. Dính, giải phóng, ngưng tập, dính không hồi phục.
2. Yếu tố nào sau đây có tên là yếu tố chống Hemophilie A?
 - A. Yếu tố II.
 - B. Yếu tố V.
 - C. Yếu tố VII.
 - D. Yếu tố VIII.
 - E. Yếu tố IX.
3. Yếu tố nào sau đây có tên là yếu tố chống Hemophilie B?
 - A. Yếu tố VIII.
 - B. Yếu tố IX.
 - C. Yếu tố XII.
 - D. Yếu tố XI.
 - E. Yếu tố VII.
2. Yếu tố nào sau đây có tên là yếu tố chống Hemophilie C?
 - A. Yếu tố IX.
 - B. Yếu tố XII.
 - C. Yếu tố XI.
 - D. Yếu tố VIII.
 - E. Yếu tố II.
5. Yếu tố nào sau đây không tham gia vào con đường đông máu nội sinh?
 - A. Yếu tố VII.
 - B. Yếu tố XII.
 - C. Yếu tố XI.
 - D. Yếu tố IX.
 - E. Yếu tố VIII.
3. Yếu tố nào sau đây không tham gia vào con đường đông máu ngoại sinh?

- A. Yếu tố VII.
 - B. Yếu tố tổ chức.
 - C. Canxi.
 - D. Yếu tố XI.
4. Nhóm các yếu tố tiếp xúc gồm:
- A. II, VII, IX, X.
 - B. XI, XII, prekallikrein, H.M.W.K.
 - C. IX, X, prekallikrein, H.M.W.K.
 - D. I, V, VIII, XIII.
5. Nhóm fibrinogen gồm các yếu tố:
- A. II, VII, IX, X.
 - B. XI, XII, prekallikrein, H.M.W.K.
 - C. IX, X, prekallikrein, H.M.W.K.
 - D. I, V, VIII, XIII.
6. Nhóm phụ thuộc vitamin K gồm
- A. II, V, VII, X.
 - B. II, VII, XI, XII.
 - C. II, VII, X, XII.
 - D. II, VII, IX, X.
7. Yếu tố VIII là yếu tố :
- A. Bị tiêu thụ trong quá trình đông máu.
 - B. Không có mặt trong huyết tương lưu trữ.
 - C. Cần gắn với Von Willebrand để ổn định.
 - D. Tất cả các đặc điểm trên.
11. Yếu tố IX là yếu tố:
- A. Bị tiêu thụ trong quá trình đông máu.
 - B. Tồn tại trong huyết tương lưu trữ.
 - C. Không có mặt trong huyết tương lưu trữ.
 - D. Cần gắn với Von Willebrand để ổn định.
12. Yếu tố có khả năng tạo liên hệ giữa đường nội sinh và ngoại sinh là:
- A. IX.
 - B. X.
 - C. IXa.
 - D. Xa.
 - E. XIa.

13. Thrombin là chất có khả năng
- A. Khuếch đại quá trình đông máu.
 - B. Gia tốc hình thành chính mình.
 - C. Gây ngưng tập tiểu cầu mạnh.
 - D. Giới hạn quá trình đông máu.
 - E. Tất cả các ý trên.
14. Yếu tố giúp ổn định sợi huyết là
- A. XIII.
 - B. XII.
 - C. XIIIa.
 - D. XIIa.
 - E. XIa.
15. Cục sợi huyết có thể co lại là nhờ
- A. Fibronectin.
 - B. Plasminogen.
 - C. Actomyosin.
 - D. Alpha2 antiplasmin.
 - E. Fibrinogen.
16. Plasmin bị ức chế bởi:
- A. α_2 antiplasmin.
 - B. α_2 macroglobulin.
 - C. α_2 macroglobulin và α_2 antiplasmin.
 - D. PAI1.
 - E. Tất cả các chất trên.
17. Protein C và S có tính chất:
- A. Làm thoái hóa Va.
 - B. Làm thoái hóa VIII:C.
 - C. Sinh ra từ gan.
 - D. Phụ thuộc vitamin K.
 - E. Tất cả các ý trên.
18. Thiếu protein C và S có thể gây ra
- A. Bệnh Hemophilie.
 - B. Chảy máu nhiều nơi.
 - C. Huyết khối.
 - D. Vừa huyết khối vừa chảy máu.

19. Xét nghiệm dây thắt được dùng để đánh giá
- A. Yếu tố đông máu nội sinh
 - B. Yếu tố đông máu ngoại sinh
 - C. Fibrinogen
 - D. Thành mạch và tiêu cầu.
20. Xét nghiệm thời gian máu chảy được coi là bình thường khi kết quả:
- A. Dưới 5 phút
 - B. Dưới 3 phút
 - C. Dưới 7 phút
 - D. Dưới 9 phút
21. Bệnh nhân giảm số lượng tiểu cầu sẽ có xét nghiệm co cục máu là:
- A. Co hoàn toàn
 - B. Co không hoàn toàn
 - C. Không co
 - D. Không co hoặc co không hoàn toàn
22. Thời gian Howell là xét nghiệm sử dụng huyết tương:
- A. Chống đông bằng citrat
 - B. Chống đông bằng heparin
 - C. Chống đông bằng citrat hoặc heparin
 - D. Chống đông bằng bất cứ chất nào.
23. Xét nghiệm PT dùng để thăm dò hoạt tính các yếu tố đông máu
- A. Theo đường ngoại sinh
 - B. Theo đường nội sinh
 - C. Chung
 - D. và yếu tố cầm máu
24. Có thể sử dụng xét nghiệm APTT để
- A. Theo dõi điều trị chống đông bằng heparin tiêu chuẩn
 - B. Theo dõi điều trị chống đông bằng kháng vitamin K
 - C. Thăm dò đông máu ngoại sinh
 - D. Theo dõi điều trị bằng aspirin
25. huyết tương bình thường rồi xét nghiệm, PT vẫn kéo dài, như vậy có thể coi bệnh nhân
- A. có kháng đông nội sinh
 - B. có kháng đông ngoại sinh
 - C. không có kháng đông

D. có kháng đông nội và ngoại sinh

26. Để định lượng yếu tố II thì phải dùng thuốc thử không có yếu tố II để xét nghiệm:

A. PT

B. TT

C. APTT

D. Định lượng fibrinogen

BÀI 2. KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày nguyên tắc, quy trình và nhận định kết quả của các kỹ thuật xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO và Rh

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được quy trình định nhóm máu hệ ABO và Rh bằng 2 phương pháp (hồng cầu mẫu và huyết thanh mẫu) của 3 kỹ thuật trên phiến đá, ống nghiệm và gelcarrd.

- Đọc và giải thích được hệ nhóm máu ABO và Rh trong 1 số tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.

- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.

NỘI DUNG

1. Đại cương

Thành phần hữu hình của máu là hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu, gọi là các tế bào máu. Các tế bào máu có chức năng khác nhau nhưng đều có màng tế bào.

Trên màng có các protein kết hợp với đường tạo nên glycoprotein, các protein này có tính kháng nguyên nhưng không đồng nhất giữa người này với người khác mà có từng nhóm người giống nhau. Những người có kháng nguyên giống nhau đó gọi là cùng nhóm kháng nguyên hay cùng nhóm máu.

Trên màng tế bào có rất nhiều loại protein - như vậy có rất nhiều hệ thống nhóm máu và có các hệ thống nhóm hồng cầu, các hệ thống nhóm bạch tiểu cầu, các hệ thống nhóm kháng nguyên huyết tương.

Hồng cầu là loại tế bào chiếm số lượng lớn nhất trong máu. Đến nay người ta đã xác định hàng chục hệ nhóm máu khác nhau của hồng cầu và tương ứng có trên 200 kháng nguyên. Trong các hệ thống nhóm hồng cầu thì hệ ABO được coi là quan trọng nhất. Ngoài ra còn có nhiều hệ kháng nguyên khác.

1.1. HỆ NHÓM MÁU ABO

1.1.1. Lịch sử phát triển và đặc điểm hệ nhóm máu ABO

- Năm 1900 Karl-Landsteiner đã trộn huyết thanh người này với hồng cầu người khác, ông đã phát hiện ra 3 nhóm người khác nhau, đó là:

- Nhóm A: Có kháng nguyên A trên hồng cầu và trong huyết thanh có yếu tố ngưng

kết hồng cầu người nhóm B.

- Nhóm B: Có kháng nguyên B trên hồng cầu và trong huyết thanh có yếu tố làm ngưng kết hồng cầu nhóm A.

- Nhóm O: Không có kháng nguyên A, kháng nguyên B trên hồng cầu, nhưng trong huyết thanh có yếu tố làm ngưng kết cả hồng cầu người nhóm A và hồng cầu người nhóm B.

Một năm sau đó Decastello phát hiện ra nhóm máu thứ 4 có đặc điểm là: trên hồng cầu có cả kháng nguyên A và kháng nguyên B. Trong huyết thanh không có yếu tố làm ngưng kết hồng cầu của người nhóm A và B.

Như vậy có thể tóm tắt đặc điểm hệ nhóm máu ABO:

- Nhóm máu ABO được hình thành dựa trên 2 kháng nguyên là kháng nguyên A và kháng nguyên B.

- Tên của nhóm máu là tên của kháng nguyên có mặt trên hồng cầu.

- Trên hồng cầu không có kháng nguyên nào thì trong huyết thanh có kháng thể chống lại kháng nguyên đó. Sự có mặt kháng thể này là tự nhiên, hằng định. Phân bố nhóm máu ở Việt Nam như sau (bảng 1):

Bảng 1: Tóm tắt đặc điểm và tỷ lệ các nhóm máu hệ ABO

Nhóm	KN trên HC	KT trong HT	Tỷ lệ
A	A	chống B	21,2
B	B	chống A	30,1
O		chống A, chống B	42,1
A-B	A và B	Không có	6,6

1.1.2. Kháng nguyên hệ ABO

1.1.2.1. Kháng nguyên H

Trước đây coi người nhóm O là người không có kháng nguyên A và không có kháng nguyên B. Vì vậy hồng cầu người nhóm O sẽ không bị ngưng kết bởi huyết thanh của người khác.

Nhưng năm 1952 tại thành phố Bombay người ta phát hiện người có nhóm máu đặc biệt đó là: hồng cầu không bị ngưng kết bởi kháng thể chống A và kháng thể chống B. Nhưng huyết thanh của họ lại có thể ngưng kết hồng cầu của tất cả những người khác, không những là nhóm A, nhóm B mà cả hồng cầu người nhóm O khác; nhóm máu này gọi nhóm Bombay.

Tiếp tục nghiên cứu người ta thấy thực chất người nhóm O tuy không có kháng nguyên A và kháng nguyên B nhưng họ có kháng nguyên H.

Kháng nguyên H do cặp gen Hh quy định, cặp gen này độc lập với gen ABO, tuy

nhiên lại có liên hệ mật thiết với nhau trong việc thể hiện của kháng nguyên A và kháng nguyên B.

Các kháng nguyên trên màng hồng cầu là glycoprotein có các nhóm kháng nguyên đặc trưng. Người có gen H sẽ tổng hợp được một enzym để gắn một nhóm fucoza vào chất cơ bản tạo nên kháng nguyên H.

Khi có kháng nguyên H thì gen A và gen B sẽ làm khuôn mẫu để tổng hợp enzym chuyển 1 nhóm chức vào chất H và tạo nên kháng nguyên A và kháng nguyên B.

Như vậy chất H (kháng nguyên H) là chất tiền thân để gen A thể hiện kháng nguyên A, gen B thể hiện kháng nguyên B.

Người nhóm máu Bombay là người có kiểu gen hh, do vậy không có kháng nguyên H. Cũng giống như hệ ABO, người không có kháng nguyên H sẽ có kháng thể tự nhiên chống H. Tất nhiên người này sẽ không có kháng nguyên A và kháng nguyên B, do vậy họ cũng có kháng thể chống A, kháng thể chống B.

Kháng nguyên H không chỉ có mặt ở hồng cầu người nhóm O mà có mặt ở hồng cầu người nhóm A, B, AB. Tuy nhiên tính kháng nguyên (mức độ ngưng kết với kháng thể) mạnh nhất ở người nhóm O.

Mặc dù cặp gen Hh di truyền độc lập với gen ABO nhưng do thể hiện kháng nguyên A, B phụ thuộc vào kháng nguyên H do vậy người ta nghiên cứu chung các kháng nguyên này gọi là kháng nguyên ABH.

1.1.2.2. Kháng nguyên A và B yếu

** Nhóm A1, A2 và A yếu*

- *Nhóm A1, A2:* Người ta thấy có người nhóm máu A nhưng khi xét nghiệm thấy hồng cầu của họ ngưng kết yếu với kháng thể chống A so với người nhóm A bình thường. Đặc biệt trong huyết thanh của một số người này có kháng thể chống lại hồng cầu A bình thường. Người ta gọi nhóm A bình thường là nhóm A1, người ngưng kết yếu này là nhóm A2.

Như vậy chúng ta có nhóm A1, A2, A1B, A2B. Khi nghiên cứu các chất trong tự nhiên có thể làm ngưng kết hồng cầu người ta thấy chất chiết từ đậu có tên dolichobiflorus có khả năng làm ngưng kết hồng cầu người nhóm A1, không làm ngưng kết hồng cầu người nhóm A2.

Những người mang kháng nguyên A2 có thể có kháng thể tự nhiên chống A1 nhưng hiệu giá thấp (khoảng 1% người nhóm A2, 25% người nhóm A2B có kháng thể tự nhiên chống A1). Tuy nhiên nếu những người A2 được truyền máu A1 có thể sinh kháng thể miễn dịch chống A1.

- *A yếu:*

Ngoài nhóm A2 kể trên người ta còn gặp nhiều người có hồng cầu mang kháng nguyên A yếu. Tức là ngưng kết yếu, khó phát hiện với kháng thể chống A, hoặc ngưng kết một phần, hoặc lâu mới thể hiện. Trong huyết thanh những người này có thể có kháng thể làm ngưng kết hồng cầu A.

Phát hiện A yếu ở những người này thường bằng phương pháp cố định và tách với kháng thể chống A. Tức là lấy hồng cầu của họ ủ với kháng thể chống A rồi sau đó rửa đi, bỏ hết dịch rửa và dùng một số chất để tách kháng thể đã cố định trên hồng cầu. Nếu dịch tách có kháng thể chống A tức là hồng cầu người này có kháng nguyên A.

** Nhóm B yếu*

Tương tự các hồng cầu A yếu, người ta cũng đã gặp những người có hồng cầu mang kháng nguyên B nhưng ngưng kết yếu với kháng thể chống B. Có nhiều loại nhóm B yếu ở các mức độ khác nhau. Một số người có thể có kháng thể chống B.

1.1.2.3. Vị trí kháng nguyên trên hồng cầu:

Các phần trên chúng ta nói đến tính đặc hiệu của kháng nguyên tạo ra nhiều loại nhóm máu khác nhau. Tuy nhiên nghiên cứu sâu thêm người ta thấy số lượng vị trí kháng nguyên trên hồng cầu (vị trí kết hợp với kháng thể đặc hiệu tương ứng) không giống nhau giữa các loại nhóm máu.

Số lượng vị trí kháng nguyên A nhiều nhất ở hồng cầu người nhóm máu A1 rồi A2 rồi các A yếu.

Số lượng vị trí kháng nguyên H nhiều nhất ở người nhóm O rồi đến A và B yếu, ít nhất ở người A1.

Những người mang nhóm máu A yếu, B yếu là những người có ít vị trí kháng nguyên A và B trên hồng cầu.

Số lượng vị trí kháng nguyên trên hồng cầu cơ bản là hằng định tuy cùng thay đổi theo quá trình phát triển của cá thể: lúc mới sinh (trẻ sơ sinh) số lượng vị trí kháng nguyên ít hơn, sau đó tăng dần và thể hiện đầy đủ ở hồng cầu trẻ 3 tuổi. Khi về già số lượng vị trí kháng nguyên trên hồng cầu cũng giảm đi.

1.1.2.4. Biến đổi kháng nguyên trong cuộc sống

Bình thường tính kháng nguyên (nhóm máu) là không đổi. Tuy nhiên có một số trường hợp bệnh lý hồng cầu thay đổi tính kháng nguyên.

- Trong một số bệnh ác tính: Trong một số trường hợp bệnh nhân u lympho, loxêmi cấp, người ta thấy có trường hợp hồng cầu người nhóm A nhưng khi bị bệnh thì không còn ngưng kết với kháng thể chống A nữa. Những người này nếu được điều trị đạt lui bệnh thì hồng cầu lại có kháng nguyên A.

Hiện tượng này được giải thích là do bệnh ác tính có bất thường di truyền, các đột biến ảnh hưởng tới gen A làm không thể hiện được kháng nguyên A. Khi bệnh ổn định thì gen bình thường lại hoạt động thể hiện được tính kháng nguyên.

- Kháng nguyên B “thu hoạch được”

Một số người nhóm máu A nhưng khi bị một số bệnh nhất là nhiễm khuẩn E-choli thì tự nhiên hồng cầu lại bị ngưng kết với kháng thể chống B. Người ta cho là một số vi khuẩn có thể tiết ra một số enzym mang nhóm chức kháng nguyên B lên nhóm chức kháng nguyên A trên màng hồng cầu làm cho hồng cầu “nhiễm” kháng nguyên B.

1.1. 2.5. Thể hiện kháng nguyên ABH và kháng nguyên hoà tan.

Kháng nguyên ABH có mặt trên hồng cầu và nhiều tế bào khác của cơ thể ứng với kháng nguyên có mặt trên hồng cầu, trừ tế bào thần kinh, võng mạc. Ngoài ra trong tự nhiên cũng có một số chất có tính kháng nguyên ABH như ở dạ dày ngựa có chất kháng nguyên A.

Kháng nguyên hoà tan: Người ta thấy ở khoảng 80% người da trắng, trong dịch tiết (nước bọt, nước báng) có chất kháng nguyên ABH tương tự với kháng nguyên trên hồng cầu. Chất kháng nguyên này có đặc điểm là làm trung hoà các kháng thể đặc hiệu tương ứng.

Sở dĩ có chất kháng nguyên này là do tế bào niêm mạc cũng mang gen ABH và tiết ra kháng nguyên.

1.1.3. Di truyền nhóm máu abo

Sự có mặt kháng nguyên trên hồng cầu quyết định nhóm máu. Các kháng nguyên đó lại do gen quyết định. Người ta thấy có 3 gen là alen của nhau quy định nhóm máu hệ ABO là gen A, gen B và gen O. Trong đó gen A và gen B là cùng trội so với gen O. Người có gen A sẽ thể hiện kháng nguyên A, người có gen B sẽ thể hiện kháng nguyên B. Người không có gen A và gen B (kiểu gen là OO) sẽ không có kháng nguyên A và B, đó là người nhóm O. Tóm tắt kiểu gen (tổ hợp gen trên nhiễm sắc thể tương đồng) và kiểu hình (thể hiện là nhóm máu) ở bảng 2.

Bảng 2: Kiểu gen và kiểu hình (nhóm máu, hệ ABO)

Các kiểu gen	Kiểu hình (nhóm máu)
AA AO	A
BB BO	B
AB	AB

OO	O
----	---

Khi sinh ra thể hệ sau thì các gen phân ly độc lập và tổ hợp ngẫu nhiên theo định luật Mendel để kiểu gen ở người con được hình thành từ 1 gen của bố và 1 gen của mẹ.

- Trường hợp người nhóm Bombay có thể có kiểu gen AA, BB, hoặc AB vẫn không có kháng nguyên A và B. Sở dĩ như vậy là do không có chất H để làm chất cơ sở hình thành kháng nguyên A và B.

1.1.4. Kháng thể

1.1.4.1. Kháng thể tự nhiên: Đặc điểm nổi bật nhất của hệ nhóm máu ABO là sự có mặt của kháng thể tự nhiên chống A và chống B.

Người nào trên hồng cầu không có kháng nguyên A thì trong huyết thanh có kháng thể chống A, trên hồng cầu không có kháng nguyên B thì trong huyết thanh có kháng thể chống B. Các kháng thể tự nhiên này xuất hiện mà không có một sự kích thích miễn dịch cụ thể nào và tồn tại một cách hằng định, tồn tại suốt đời. Kháng thể tự nhiên xuất hiện ngay sau sinh, tăng dần hiệu giá và đạt tối đa lúc khoảng 5 - 10 tuổi rồi hằng định đến lúc già thì giảm dần.

Kháng thể tự nhiên có bản chất là IgM, làm ngưng kết rất mạnh các hồng cầu có kháng nguyên tương ứng và có thể hoạt động tốt cả ở nhiệt độ 4°C, 22°C, trong môi trường muối. Dù vậy ở trong cơ thể kháng thể tự nhiên cũng ngưng kết hồng cầu mạnh và gây tan máu. Kháng thể tự nhiên không qua được hàng rào rau thai.

Khi so sánh hiệu giá kháng thể tự nhiên chống A, chống B theo nhóm máu thì thấy người nhóm máu O có hiệu giá kháng thể chống A và chống B cao hơn hiệu giá kháng thể chống A ở người nhóm B và hiệu giá kháng thể chống B ở người nhóm A.

1.1.4.2. Kháng thể miễn dịch

Bên cạnh kháng thể tự nhiên chống A, chống B, còn có kháng thể miễn dịch. Kháng thể miễn dịch xuất hiện ở người không có kháng nguyên A và hoặc B được kích thích kháng nguyên A hay B.

- Hoàn cảnh xuất hiện: Xuất hiện kháng thể miễn dịch sau các kích thích kháng nguyên đồng loài hay khác loài.

- Đồng loài: Có thể do truyền nhầm nhóm máu, ví dụ truyền máu A cho B hay O.

Thường khoảng sau 2 tuần kháng thể miễn dịch xuất hiện. Cũng có thể do bất đồng nhóm máu mẹ con. Người mẹ mang thai, thai nhi có kháng nguyên A hay B nhưng người mẹ không có. Khi chuyển dạ có một ít máu con vào mẹ kích thích miễn dịch ở mẹ. Tuy nhiên tỷ lệ này không nhiều.

+ Có thể do miễn dịch khác loài. Như ta biết là trong tự nhiên có một số chất có tính

kháng nguyên A hay B, như chất tiết ở dạ dày lợn, hay một số kháng huyết thanh sản xuất từ máu ngựa có tính kháng nguyên A. Những chất này vào cơ thể không có kháng nguyên A sẽ kích thích sinh kháng thể.

- Tính chất kháng thể miễn dịch (chống A và chống B)

+ Bản chất là IgG, do vậy có thể qua được rau thai vào máu thai.

+ Thường hoạt động tốt ở 37°C, có thể kết hợp bổ thể và gây tan máu.

+ Không bị huỷ ở 70°C, ít bị kháng nguyên hoà tan trung hoà.

+ Kháng thể miễn dịch xuất hiện thường cùng với kháng thể tự nhiên vốn đã có sẵn trong máu làm cho hiệu giá kháng thể tăng lên rất cao.

1.1.4.3. Một số chất giống kháng thể

Trong tự nhiên có một số chất có thể làm ngưng kết hồng cầu. Có những chất làm ngưng kết mọi hồng cầu như hemagglutinin chiết từ đậu đỏ. Một số chất khác có tính kháng thể vì có tính lựa chọn làm ngưng kết hồng cầu có kháng nguyên đặc hiệu. Ví dụ: Chất chống A1 lấy từ đậu *Dolichos biflorus*. Chất này làm ngưng kết mạnh hồng cầu A1 và A1B, có thể dùng để xác định nhóm A1 và A2.

+ Chất chống H: lấy từ máu của lợn nước lợ hoặc chiết từ đậu *ulex europaus*. Chất này làm ngưng kết mạnh hồng cầu nhóm O.

1.2. Ứng dụng hệ thống nhóm máu abo

1.2.1. Ứng dụng trong truyền máu

1.2.1.1. Định nhóm máu

Dựa trên đặc điểm nhóm máu hệ ABO là sự có mặt của kháng thể tự nhiên một cách hằng định. Kháng thể có mặt chứng tỏ không có kháng nguyên tương ứng trên hồng cầu, hoặc ngược lại, nếu không có kháng thể trong huyết thanh thì có thể suy ra là có kháng nguyên tương ứng trên hồng cầu. Nhờ vậy để định nhóm máu hệ ABO thì ngoài phương pháp huyết thanh mẫu (phương pháp chung cho định các nhóm máu) thì người ta còn sử dụng phương pháp hồng cầu mẫu. Hiện nay quy chế truyền máu có quy định phải tiến hành định nhóm máu hệ ABO bằng hai phương pháp là huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu.

1.2.1.2. Truyền máu hoà hợp hệ ABO

Nguyên tắc đảm bảo hoà hợp miễn dịch trong truyền máu là không để phản ứng kháng nguyên - kháng thể xảy ra trong cơ thể vì vậy cụ thể là (1) không đưa vào cơ thể kháng nguyên mà cơ thể có kháng thể tương ứng và (2) không đưa kháng thể vào cơ thể có kháng nguyên tương ứng. Như vậy đối chiếu với nhóm máu ABO thì chỉ có thể truyền máu toàn phần cùng nhóm. Tuy nhiên nguyên tắc (2) có thể xem xét với điều kiện: có thể truyền một đơn vị máu khác nhóm trong điều kiện cấp thiết

nhưng phải tôn trọng triệt để nguyên tắc (1). Có nghĩa là khi quá cần thiết có thể truyền máu toàn phần nhóm O cho người nhóm A, B, AB. Có thể truyền máu nhóm A hay B cho người AB. Nhưng chỉ được truyền 1-2 đơn vị. Sở dĩ có thể truyền như vậy vì kháng thể chống A, chống B vào cơ thể người nhận bị các kháng nguyên ở tế bào nội mạc, kháng nguyên hoà tan trong máu trung hoà đồng thời bị pha loãng nhiều vì vậy không gây ra phản ứng tan máu.

Hiện nay người ta đã tách riêng các thành phần máu với mục đích để bảo quản và sử dụng cho đúng bệnh nhân do vậy các chế phẩm hồng cầu: khối hồng cầu, hồng cầu rửa đã được loại bỏ kháng thể trong huyết thanh vì vậy có thể truyền cho người khác nhóm với nguyên tắc không có kháng thể tương ứng ở huyết thanh người nhận.

Ngược lại, các chế phẩm huyết tương được tách ra khỏi hồng cầu do vậy có thể truyền cho bệnh nhân khác nhóm hệ ABO, với nguyên tắc không đưa kháng thể vào cơ thể người nhận có kháng nguyên tương ứng. Có thể tóm tắt nguyên tắc hoà hợp hệ ABO ở bảng 3:

Bảng 3: Nguyên tắc lựa chọn chế phẩm máu hoà hợp hệ ABO

Loại chế phẩm	Nhóm máu người nhận	Người cho có thể là
Máu toàn phần	O	O
	A	A (O) (1)
	B	B (O) (1)
	AB	AB (O, A, B) (1)
- Khối hồng cầu (KHC)	O	O
- KHC nghèo bạch cầu	A	A, O
- Hồng cầu rửa	B	B, O
- Tiểu cầu	AB	AB, A, B, O
Huyết tương:	O	O, A, B, AB
HTTĐL	A	A, AB
HTĐL	B	B, AB
Tủa lạnh	AB	AB

Chú thích: (1) có thể truyền một đơn vị khi cấp cứu nếu không có máu cùng nhóm, không có chế phẩm khối hồng cầu.

- Để đảm bảo truyền máu hoà hợp ABO. Khi phát máu cho người bệnh bắt buộc phải thực hiện định nhóm máu hệ ABO cho người nhận (bệnh nhân) và định lại nhóm ở đơn vị máu, sau đó mới thực hiện phản ứng chéo ống 1 và ống 2, trong đó ống 1 là trộn hồng cầu đưa vào (người cho) với huyết thanh của bệnh nhân. Trường hợp có phản ứng ngưng kết thì không được truyền máu đó cho người bệnh.

1.2.1.3. Trường hợp nhóm máu A và B yếu

Một số trường hợp A và B yếu có kháng thể tự nhiên chống A và B thì khi định nhóm hoặc thực hiện phản ứng chéo để phát máu có thể phát hiện được (vì có ngưng kết ở ống 1)

Tuy nhiên, hầu hết các trường hợp này không có kháng thể tự nhiên (không làm ngưng kết hồng cầu A, hay B). Dù vậy khi truyền máu hết sức lưu ý vì có thể gây ra hiện tượng miễn dịch tiềm tàng.

Những người nhóm A2 và A yếu nếu được truyền máu A1 có thể sinh ra kháng thể chống A1. Lần truyền đầu không có phản ứng nhưng những lần sau truyền A1 có thể phản ứng. Vì vậy những trường hợp này nếu cần truyền máu nên chọn hồng cầu (khối hồng cầu, hồng cầu rửa) nhóm O.

- Trường hợp bệnh nhân có nhóm máu Bombay thì chỉ có thể nhận máu người nhóm Bombay (rất may là nhóm này vô cùng hiếm).

1.3. Các ứng dụng khác

1.3.1. Phát hiện cá thể, đặc tính di truyền (ứng dụng trong pháp y)

Nhóm ABO là hằng định suốt cuộc đời do vậy coi như một đặc điểm nhận dạng. Nhiều nước trên thế giới đã thể hiện nhóm máu ABO trong chứng minh thư.

Phát hiện nhóm máu trên các vết máu để lại hiện trường vụ án có thể giúp tìm hung thủ hay nạn nhân. Xác định nhóm máu có thể giúp tìm bố - con trong một số trường hợp.

1.3.2. Tan máu trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm ABO mẹ con

Người mẹ mang thai, thai nhi có kháng nguyên A hay B nhưng người mẹ không có. Nếu mẹ có kháng thể miễn dịch thì kháng thể ở người mẹ sẽ qua rau thai vào máu con và phá hủy hồng cầu con gây tan máu. Biểu hiện là thường đẻ non, sau đẻ trẻ vàng da, thiếu máu nặng.

Kháng thể miễn dịch chống A và B ở người mẹ nhóm O, chống B ở người mẹ nhóm A, chống A ở mẹ nhóm B đều có thể gây tan máu cho con nếu con có kháng nguyên tương ứng.

Kháng thể miễn dịch xuất hiện ở người mẹ là do lần mang thai trước cũng đã có bất đồng nhóm máu mẹ - con, khi chuyển dạ một ít hồng cầu con sang máu mẹ gây đáp ứng miễn dịch. Vì vậy bệnh tan máu trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm máu mẹ - con thường xuất hiện ở các lần sinh sau (con dạ). Tuy nhiên cũng có trường hợp người mẹ được truyền máu khác nhóm hay tiếp xúc với chất có kháng nguyên nên đã có kháng thể. Trường hợp này con sơ cũng có thể bị bệnh.

1.4. Nhóm máu Rh

Ngoài nhóm máu ABO đến nay người ta đã phát hiện được hàng chục hệ nhóm máu khác. Mỗi hệ thống có nhiều kháng nguyên có cách thể hiện và di truyền phức tạp.

Tuy không đặc biệt quan trọng như hệ ABO nhưng các hệ thống này có vai trò rất lớn trong việc an toàn truyền máu về mặt miễn dịch.

1.4.1. Hệ thống nhóm máu Rh

1.4.1.1. Kháng nguyên

** Kháng nguyên chính*

Đến nay người ta đã phát hiện được 5 kháng nguyên chính của hệ nhóm máu Rh, đó là kháng nguyên D, C, c, E, e

5 kháng nguyên này do 3 cặp alen (cặp gen) quy định là Dd, Cc, Ee, ba cặp gen này liền kề nhau trên nhiễm sắc thể.

Người có nhóm máu D gọi là người Rh(+) hay Rh(D+). Người không có kháng nguyên D trên hồng cầu gọi là người Rh(-) hay Rh (D-).

** Các kháng nguyên khác*

5 kháng nguyên trên là 5 kháng nguyên chính, phổ biến của hệ Rh, tuy nhiên người ta thấy còn nhiều kháng nguyên khác.

- Kháng nguyên D^u: Một số người có hồng cầu mang kháng nguyên D nhưng ngưng kết yếu với kháng thể chống D. Trong huyết thanh những người này có thể có kháng thể chống D. Kháng nguyên D trên hồng cầu những người này gọi là D yếu. Đó là những người có kháng nguyên Dⁿ. Có nhiều kiểu D^u khác nhau. Người ta cho rằng kháng nguyên Dⁿ là do đột biến gen D tạo mà nên.

- Kháng nguyên D một phần: có thể coi người mang kháng nguyên D một phần như mang D^u vì người ta cho rằng: Kháng nguyên D có nhiều phần tạo nên. Một cơ thể do bất thường về di truyền tạo nên kháng nguyên D không đầy đủ. Tuy vẫn có tính kháng nguyên trên hồng cầu nhưng những hồng cầu này cũng ngưng kết yếu với kháng thể chống D. Trong huyết thanh có thể có kháng thể chống lại phần kháng nguyên D mà hồng cầu không có.

Vì vậy với những người D^u, D một phần cần truyền máu người ta khuyên nên chọn máu D(-) (Rh âm) để truyền cho họ. Ngược lại nếu họ là những người cho máu thì phải coi là Rh(+) để chỉ truyền cho bệnh nhân Rh(+).

+ Kháng nguyên phối hợp: Do 3 cặp gen Dd, Cc, Ee liền kề nhau, nên khi phối hợp 2 gen liền kề có thể hiện thêm một kháng nguyên mới, ví dụ người có kiểu gen Dce ngoài việc có kháng nguyên D, c, e còn có thể có kháng nguyên f. Kháng nguyên f chỉ có mặt khi 2 gen c và e liền với nhau. Tương tự như vậy người có kiểu gen DC

thì ngoài việc có kháng nguyên D và kháng nguyên C còn có thể có kháng nguyên G.

- Kháng nguyên C biến tướng:

Có thể gặp người mang gen C bị biến đổi tạo nên một kháng nguyên khác như kháng nguyên C^w.

1.4.1.2. Di truyền nhóm máu Rh

Các kháng nguyên D, C, c, E, e cũng cho các gen D, C, c, E, e quy định. Sự phân bố các cặp gen Dd, Cc, Ee trên nhiễm sắc thể gọi là kiểu gen. Còn nhóm máu (kháng nguyên trên hồng cầu) gọi là kiểu hình,

Hiện nay chưa phát hiện kháng nguyên của gen d còn các gen khác đều cùng trội.

Kiểu gen và kiểu hình của các cặp gen Rh được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: Kiểu gen và các kháng nguyên chính hệ Rh

Các kiểu gen	Kháng nguyên trên HC
DD	D
Dd	
CC	C
Cc	C, c
Cc	C
EE	E
Ee	E, e
Ee	Ee

Do 3 vị trí gen D, C, E liên kề nhau nên khi truyền từ bố mẹ sang con các tổ hợp gen thường liên kết với nhau. Ví dụ, ở người bố có tổ hợp gen là DCE/dcE thì khi phân ly thành giao tử và hình thành hợp tử gen D sẽ đi cùng C và e, nếu bố truyền cho con D thì cũng truyền C và e.

1.4.1.3. Kháng thể Rh

Ngoài hệ ABO, Hh thì ít khi gặp kháng thể tự nhiên. Tuy nhiên người ta cũng đã gặp kháng thể tự nhiên với một số kháng nguyên khác, trong đó có kháng thể tự nhiên hệ Rh.

* Kháng thể tự nhiên

Hiếm gặp, đã thấy kháng thể chống D, chống E, là IgM hoạt động môi trường muối.

* Kháng thể miễn dịch

Hệ Rh được coi là hệ thống có ý nghĩa trong truyền máu chỉ sau hệ ABO vì có nhiều kháng thể chống lại kháng nguyên Rh và phản ứng rất mạnh.

- Trong số 5 kháng nguyên hệ Rh thì kháng nguyên D được coi là có ý nghĩa nhất vì khả năng kích thích sinh kháng thể mạnh (người ta thấy khoảng 50% người Rh (-) được truyền máu Rh (+) có thể sinh kháng thể kháng D, đồng thời phản ứng giữa kháng thể kháng D và kháng nguyên D cũng gây tan máu mạnh.

Ngoài ra các kháng thể khác như chống C, c, E, e cũng thường gặp. Điều kiện sinh kháng thể cũng tương tự sinh kháng thể miễn dịch chống A, chống B, là cơ thể người mẹ không có kháng nguyên, mang thai có kháng nguyên trên hồng cầu. Khi chuyển dạ có hoà trộn máu mẹ con ở niêm mạc tử cung gây miễn dịch cho mẹ. Cũng có thể kháng thể miễn dịch xuất hiện sau truyền máu khác nhóm Rh.

Đối với các kháng thể hệ Rh và các hệ khác thì thường xuất hiện ở người được truyền máu nhiều lần do khi truyền máu chưa thực hiện được hoà hợp giữa người nhận và người cho (trừ kháng nguyên D).

1.4.1.4. Ý nghĩa trong y học

- Nhận diện bố - con: Tương tự kháng nguyên hệ ABO, các kháng nguyên Rh cũng được coi như một đặc tính để phát hiện mối quan hệ giữa 2 thế hệ bố, mẹ - con.

- Trong truyền máu: Do các kháng nguyên Rh có tính kháng nguyên cao, phản ứng kháng nguyên - kháng thể lại xảy ra mạnh, hậu quả nặng nề nên người ta lưu ý. ở Việt Nam đã gặp nhiều tai biến truyền máu do bất đồng Rh. Hiện nay quy định khi phát máu cho người bệnh phải định nhóm máu Rh(D). Nhóm Rh(D) cũng được yêu cầu phải thể hiện trên đơn vị máu.

Ngoài ra các kháng thể chống C, c, E, e cũng là nguyên nhân thường gặp nhất gây ra tan máu muộn, làm cho truyền máu không hiệu lực. Một số nghiên cứu cho thấy hơn 15% bệnh nhân được truyền máu nhiều lần có kháng thể kháng hồng cầu. Trong đó kháng thể kháng các kháng nguyên hệ Rh chiếm hơn một nửa.

- Tan máu trẻ sơ sinh: Kháng nguyên D là kháng nguyên được nói đến nhiều nhất trong tan máu trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm máu mẹ - con. Cơ chế tương tự kháng thể miễn dịch chống A, chống B thuộc hệ ABO. Tỷ lệ người Rh(-) ở Việt Nam rất thấp ($\approx 0,07\%$) nhưng tỷ lệ có vàng da tan máu trở sơ sinh ở những trẻ có bất đồng Rh lại cao. Điều đó nói lên là khả năng có kháng thể miễn dịch cao hơn hệ ABO nhiều.

Để tránh sinh kháng thể miễn dịch ở mẹ trong trường hợp mẹ Rh(-) con Rh(+) thì khi người mẹ mang thai lần 1 đến ngày chuyển dạ, người ta tiêm cho người mẹ một lượng kháng thể chống D. Kháng thể này có tác dụng phá huỷ các hồng cầu Rh(+) con sang mẹ, không cho kháng nguyên D tiếp xúc với hệ miễn dịch của người mẹ.

1.5. Ý nghĩa trong truyền máu và tan máu trẻ sơ sinh

Sự bất đồng giữa mẹ và con của các kháng nguyên có thể là nguyên nhân gây tan máu trẻ sơ sinh, khả năng gặp và cơ chế đã trình bày trên. Vì vậy truyền máu cho phụ nữ chưa sinh để có nguy cơ gây miễn dịch cho họ và nguy hiểm cho thai nhi.

Truyền máu cho phụ nữ đã sinh con hay đã truyền máu trước có thể có phản ứng do bất đồng miễn dịch, kháng thể là kháng thể miễn dịch.

Một số kháng nguyên như D, K có thể kết hợp với kháng thể tương ứng và gây tan máu trong lòng mạch gây ra tai biến sớm nặng nề. Còn hầu hết các phản ứng giữa kháng thể miễn dịch và kháng nguyên khác thường gây tan máu trong các tổ chức liên kết. Do vậy biểu hiện lâm sàng nhẹ và muộn hơn.

Để tránh tai biến truyền máu do bất đồng nhóm ngoài hệ ABO thì khi phát máu phải thực hiện phản ứng hoà hợp có kháng γ globulin người (Hồng cầu người cho trộn với huyết thanh người nhận rồi ủ sau đó rửa đi và thêm vào huyết thanh kháng γ globulin). Đây là xét nghiệm phát hiện kháng thể bất thường (IgG) ở người nhận chống lại hồng cầu người cho.

Cũng có thể thực hiện phản ứng trên (giữa huyết thanh bệnh nhân với 1 dàn hồng cầu nhóm O) để phát hiện sự có mặt của kháng thể bất thường ngoài hệ ABO.

2. Kỹ thuật định nhóm máu hệ ABO và Rh bằng phương pháp huyết thanh mẫu

2.1. Nguyên tắc

Nhóm máu ABO được xác định nhờ sự có mặt của kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể trong huyết thanh. Hai thành phần này khi gặp nhau sẽ gây phản ứng ngưng kết đặc hiệu.

Dùng huyết thanh mẫu chứa *kháng thể đặc hiệu* đã biết để định loại *kháng nguyên nhóm máu* của hồng cầu dựa vào phản ứng ngưng kết.

Dùng hồng cầu mẫu chứa kháng nguyên đặc hiệu đã biết để định loại kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

Cho huyết thanh chống D (anti - D) tác dụng với hồng cầu bệnh nhân cần định nhóm. Hồng cầu mang kháng thể D sẽ bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng D.

2.2. Tiến hành theo: quy trình kỹ thuật

2.2.1. Phiến đá

QUY TRÌNH KỸ THUẬT

ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRÊN PHIẾN ĐÁ BẰNG PP HCM

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc

		xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Đá men trắng, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HCM A 5%, HCM B 5%, HCM O 5% sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi các thông tin lên phiếu đá	Thuận lợi khi đọc kết quả và hạn chế nhầm lẫn.	Ghi các TT và kê ô: họ tên người bệnh, nhóm máu, vị trí nhỏ huyết thanh mẫu theo thứ tự HCM A, HCM B, HCM O
5	Tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh	Lấy được huyết tương hoặc huyết thanh	Lấy được huyết tương bằng cách lý tâm hoặc để lắng ống nghiệm máu người bệnh với ống chống đông EDTA. Sao cho huyết tương/ tách thành 2 lớp rõ. Lấy được huyết thanh bằng cách ly tâm với ống máu không chống đông.
6	Nhỏ HCM vào các	Đủ lượng KN và	Nhỏ 1 giọt HCM A 5%, HCM B 5%,

	3 ô đã ghi	KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	HCM O 5% vào các ô đã ghi sẵn
7	Nhỏ huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh vào các 3 ô trên	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ 2 giọt huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh vào 3 ô đã ghi sẵn ở trên
8	Trộn đều huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh với hồng cầu mẫu	Để phản ứng kháng nguyên và kháng thể xảy ra hoàn toàn	Dùng 1 đĩa thủy tinh sạch trộn đều HCM và huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh cho từng ô có đường kính khoảng 2 cm, lắc nghiêng tròn phiến đá trong 3 phút. Sau mỗi ô HCM đã trộn phải thay đĩa thủy tinh mới.
9	Đọc và nhận định kết quả	Xác định kháng thể hệ nhóm máu hệ ABO trong huyết thanh của người bệnh	Quan sát hiện tượng ngưng kết và không ngưng kết để xác định kháng thể của trong huyết thanh của người bệnh. Nhóm máu A: có anti B Nhóm máu B: có anti A Nhóm máu AB: không có kháng thể Nhóm máu O: có anti A và B
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.2.2. Ống nghiệm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh TRONG ỐNG NGHIỆM BẰNG PP HTM

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn	- Trang phục đúng quy định, gọn

		cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	găng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm khô sạch, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính, máy ly tâm + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh, pipet tự động, kính hiển vi quang học, lam kính, la men. + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HTM Anti A; anti B; anti AB; anti D sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	<ul style="list-style-type: none"> - Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi các thông tin lên 5 ống nghiệm	Thuận lợi khi đọc kết quả và hạn chế nhầm lẫn.	Ghi các TT lên 5 ống nghiệm: họ tên người bệnh, nhóm máu, tên huyết thanh mẫu theo thứ tự anti A, anti B, anti AB, NaCl 0,9%, Anti D

5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Pha hồng cầu người bệnh 5%	Đảm bảo số lượng hồng cầu để thực hiện kỹ thuật	Hồng cầu người bệnh được pha 5% theo 1 trong 2 cách: - 1 giọt khối hồng cầu với 19 giọt nước muối sinh lý - Hoặc 0,05ml khối HC với 0,95 ml nước muối sinh lý.
7	Nhỏ HTM vào 5 ống nghiệm	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ vào mỗi ống nghiệm: 2 giọt HTM anti A, anti B, Anti AB, NaCl 0,9%, Anti D lần lượt vào các ống nghiệm đã ghi.
8	Nhỏ HC người bệnh 5% vào 5 ống nghiệm	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ vào mỗi ống nghiệm: 1 giọt HC 5% vào lần lượt các ống nghiệm anti A, anti B, Anti AB, NaCl 0,9%, Anti D.
9	Trộn đều HC của người bệnh và huyết thanh mẫu	Để phản ứng kháng nguyên và kháng thể xảy ra hoàn toàn	Các ống nghiệm được trộn đều bằng cách ly tâm khoảng 1000 vòng/ phút trong 30 giây
10	Đọc và nhận định kết quả hệ nhóm máu ABO	Xác định kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của hệ nhóm máu ABO và Rh của người bệnh	Nghiêng nhẹ thành ống nghiệm, đọc kết quả bằng mắt thường hoặc soi kính hiển vi vật kính x10 để quan sát hiện tượng ngưng kết: các HC dính thành đám Không ngưng kết : các hồng cầu nằm riêng rẽ Nhóm máu A: có KN A Nhóm máu B: có KN B Nhóm máu AB: Có KN A và B Nhóm máu O: không có KN A và không có KN B

11	Đọc và nhận định kết quả hệ nhóm máu Rh	Xác định kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của hệ nhóm máu Rh của người bệnh	Nghiêng nhẹ thành ống nghiệm, đọc kết quả bằng mắt thường hoặc soi kính hiển vi vật kính x10 để quan sát hiện tượng ngưng kết: các HC dính thành đám Rh (+) có kháng nguyên D, Rh (-) không có kháng nguyên D
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.2.3. Gelcard

* Ý nghĩa: Định nhóm máu trên Gelcard là một tiến bộ mới tiếp theo định nhóm máu trên phiến đá men và định nhóm máu trong ống nghiệm. Kỹ thuật có độ nhạy cao an toàn cho người làm xét nghiệm.

Nguyên lý

Cột gel là một môi trường phản ứng có kháng thể đặc hiệu chống A, B, AB hoặc Rh (anti D) và màng ngăn được cấu tạo bởi các hạt thủy tinh nhỏ có tác dụng giữ lại các hạt ngưng kết lớn hơn kích thước hồng cầu. Nhờ vậy, khi cho hồng cầu muốn định nhóm máu đi qua cột gel, nếu có phản ứng đặc hiệu, các hạt ngưng kết sẽ hình thành, màng ngăn sẽ giữ lại các hạt ngưng kết ở phần trên của cột gel. Nếu không có phản ứng đặc hiệu, hồng cầu sẽ lọt qua màng ngăn lắng xuống đáy cột gel.

* Tiến hành theo quy trình kỹ thuật:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT

ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh BẰNG GELCARD

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
------------	-----------------	----------------	-------------------

1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm thủy tinh sạch, khô, gạc sạch, bút viết kính, máy ly tâm gelcard + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Gelcard định nhóm gồm HTM hoặc gelcard HCM hoặc gelcard cả HTM và HCM. Gelcard nguyên vẹn, còn hạn sử dụng. Dung dịch Diluent-2
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Pha hồng cầu người bệnh 5%	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm	Bơm 0.5ml Diluent-2 vào ống nghiệm sạch.và thêm 25µl khối hồng cầu của người bệnh (hoặc 50µl của máu toàn phần), lắc trộn nhẹ nhàng 8- 10 theo chiều dọc của ống nghiệm. Tạo thành hỗn

			dịch có màu đỏ đều.
5	Chuẩn bị hồng cầu mẫu 0,8%	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm	Bơm 1 ml Diluent-2 vào ống nghiệm sạch, thêm 10 µl khối hồng cầu mẫu, lắc trộn nhẹ nhàng 8- 10 theo chiều dọc của ống nghiệm. Tạo thành hỗn dịch có màu đỏ đều.
6	Chuẩn bị card định nhóm và ghi thông tin người bệnh trên card	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm và tránh nhầm lẫn	Card tốt nhất nên dùng có 2 phương pháp HTM và HCM. Ghi đầy đủ họ tên, tuổi, mã số người bệnh, khoa/phòng.
7	Phương pháp hồng cầu mẫu: Nhỏ hồng cầu mẫu 0,8%	Đúng tỷ lệ giữa HCM và HT của người bệnh để phản ứng ngưng kết xảy ra hoàn toàn.	Gỡ bỏ lá nhôm và nhỏ 50 µl hồng cầu mẫu vào 2 giếng A1 và B và tiếp tục nhỏ thêm 50 µl huyết thanh của người bệnh.
8	Phương pháp HTM	Đúng tỷ lệ giữa HCM và HT của người bệnh để phản ứng ngưng kết xảy ra hoàn toàn.	Nhỏ 10µl hồng cầu 5% của người bệnh vào các giếng A, B, D và Ctl (các giếng này đã có sẵn huyết thanh mẫu)
9	Ly tâm card	Tăng khả năng tiếp xúc giữa KN và KT	Ly tâm 900 vòng/ phút/ 10 phút
10	Đọc kết quả	Kết quả chính xác	Phản ứng ngưng kết bằng mắt thường và đọc trên máy đọc gelcard

11	Nhận định kết quả của hệ nhóm máu ABO	Xác định được kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể có trong huyết thanh	Nhóm máu A: có kháng nguyên A trên bề mặt hồng cầu và anti B trong huyết thanh. Nhóm máu B: có kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu và anti A trong huyết thanh. Nhóm máu AB: có kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu; không có anti A và anti B trong huyết thanh. Nhóm máu O: không có kháng nguyên A và kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu; có anti A và anti B trong huyết thanh.
12	Nhận định kết quả của hệ nhóm máu Rh	Xác định được kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể có trong huyết thanh	Rh (+): có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu; Rh (-) không có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn, xử lý rác thải theo quy định
14	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
15	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

3. Kỹ thuật định nhóm máu hệ ABO bằng phương pháp hồng cầu mẫu

3.1. Nguyên tắc

Nhóm máu ABO được xác định nhờ sự có mặt của kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể trong huyết thanh. Hai thành phần này khi gặp nhau sẽ gây phản ứng ngưng kết đặc hiệu.

Dùng huyết thanh mẫu chứa *kháng thể đặc hiệu* đã biết để định loại *kháng nguyên nhóm máu* của hồng cầu dựa vào phản ứng ngưng kết.

Dùng hồng cầu mẫu chứa kháng nguyên đặc hiệu đã biết để định loại kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

Cho huyết thanh chống D (anti - D) tác dụng với hồng cầu bệnh nhân cần định nhóm. Hồng cầu mang kháng thể D sẽ bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng D.

3.2. Quy trình kỹ thuật

3.2.1. Phiến đá

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRÊN PHIẾN ĐÁ BẰNG PP HCM

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Đá men trắng, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HCM A 5%, HCM B 5%, HCM O 5% sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

4	Ghi các thông tin lên phiến đá	Thuận lợi khi đọc kết quả và hạn chế nhầm lẫn.	Ghi các TT và kẻ ô: họ tên người bệnh, nhóm máu, vị trí nhỏ huyết thanh mẫu theo thứ tự HCM A, HCM B, HCM O
5	Tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh	Lấy được huyết tương hoặc huyết thanh	Lấy được huyết tương bằng cách ly tâm hoặc để lắng ống nghiệm máu người bệnh với ống chống đông EDTA. Sao cho huyết tương/ tách thành 2 lớp rõ. Lấy được huyết thanh bằng cách ly tâm với ống máu không chống đông.
6	Nhỏ HCM vào các 3 ô đã ghi	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ 1 giọt HCM A 5%, HCM B 5%, HCM O 5% vào các ô đã ghi sẵn
7	Nhỏ Huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh vào các 3 ô trên	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ 2 giọt huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh vào 3 ô đã ghi sẵn ở trên
8	Trộn đều huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh với hồng cầu mẫu	Để phản ứng kháng nguyên và kháng thể xảy ra hoàn toàn	Dùng 1 đĩa thủy tinh sạch trộn đều HCM và huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh cho từng ô có đường kính khoảng 2 cm, lắc nghiêng tròn phiến đá trong 3 phút. Sau mỗi ô HCM đã trộn phải thay đĩa thủy tinh mới.
9	Đọc và nhận định kết quả	Xác định kháng thể hệ nhóm máu hệ ABO trong huyết thanh của người bệnh	Quan sát hiện tượng ngưng kết và không ngưng kết để xác định kháng thể của trong huyết thanh của người bệnh. Nhóm máu A: có anti B Nhóm máu B: có anti A Nhóm máu AB: không có kháng thể Nhóm máu O: có anti A và B
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng

	- Rửa tay		dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

3.2.2. Ống nghiệm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRONG ỐNG NGHIỆM BẰNG PP HCM

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm khô sạch, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính, máy ly tâm + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh, pipet tự động, kính hiển vi quang học, lam kính, la men. + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HCM A; HCM B; HCM O; sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới,

	phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm		mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi các thông tin lên 3 ống nghiệm	Thuận lợi khi đọc kết quả và hạn chế nhầm lẫn.	Ghi các TT lên 5 ống nghiệm: họ tên người bệnh, nhóm máu, tên huyết thanh mẫu theo thứ tự HCM A; HCM B; HCM O.
5	Tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh	Lấy được huyết tương hoặc huyết thanh	Lấy được huyết tương bằng cách ly tâm hoặc để lắng ống nghiệm máu người bệnh với ống chống đông EDTA. Sao cho huyết tương/ tách thành 2 lớp rõ. Lấy được huyết thanh bằng cách ly tâm với ống máu không chống đông.
6	Nhỏ HCM 5% vào các 3 ô đã ghi	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ 1 giọt HCM A 5%, HCM B 5%, HCM O 5% vào các ống nghiệm đã ghi sẵn
7	Nhỏ huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh vào các 3 ống nghiệm trên	Đủ lượng KN và KT để phản ứng xảy ra hoàn toàn	Nhỏ 2 giọt huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh vào 3 ống nghiệm đã ghi sẵn ở trên
8	Trộn đều HC của người bệnh và huyết thanh mẫu	Để phản ứng kháng nguyên và kháng thể xảy ra hoàn toàn	Các ống nghiệm được trộn đều bằng cách ly tâm khoảng 1000 vòng/ phút trong 30 giây
9	Đọc kết quả	Quan sát hiện tượng ngưng kết hay không ngưng kết của phản ứng KN- KT	Kết quả được đọc bằng cách nghiêng nhẹ thành ống nghiệm đọc kết quả bằng mắt thường hoặc trên kính hiển vi vật kính x10 để quan sát hiện tượng

			<p>ngưng kết: các HC dính thành đám</p> <p>Không ngưng kết: các hồng cầu nằm riêng rẽ</p>
10	Nhận định kết quả	Xác định kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu của hệ nhóm máu ABO	<p>Nhóm máu A: có anti B</p> <p>Nhóm máu B: có anti A</p> <p>Nhóm máu AB: không có kháng thể A và B</p> <p>Nhóm máu O: có anti A và B.</p> <p>- Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần</p>
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	<p>- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí.</p> <p>- Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng</p> <p>- Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định.</p> <p>- Thực hiện đúng 6 bước rửa tay</p>
12	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

3.2.3. Gelcard

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh BẰNG GELCARD

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)

2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm thủy tinh sạch, khô, gạc sạch, bút viết kính, máy ly tâm gelcard + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Gelcard định nhóm gồm HTM hoặc gelcard HCM hoặc gelcard cả HTM và HCM. Gelcard nguyên vẹn, còn hạn sử dụng. Dung dịch Diluent-2
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	<ul style="list-style-type: none"> - Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Pha hồng cầu người bệnh 5%	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm	Bơm 0.5ml Diluent-2 vào ống nghiệm sạch.và thêm 25µl khối hồng cầu của người bệnh (hoặc 50µl của máu toàn phần), lắc trộn nhẹ nhàng 8- 10 theo chiều dọc của ống nghiệm. Tạo thành hỗn dịch có màu đỏ đều.

5	Chuẩn bị hồng cầu mẫu 0,8%	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm	Bơm 1 ml Diluent-2 vào ống nghiệm sạch, thêm 10 µl khối hồng cầu mẫu, lắc trộn nhẹ nhàng 8- 10 theo chiều dọc của ống nghiệm. Tạo thành hỗn dịch có màu đỏ đều.
6	Chuẩn bị card định nhóm và ghi thông tin người bệnh trên card	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm và tránh nhầm lẫn	Card tốt nhất nên dùng có 2 phương pháp HTM và HCM. Ghi đầy đủ họ tên, tuổi, mã số người bệnh, khoa/phòng.
7	Phương pháp hồng cầu mẫu: Nhỏ hồng cầu mẫu 0,8%	Đúng tỷ lệ giữa HCM và HT của người bệnh để phản ứng ngưng kết xảy ra hoàn toàn.	Gỡ bỏ lá nhôm và nhỏ 50 µl hồng cầu mẫu vào 2 giếng A1 và B và tiếp tục nhỏ thêm 50 µl huyết thanh của người bệnh.
8	Phương pháp HTM	Đúng tỷ lệ giữa HCM và HT của người bệnh để phản ứng ngưng kết xảy ra hoàn toàn.	Nhỏ 10µl hồng cầu 5% của người bệnh vào các giếng A, B, D và Ctl (các giếng này đã có sẵn huyết thanh mẫu)
9	Ly tâm card	Tăng khả năng tiếp xúc giữa KN và KT	Ly tâm 900 vòng/ phút/ 10 phút
10	Đọc kết quả	Kết quả chính xác	Phản ứng ngưng kết bằng mắt thường và đọc trên máy đọc gelcard

11	Nhận định kết quả của hệ nhóm máu ABO	Xác định được kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể có trong huyết thanh	Nhóm máu A: có kháng nguyên A trên bề mặt hồng cầu và anti B trong huyết thanh. Nhóm máu B: có kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu và anti A trong huyết thanh. Nhóm máu AB: có kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu; không có anti A và anti B trong huyết thanh. Nhóm máu O: không có kháng nguyên A và kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu; có anti A và anti B trong huyết thanh.
12	Nhận định kết quả của hệ nhóm máu Rh	Xác định được kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể có trong huyết thanh	Rh (+): có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu; Rh (-) không có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn, xử lý rác thải theo quy định
14	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
15	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

- Nhận định kết quả trong 1 số tình huống giả định.

+ Nhóm máu A, Rh dương

+ Nhóm máu B, Rh âm

+ Nhóm máu AB, Rh dương

+ Nhóm máu O, Rh dương

4. Ưu- nhược điểm của từng phương pháp

* Ưu điểm – nhược điểm của phương pháp định nhóm máu ABO và Rh trên phiến

đá

- Ưu điểm: Đơn giản, dễ thực hiện, rẻ tiền

- Nhược điểm: không phát hiện được hiện tượng ngưng kết yếu, hiện tượng tan máu.

* Ưu điểm – nhược điểm của phương pháp định nhóm máu ABO và Rh trong ống nghiệm

- Ưu điểm: phát hiện được hiện tượng ngưng kết yếu, hiện tượng tan máu.

- Nhược điểm: Phức tạp hơn, cồng kềnh thiết bị nhiều hơn phương pháp phiến đá.

* Ưu điểm – nhược điểm của phương pháp định nhóm máu ABO và Rh bằng gelcarrd

- Ưu điểm: chính xác, đánh giá được mức độ ngưng kết và phát hiện được các quần thể hồng cầu trong máu, nhất là những người truyền máu nhiều lần.

- Nhược điểm: giá thành cao

LUỢNG GIÁ

Hãy khoanh tròn vào chữ cái đứng đầu ý coi là đúng nhất

1. Tên của nhóm máu hệ ABO là:

A. Tên của người phát minh ra nhóm máu

B. Tên kháng nguyên hệ ABO có mặt trên hồng cầu

C. Tên của kháng thể có mặt trong huyết thanh

D. Cả B và C đều đúng.

2. Kháng nguyên A và B có mặt

A. Chỉ trên màng hồng cầu

B. Trên nhiều tế bào của tổ chức khác nhau của cơ thể.

C. Chỉ trên hồng cầu và bạch cầu

D. Chỉ trên hồng cầu và dịch tiết

3. Gen A thể hiện kháng nguyên A bằng cách

A. Tổng hợp emzym để gắn chất đặc hiệu A vào chất H

B. Tổng hợp protein có tính đặc hiệu là kháng nguyên A

C. Tổng hợp protein trên cơ sở chất B.

D. Tổng hợp ra một polypeptit có tính đặc hiệu gắn lên chất có sẵn.

4. Người mẹ nhóm Bombay

A. Chỉ sinh ra con nhóm Bombay

B. Có thể sinh con nhóm A, B, AB, O tùy trường hợp

C. Chỉ sinh con nhóm O

D. Chỉ sinh con nhóm O hay Bombay.

5. Chất chiết từ đậu Dolicho biflorus có thể làm ngưng kết:
- A. Hồng cầu nhóm O
 - B. Hồng cầu RhD(+)
 - C. Hồng cầu nhóm A1, A1B.
 - D. Hồng cầu nhóm máu RhD(-)
6. Người nhóm A yếu có kháng thể
- A. Chống A
 - B. Chống B và có thể có chống A
 - C. Chống A và chống B
 - D. Chống A1.
7. Số lượng vị trí kháng nguyên A và B trên hồng cầu nhiều nhất
- A. Lúc trong thai
 - B. Trẻ sơ sinh
 - C. Người trưởng thành
 - D. Lúc về già
8. Con nhóm máu O thì người bố:
- A. Chỉ có thể nhóm O
 - B. Có thể nhóm A, B, hay O
 - C. Có thể nhóm A, B, AB hay O
 - D. Có thể nhóm A, O, AB
9. Người bố nhóm B có thể sinh con
- A. Chỉ là nhóm B
 - B. Chỉ là nhóm AB
 - C. Chỉ là B hoặc AB
 - D. Có thể có nhóm máu B, O, A.
10. Người mẹ nhóm máu AB, con sinh ra có thể là:
- A. Nhóm A, B, AB, O
 - B. Nhóm B, A, O
 - C. Nhóm A, B, AB
 - D. Nhóm AB, O
11. Có thể truyền khối hồng cầu nhóm A cho
- A. Người nhóm A, B, O
 - B. Người nhóm A, AB
 - C. Người nhóm A, B, AB
 - D. Người nhóm AB, O

12. Có thể truyền huyết tương đông lạnh nhóm B cho
- A. Người nhóm B, O
 - B. Người nhóm B, AB
 - C. Người nhóm B, A
 - D. Người nhóm B, AB, O
13. Có thể có bất đồng nhóm máu mẹ con hệ ABO khi
- A. Mẹ O, con A, B hay AB
 - B. Mẹ B, con O, B
 - C. Mẹ AB, con A, B, AB
 - D. Mẹ A con A, O
14. Các kháng nguyên chính của hệ Rh là:
- A. D, C, c, E, e
 - B. D d, C, c, E, e
 - C. A, H, D, C, E
 - D. A, B, c, D, c, E
15. Nhóm máu Rh(D-) để chỉ người
- A. Không có kháng nguyên D trên hồng cầu
 - B. Có kháng nguyên D trên hồng cầu
 - C. Có kháng nguyên d, c, e trên hồng cầu
 - D. Không có kháng nguyên hệ Rh trên hồng cầu
16. Người có nhóm máu Dⁿ cần truyền máu thì truyền
- A. Máu của người nhóm Dⁿ
 - B. Máu của người nhóm D 1 phần
 - C. Máu của người nhóm D (âm) (RhD-)
 - D. Bất kỳ nhóm máu gì hệ Rh.
17. Kháng thể miễn dịch chống D ở mẹ gây tan máu trẻ sơ sinh là
- A. IgM
 - B. IgG
 - C. GgM và IgG
 - D. Lúc thì IgM, lúc là IgG.
18. Bố có nhóm máu Rh là D, C, E (không có c và e) có thể sinh con:
- A. Nhóm c, e (không có C, không có E)
 - B. Nhóm C, E, c, e
 - C. Nhóm C, e (không có E)
 - D. Nhóm c, E (không có C)

19. Thực hiện phản ứng chéo ống I có kháng γ globulin người là để:
- A. Phát hiện có kháng thể ngoài ABO ở người nhận chống lại hồng cầu người cho.
 - B. Định danh kháng thể bất thường
 - C. Tìm kháng thể miễn dịch chống A, B
 - D. Phát hiện kháng thể ở người cho chống hồng cầu người nhận.
20. Bản chất kháng thể chống lại kháng nguyên ngoài ABO thường là:
- A. Miễn dịch, IgG
 - B. Tự nhiên, IgM
 - C. Miễn dịch, IgM
 - D. Tự nhiên, IgG.

BÀI 3. ĐẶC ĐIỂM, BẢO QUẢN VÀ SỬ DỤNG CÁC CHẾ PHẨM MÁU

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Trình bày được đặc điểm, bảo quản và sử dụng các chế phẩm máu thường dùng.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.

NỘI DUNG

Các chế phẩm máu là các sản phẩm điều chế từ máu toàn phần hoặc huyết tương của người. Chế phẩm máu có thể được sản xuất từ máu toàn phần bằng phương pháp ly tâm phân lớp hoặc chiết tách từ huyết tương. Chế phẩm máu được chỉ định để bổ sung hoặc thay thế những thành phần tế bào máu hoặc huyết tương mà bệnh nhân bị thiếu hụt.



Hình 1: Ly tâm phân lớp và ép tách máu toàn phần

Các chế phẩm máu chủ yếu sản xuất từ máu toàn phần bao gồm: máu toàn phần, khối hồng cầu có chất bảo quản, khối tiểu cầu, huyết tương tươi đông lạnh, tua lạnh. Chế phẩm máu chiết tách từ huyết tương bao gồm: yếu tố VIII hoặc IX cô đặc, albumin người, immunoglobulin và một số chế phẩm khác.

1. Máu toàn phần

Máu toàn phần được lấy trực tiếp từ người cho máu và chứa trong túi máu chuyên dụng. Đây là túi chất dẻo đặc biệt, đã tiệt trùng và có chứa sẵn chất chống đông và chất bảo quản. Có nhiều loại chất chống đông và bảo quản khác nhau nhưng thường sử dụng nhất hiện nay là hỗn hợp các chất citrate, phosphate và destrose, có bổ sung thêm adenine, viết tắt là dung dịch bảo quản CPD-A.

Có nhiều loại thể tích túi máu toàn phần khác nhau. Ở các nước phương Tây thường sử dụng túi có thể tích 450 ml. Túi máu lớn cho phép lấy một lượng máu nhiều, thuận tiện để sản xuất chế phẩm máu về sau. Ở nước ta, túi máu sử dụng phổ

biển là loại 250 ml hoặc 350 ml. Túi máu 450 ml chứa một lượng chất chống đông - bảo quản khoảng 63 ml. Đơn vị máu toàn phần chứa lượng máu có nồng độ hemoglobin gần tương đương máu ngoại vi của người (khoảng 120 g hemoglobin/L). Do đặc điểm bảo quản, máu toàn phần không còn tiểu cầu có đủ chức năng hoạt động cũng như các yếu tố đông máu huyết tương không bền vững, chẳng hạn yếu tố VIII.



Hình 2. Đơn vị máu toàn phần

Máu toàn phần được bảo quản ở nhiệt độ 2-6°C trong tủ lạnh chuyên dụng trữ máu. Ở điều kiện này, máu toàn phần có thể bảo quản tốt trong vòng 42 ngày. Tuy nhiên sau khi được phát tới bệnh phòng, đơn vị máu toàn phần phải được truyền sớm và truyền hết trong 4 giờ.

Máu toàn phần được chỉ định chủ yếu trong trường hợp mất máu cấp tính số lượng lớn (trên 1500 ml) để cung cấp đồng thời hồng cầu và bù thể tích tuần hoàn cho bệnh nhân. Trong các trường hợp thiếu máu khác, không nên chỉ định truyền máu toàn phần mà nên thay thế bằng khối hồng cầu.

2. Khối hồng cầu (khối hồng cầu có chất bảo quản)

Khối hồng cầu được sản xuất từ máu toàn phần bằng cách loại bỏ huyết tương và bổ sung dung dịch bảo quản hồng cầu. Người ta sử dụng máy ly tâm lạnh chuyên dụng để ly tâm túi máu toàn phần, sau đó dùng máy ép tách huyết tương để loại bỏ lớp huyết tương. Dung dịch bảo quản hồng cầu chứa các chất có tác dụng duy trì đời sống và hoạt tính hồng cầu tối ưu, bao gồm các thành phần như adenine, manitol và glucose (dung dịch SAGM). Sau khi được điều chế mỗi đơn vị khối hồng cầu chứa xấp xỉ 150-200 ml hồng cầu có nồng độ hemoglobin khá cao (lên tới 140-160 g/L) với hematocrit tương ứng khoảng 0,55-0,70 L/L.

Tương tự máu toàn phần, khối hồng cầu được bảo quản ở nhiệt độ 2-6°C trong tủ lạnh chuyên dụng trữ máu. Ở điều kiện này, khối hồng cầu có thể bảo quản tốt trong vòng 42 ngày. Sau khi phát tới bệnh phòng, đơn vị khối hồng cầu phải được

truyền sớm và truyền hết trong vòng 4 giờ.



Hình 3. Đơn vị khối hồng cầu

Khối hồng cầu được chỉ định cho các trường hợp thiếu máu cấp hoặc mạn tính. Đối với các trường hợp mất máu cấp tính, khối hồng cầu được chỉ định cùng với các dung dịch điện giải hoặc dung dịch keo để bù thể tích tuần hoàn. Tuy nhiên cần lưu ý rằng điều trị thiếu máu một cách cơ bản vẫn là điều trị triệt để nguyên nhân gây thiếu máu, việc truyền khối hồng cầu chỉ là phương pháp điều trị hỗ trợ.

3. Khối hồng cầu loại bỏ bạch cầu

Đây là chế phẩm khối hồng cầu đặc biệt, điều chế bằng cách lọc bạch cầu bằng phin lọc. Mỗi đơn vị khối hồng cầu lọc bạch cầu chứa ít hơn 5×10^6 tế bào bạch cầu. Việc loại bỏ bạch cầu có thể thực hiện ngay sau khi lấy máu toàn phần hoặc tại giường bệnh bằng phin lọc.

Khối hồng cầu loại bỏ bạch cầu được bảo quản tương tự khối hồng cầu thông thường.

Khối hồng cầu loại bỏ bạch cầu không ngăn được nguy cơ nhiễm các bệnh nhiễm trùng lây qua đường truyền máu, tuy nhiên chế phẩm này giúp giảm đáng kể nguy cơ nhiễm cytomegalovirus (CMV). Do vậy, khối hồng cầu loại bỏ bạch cầu được chỉ định cho bệnh nhân truyền máu nhiều lần, bệnh nhân suy giảm miễn dịch, bệnh nhân ghép hoặc chuẩn bị ghép tế bào gốc tạo máu.

4. Khối tiểu cầu

Khối tiểu cầu được sản xuất từ máu toàn phần bằng phương pháp ly tâm phân lớp và tách lấy tiểu cầu từ lớp huyết tương giàu tiểu cầu hoặc lớp buffy coat tùy theo cách thức ly tâm sử dụng. Từ 1 đơn vị máu toàn phần có thể tách được 1 đơn vị khối tiểu cầu có thể tích khoảng 50 ml, chứa ít nhất 50×10^9 tiểu cầu. Lượng tiểu cầu này chưa đủ để đạt hiệu quả điều trị chống chảy máu cho nên trước khi truyền người ta sẽ thực hiện việc trộn lẫn (pool) nhiều đơn vị tiểu cầu để tăng số lượng tiểu cầu truyền

cho bệnh nhân. Ở nước ta thường trộn lẫn 3-4 đơn vị tiểu cầu điều chế từ máu toàn phần để tạo ra 1 đơn vị tiểu cầu pool. Mỗi đơn vị tiểu cầu sau khi pool chứa khoảng 2×10^{11} tiểu cầu. Ngoài ra, khối tiểu cầu cũng được chiết tách từ máy tách thành phần máu tự động, gọi là khối tiểu cầu điều chế từ 1 người cho. Khối tiểu cầu loại này có số lượng tiểu cầu tương đương hoặc nhiều hơn 1 đơn vị tiểu cầu pool, ngoài ra còn giảm bớt nguy cơ tạp nhiễm, nguy cơ nhiễm các virus lây qua đường truyền máu và nguy cơ bất đồng miễn dịch đối với người nhận.

Khác với khối hồng cầu, khối tiểu cầu phải được bảo quản ở nhiệt độ phòng (22°C - 24°C) trong thiết bị bảo quản tiểu cầu chuyên dụng có hệ thống lắc liên tục. Trong điều kiện này, có thể giữ được hoạt tính của tiểu cầu và sử dụng khối tiểu cầu trong vòng 3-5 ngày. Sau khi đã được phát về bệnh phòng, khối tiểu cầu không còn duy trì điều kiện bảo quản tối ưu nêu trên và phải được truyền ngay và truyền hết đơn vị tiểu cầu trong vòng 20-30 phút.



Hình 4. Đơn vị khối tiểu cầu

Khối tiểu cầu được chỉ định để điều trị hoặc phòng ngừa tình trạng xuất huyết do giảm tiểu cầu, thường xảy ra khi số lượng tiểu cầu trong máu ngoại vi của bệnh nhân dưới $50 \times 10^9/\text{L}$, đặc biệt khi số lượng tiểu cầu quá thấp dưới $10 \times 10^9/\text{L}$ kèm theo nguy cơ xuất huyết nội tạng.

5. Khối bạch cầu hạt

Khối bạch cầu hạt được điều chế từ máu toàn phần bảo quản ở nhiệt độ phòng (20°C - 24°C) không quá 24 giờ kể từ khi lấy máu. Khối bạch cầu chứa ít nhất 10×10^9 bạch cầu hạt.

Khối bạch cầu được chỉ định cho các bệnh nhân giảm bạch cầu hạt trung tính mức độ nặng (dưới $0,5 \times 10^9$ bạch cầu hạt trung tính/L) có nhiễm trùng không đáp ứng với điều trị kháng sinh.

6. Huyết tương tươi đông lạnh

Huyết tương tươi đông lạnh được sản xuất từ máu tươi toàn phần (là máu toàn phần mới lấy từ người cho không quá 6 giờ). Phương pháp điều chế huyết tương tươi đông lạnh là bằng cách ly tâm phân lớp trong máy ly tâm lạnh chuyên dụng, sau đó dùng máy ép tách huyết tương để tách lấy phần huyết tương từ túi máu đã ly tâm.

Huyết tương tươi đông lạnh sau khi được sản xuất sẽ được làm đông lạnh nhanh và bảo quản trong tủ lạnh sâu trữ máu chuyên dụng ở nhiệt độ -20°C đến -30°C . Với điều kiện bảo quản như vậy, các yếu tố đông máu không bền vững trong huyết tương (chẳng hạn yếu tố V hoặc yếu tố VIII) có thể giữ được hoạt tính lâu dài. Khi phát ra để sử dụng, huyết tương tươi đông lạnh được phá đông trong thiết bị chuyên dụng. Sau khi phá đông, huyết tương tươi đông lạnh cần được nhanh chóng truyền cho bệnh nhân, tốt nhất là trong vòng 30 phút để tránh tình trạng các yếu tố đông máu bị giảm hoạt tính.



Hình 5. Đơn vị huyết tương tươi đông lạnh

Huyết tương tươi đông lạnh được chỉ định chủ yếu để điều trị các tình trạng bệnh lý rối loạn đông máu, chẳng hạn như hội chứng đông máu rải rác trong lòng mạch hoặc bệnh hemophilia A hoặc B. Huyết tương tươi đông lạnh cũng được chỉ định trong bệnh lý về gan để điều trị tình trạng thiếu hụt nhiều yếu tố đông máu do suy giảm chức năng tổng hợp của gan, điều trị triệu chứng quá liều thuốc chống đông warfarin hoặc điều trị tình trạng hoà loãng máu do truyền máu khối lượng lớn.

7. Huyết tương đã loại bỏ tua

Đây là chế phẩm huyết tương còn lại sau khi sản xuất tua lạnh từ huyết tương tươi đông lạnh. Huyết tương đã bỏ tua bị mất khoảng một nửa lượng fibrinogen và yếu tố VIII nên không được dùng để điều trị các rối loạn đông máu mà chỉ định trong một số trường hợp cần bổ sung lượng protein máu cho bệnh nhân.

8. Tua lạnh

Tua lạnh là chế phẩm được sản xuất từ huyết tương tươi bằng cách thu gom

tủa và giữ lại một ít huyết tương. Tủa lạnh sau khi điều chế được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ như huyết tương tươi đông lạnh, tức là làm lạnh sâu từ -20°C đến -30°C. Tủa lạnh chứa khoảng một nửa lượng yếu tố VIII và fibrinogen có trong huyết tương. Mỗi đơn vị tủa lạnh có khoảng 80-100 IU yếu tố VIII và 150-300 mg fibrinogen. Để đảm bảo đủ nồng độ điều trị, trước khi phát ra tủa lạnh thương được trộn lẫn (pool) từ các túi tủa lạnh đơn của 6-8 người cho.

Tủa lạnh được chỉ định chủ yếu để điều trị các bệnh thiếu hụt yếu tố đông máu bẩm sinh như bệnh hemophilia A (thiếu yếu tố VIII), bệnh von Willebrand (thiếu yếu tố von Willebrand), bệnh thiếu yếu tố XIII. Tủa lạnh còn được chỉ định để điều trị các bệnh lý đông máu mắc phải gây thiếu fibrinogen như hội chứng đông máu rải rác trong lòng mạch.

9. Các sản phẩm chiết tách từ huyết tương

Đây là các sản phẩm protein huyết tương khác nhau được sản xuất theo công nghệ hiện đại từ tập hợp của huyết tương nhiều người cho (30.000 – 50.000 người cho đối với mỗi mẻ sản phẩm). Để giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm các virus qua đường truyền máu, sản phẩm chiết tách từ huyết tương được bất hoạt virus bằng nhiều phương pháp, chẳng hạn dùng nhiệt hoặc hoá chất.

Một số sản phẩm chiết tách từ huyết tương chủ yếu như sau:

9.1. Albumin người

Sản phẩm dung dịch albumin người được chiết tách từ pool huyết tương của 30.000 đến 50.000 người cho. Có nhiều loại sản phẩm albumin khác nhau như loại albumin 5%, 10% hoặc 25%.

Chế phẩm albumin người được chỉ định trong các trường hợp cần bù thể tích tuần hoàn, bỏng, các bệnh lý gây giảm albumin máu như xơ gan.

9.2. Các sản phẩm yếu tố đông máu cô đặc

9.2.1. Yếu tố VIII cô đặc

Yếu tố VIII cô đặc được điều chế từ huyết tương của người cho máu, chứa hàm lượng yếu tố VIII cao hơn các chế phẩm máu thông thường (huyết tương tươi đông lạnh hoặc tủa lạnh). Yếu tố VIII cô đặc được bất hoạt virus bằng nhiệt hoặc hoá chất nhằm ngăn ngừa khả năng lây nhiễm virus qua đường truyền máu.

Yếu tố VIII cô đặc được chỉ định để điều trị thay thế cho bệnh nhân bị bệnh hemophilia A hoặc bệnh von Willebrand.

9.2.2. Các sản phẩm immunoglobulin người

Sản phẩm immunoglobulin chứa một lượng lớn kháng thể chống lại nhiều loại vi sinh vật, có tác dụng bảo vệ cơ thể theo cơ chế miễn dịch thụ động. Ngoài ra chế

phẩm cũng chứa nhiều loại Ig huyết tương khác nhau.

Sản phẩm immunoglobulin được sử dụng trong điều trị một số bệnh tự miễn như xuất huyết giảm tiểu cầu miễn dịch, các bệnh lý gây suy giảm miễn dịch, điều trị phòng ngừa tan máu cho trẻ có bất đồng miễn dịch với người mẹ có nhóm máu Rh (-).

LƯỢNG GIÁ

Khoanh tròn chữ cái chỉ câu trả lời đúng nhất trong các câu hỏi sau.

1. Chế phẩm máu được chỉ định để bổ sung hoặc thay thế:
 - A. Các thành phần tế bào trong tuỷ xương
 - B. Các thành phần tế bào máu và huyết tương
 - C. Các ion kali hoặc natri trong máu
 - D. Tất cả các câu trả lời trên đều đúng
2. Chế phẩm máu **không** bao gồm:
 - A. Dung dịch keo
 - B. Huyết tương tươi đông lạnh
 - C. Khối tiểu cầu
 - D. Khối bạch cầu hạt
3. Chế phẩm máu chiết tách từ huyết tương không bao gồm:
 - A. Immunoglobulin
 - B. Albumin
 - C. Dextran
 - D. Yếu tố VIII cô đặc
4. Chế phẩm máu được sản xuất từ:
 - A. Chỉ từ máu toàn phần
 - B. Chỉ từ huyết tương
 - C. Chỉ từ huyết thanh
 - D. Từ máu toàn phần và huyết tương
5. Chế phẩm máu từ máu toàn phần được sản xuất bằng cách:
 - A. Chỉ bằng cách ly tâm phân lớp
 - B. Ly tâm phân lớp hoặc tách bằng máy tách thành phần máu tự động
 - C. Để lắng tự nhiên
 - D. Tất cả các phương pháp trên
6. Chế phẩm khối hồng cầu được sản xuất từ:
 - A. Huyết tương tươi
 - B. Máu toàn phần

- C. Huyết tương giàu tiểu cầu
 - D. Tất cả các thành phần trên
7. Khối hồng cầu được chỉ định:
- A. Cho bệnh nhân thiếu máu
 - B. Bù thể tích tuần hoàn
 - C. Bù yếu tố đông máu
 - D. Bổ sung protein máu
8. Khối hồng cầu được bảo quản ở điều kiện:
- A. 20-24°C
 - B. -20°C
 - C. 2-6°C
 - D. 2-6°C và lắc liên tục
9. Khối hồng cầu có thể bảo quản tối đa trong:
- A. 21 ngày
 - B. 42 ngày
 - C. 36 ngày
 - D. 48 ngày
10. Khối hồng cầu có hematocrit:
- A. Tương đương 1 đơn vị máu toàn phần
 - B. Cao hơn 1 đơn vị máu toàn phần
 - C. Ít hơn 1 đơn vị máu toàn phần
 - D. Cả 3 ý trên đều đúng
11. Máu toàn phần chủ yếu được chỉ định trong trường hợp:
- A. Mất máu cấp số lượng lớn
 - B. Thiếu máu mạn tính
 - C. Mất máu cấp số lượng ít
 - D. Bù yếu tố đông máu
12. Máu toàn phần:
- A. Còn nguy cơ lây nhiễm virus qua đường truyền máu
 - B. Không có nguy cơ lây nhiễm virus qua đường truyền máu
 - C. Làm tăng số lượng bạch cầu của bệnh nhân
 - D. Giúp bệnh nhân tăng số lượng tiểu cầu
13. Huyết tương tươi đông lạnh được điều chế bằng cách:
- A. Điện di máu toàn phần
 - B. Để máu toàn phần lắng tự nhiên

- C. Ly tâm phân lớp máu toàn phần
D. Sản xuất từ tập hợp máu toàn phần của 30.000 người cho
14. Huyết tương tươi đông lạnh được bảo quản ở điều kiện:
- A. 2-6°C
 - B. -20°C đến -30°C
 - C. 20-24°C
 - D. -20°C đến -30°C và lắc liên tục
15. Huyết tương tươi đông lạnh được chỉ định để
- A. Bù yếu tố đông máu
 - B. Tăng số lượng tiểu cầu cho bệnh nhân
 - C. Tăng nồng độ hemoglobin cho bệnh nhân
 - D. Bù yếu tố đông máu và hồng cầu cho bệnh nhân
16. Tủa lạnh được sản xuất **trực tiếp** từ:
- A. Máu toàn phần
 - B. Huyết tương tươi đông lạnh
 - C. Huyết tương giàu tiểu cầu
 - D. Tập hợp huyết tương của 30.000 người cho
17. Tủa lạnh được bảo quản ở điều kiện:
- A. -20°C và lắc liên tục
 - B. -20°C đến -30°C
 - C. 20-24°C
 - D. 20-24°C và lắc liên tục
18. Tủa lạnh được chỉ định để điều trị
- A. Bệnh hemophilia A
 - B. Bệnh xuất huyết giảm tiểu cầu
 - C. Bệnh hemophilia B
 - D. Bệnh suy tuỷ
19. Các sản phẩm chiết tách từ huyết tương bao gồm:
- A. Albumin người
 - B. Huyết tương tươi đông lạnh
 - C. Tủa lạnh
 - D. Khối tiểu cầu tách từ một người cho
20. Mỗi mẻ sản phẩm chiết tách từ huyết tương được sản xuất từ:
- A. Huyết tương của 1 người cho máu
 - B. Tập hợp huyết tương của 100 người cho máu

- C. Tập hợp huyết tương của 1.000 người cho máu
- D. Tập hợp huyết tương của 30.000 người cho máu

BÀI 4. PHẢN ỨNG HÒA HỢP

MỤC TIÊU

* Kiến thức

- Giải thích được nguyên tắc, các bước của quy trình và nhận định kết quả của phản ứng hòa hợp trong phản ứng hòa hợp.

* Kỹ năng

- Thực hiện được nhận định được kết quả phản ứng hòa hợp trong phát máu an toàn của tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.

- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.

NỘI DUNG

2.1. Đại cương về miễn dịch truyền máu

2.1. 1. Đặc điểm của kháng nguyên của nhóm máu hệ ABO

2.1.1.1. Kháng nguyên H

Trước đây coi người nhóm O là người không có kháng nguyên A và không có kháng nguyên B. Vì vậy hồng cầu người nhóm O sẽ không bị ngưng kết bởi huyết thanh của người khác.

Nhưng năm 1952 tại thành phố Bombay người ta phát hiện người có nhóm máu đặc biệt đó là: hồng cầu không bị ngưng kết bởi kháng thể chống A và kháng thể chống B. Nhưng huyết thanh của họ lại có thể ngưng kết hồng cầu của tất cả những người khác, không những là nhóm A, nhóm B mà cả hồng cầu người nhóm O khác; nhóm máu này gọi nhóm Bombay.

Tiếp tục nghiên cứu người ta thấy thực chất người nhóm O tuy không có kháng nguyên A và kháng nguyên B nhưng họ có kháng nguyên H.

Kháng nguyên H do cặp gen Hh quy định, cặp gen này độc lập với gen ABO, tuy nhiên lại có liên hệ mật thiết với nhau trong việc thể hiện của kháng nguyên A và kháng nguyên B.

Các kháng nguyên trên màng hồng cầu là glycoprotein có các nhóm kháng nguyên đặc trưng. Người có gen H sẽ tổng hợp được một enzym để gắn một nhóm fucoza vào chất cơ bản tạo nên kháng nguyên H.

Khi có kháng nguyên H thì gen A và gen B sẽ làm khuôn mẫu để tổng hợp enzym chuyển 1 nhóm chức vào chất H và tạo nên kháng nguyên A và kháng nguyên B.

Như vậy chất H (kháng nguyên H) là chất tiền thân để gen A thể hiện kháng nguyên A, gen B thể hiện kháng nguyên B.

Người nhóm máu Bombay là người có kiểu gen hh, do vậy không có kháng nguyên H. Cũng giống như hệ ABO, người không có kháng nguyên H sẽ có kháng thể tự nhiên chống H. Tất nhiên người này sẽ không có kháng nguyên A và kháng nguyên B, do vậy họ cũng có kháng thể chống A, kháng thể chống B.

Kháng nguyên H không chỉ có mặt ở hồng cầu người nhóm O mà có mặt ở hồng cầu người nhóm A, B, AB. Tuy nhiên tính kháng nguyên (mức độ ngưng kết với kháng thể) mạnh nhất ở người nhóm O.

Mặc dù cặp gen Hh di truyền độc lập với gen ABO nhưng do thể hiện kháng nguyên A, B phụ thuộc vào kháng nguyên H do vậy người ta nghiên cứu chung các kháng nguyên này gọi là kháng nguyên ABH.

2.1.1.2. Kháng nguyên A và B yếu

** Nhóm A1, A2 và A yếu*

- *Nhóm A1, A2:* Người ta thấy có người nhóm máu A nhưng khi xét nghiệm thấy hồng cầu của họ ngưng kết yếu với kháng thể chống A so với người nhóm A bình thường. Đặc biệt trong huyết thanh của một số người này có kháng thể chống lại hồng cầu A bình thường. Người ta gọi nhóm A bình thường là nhóm A1, người ngưng kết yếu này là nhóm A2.

Như vậy chúng ta có nhóm A1, A2, A1B, A2B. Khi nghiên cứu các chất trong tự nhiên có thể làm ngưng kết hồng cầu người ta thấy chất chiết từ đậu có tên dolichobiflorus có khả năng làm ngưng kết hồng cầu người nhóm A1, không làm ngưng kết hồng cầu người nhóm A2.

Những người mang kháng nguyên A2 có thể có kháng thể tự nhiên chống A1 nhưng hiệu giá thấp (khoảng 1% người nhóm A2, 25% người nhóm A2B có kháng thể tự nhiên chống A1). Tuy nhiên nếu những người A2 được truyền máu A1 có thể sinh kháng thể miễn dịch chống A1.

- *A yếu:*

Ngoài nhóm A2 kể trên người ta còn gặp nhiều người có hồng cầu mang kháng nguyên A yếu. Tức là ngưng kết yếu, khó phát hiện với kháng thể chống A, hoặc ngưng kết một phần, hoặc lâu mới thể hiện. Trong huyết thanh những người này có thể có kháng thể làm ngưng kết hồng cầu A.

Phát hiện A yếu ở những người này thường bằng phương pháp cố định và tách với kháng thể chống A. Tức là lấy hồng cầu của họ ủ với kháng thể chống A rồi sau đó rửa đi, bỏ hết dịch rửa và dùng một số chất để tách kháng thể đã cố định trên hồng

cầu. Nếu dịch tách có kháng thể chống A tức là hồng cầu người này có kháng nguyên A.

* Nhóm B yếu

Tương tự các hồng cầu A yếu, người ta cũng đã gặp những người có hồng cầu mang kháng nguyên B nhưng ngưng kết yếu với kháng thể chống B. Có nhiều loại nhóm B yếu ở các mức độ khác nhau. Một số người có thể có kháng thể chống B.

2.1.2. Kháng nguyên hệ nhóm máu Rh

2.1.2.1. Kháng nguyên chính

Đến nay người ta đã phát hiện được 5 kháng nguyên chính của hệ nhóm máu Rh, đó là kháng nguyên D, C, c, E, e

5 kháng nguyên này do 3 cặp alen (cặp gen) quy định là Dd, Cc, Ee, ba cặp gen này liền kề nhau trên nhiễm sắc thể.

Người có nhóm máu D gọi là người Rh(+) hay Rh(D+). Người không có kháng nguyên D trên hồng cầu gọi là người Rh(-) hay Rh (D-).

2.1.2.2. Các kháng nguyên khác

5 kháng nguyên trên là 5 kháng nguyên chính, phổ biến của hệ Rh, tuy nhiên người ta thấy còn nhiều kháng nguyên khác.

- Kháng nguyên D^u: Một số người có hồng cầu mang kháng nguyên D nhưng ngưng kết yếu với kháng thể chống D. Trong huyết thanh những người này có thể có kháng thể chống D. Kháng nguyên D trên hồng cầu những người này gọi là D yếu. Đó là những người có kháng nguyên Dⁿ. Có nhiều kiểu D^u khác nhau. Người ta cho rằng kháng nguyên Dⁿ là do đột biến gen D tạo mà nên.

- Kháng nguyên D một phần: có thể coi người mang kháng nguyên D một phần như mang D^u vì người ta cho rằng: Kháng nguyên D có nhiều phần tạo nên. Một cơ thể do bất thường về di truyền tạo nên kháng nguyên D không đầy đủ. Tuy vẫn có tính kháng nguyên trên hồng cầu nhưng những hồng cầu này cũng ngưng kết yếu với kháng thể chống D. Trong huyết thanh có thể có kháng thể chống lại phần kháng nguyên D mà hồng cầu không có.

Vì vậy với những người D^u, D một phần cần truyền máu người ta khuyên nên chọn máu D(-) (Rh âm) để truyền cho họ. Ngược lại nếu họ là những người cho máu thì phải coi là Rh(+) để chỉ truyền cho bệnh nhân Rh(+).

+ Kháng nguyên phối hợp: Do 3 cặp gen Dd, Cc, Ee liền kề nhau, nên khi phối hợp 2 gen liền kề có thể hiện thêm một kháng nguyên mới, ví dụ người có kiểu gen Dce ngoài việc có kháng nguyên D, c, e còn có thể có kháng nguyên f. Kháng nguyên f chỉ có mặt khi 2 gen c và e liền với nhau. Tương tự như vậy người có kiểu gen DC

thì ngoài việc có kháng nguyên D và kháng nguyên C còn có thể có kháng nguyên G.

- Kháng nguyên C biến tướng:

Có thể gặp người mang gen C bị biến đổi tạo nên một kháng nguyên khác như kháng nguyên C^w.

2.1.2. Đặc điểm của kháng thể của nhóm máu

2.1.2.1. Kháng thể tự nhiên: Đặc điểm nổi bật nhất của hệ nhóm máu ABO là sự có mặt của kháng thể tự nhiên chống A và chống B.

Người nào trên hồng cầu không có kháng nguyên A thì trong huyết thanh có kháng thể chống A, trên hồng cầu không có kháng nguyên B thì trong huyết thanh có kháng thể chống B. Các kháng thể tự nhiên này xuất hiện mà không có một sự kích thích miễn dịch cụ thể nào và tồn tại một cách hằng định, tồn tại suốt đời. Kháng thể tự nhiên xuất hiện ngay sau sinh, tăng dần hiệu giá và đạt tối đa lúc khoảng 5 - 10 tuổi rồi hằng định đến lúc già thì giảm dần.

Kháng thể tự nhiên có bản chất là IgM, làm ngưng kết rất mạnh các hồng cầu có kháng nguyên tương ứng và có thể hoạt động tốt cả ở nhiệt độ 4⁰C, 22⁰C, trong môi trường muối. Dù vậy ở trong cơ thể kháng thể tự nhiên cũng ngưng kết hồng cầu mạnh và gây tan máu. Kháng thể tự nhiên không qua được hàng rào rau thai.

Khi so sánh hiệu giá kháng thể tự nhiên chống A, chống B theo nhóm máu thì thấy người nhóm máu O có hiệu giá kháng thể chống A và chống B cao hơn hiệu giá kháng thể chống A ở người nhóm B và hiệu giá kháng thể chống B ở người nhóm A.

2.1.2.2. Kháng thể miễn dịch

Bên cạnh kháng thể tự nhiên chống A, chống B, còn có kháng thể miễn dịch. Kháng thể miễn dịch xuất hiện ở người không có kháng nguyên A và hoặc B được kích thích kháng nguyên A hay B.

- Hoàn cảnh xuất hiện: Xuất hiện kháng thể miễn dịch sau các kích thích kháng nguyên đồng loài hay khác loài.

- Đồng loài: Có thể do truyền nhầm nhóm máu, ví dụ truyền máu A cho B hay O. Thường khoảng sau 2 tuần kháng thể miễn dịch xuất hiện. Cũng có thể do bất đồng nhóm máu mẹ con. Người mẹ mang thai, thai nhi có kháng nguyên A hay B nhưng người mẹ không có. Khi chuyển dạ có một ít máu con vào mẹ kích thích miễn dịch ở mẹ. Tuy nhiên tỷ lệ này không nhiều.

+ Có thể do miễn dịch khác loài. Như ta biết là trong tự nhiên có một số chất có tính kháng nguyên A hay B, như chất tiết ở dạ dày lợn, hay một số kháng huyết thanh sản xuất từ máu ngựa có tính kháng nguyên A. Những chất này vào cơ thể không có

kháng nguyên A sẽ kích thích sinh kháng thể.

- Tính chất kháng thể miễn dịch (chống A và chống B)

+ Bản chất là IgG, do vậy có thể qua được rau thai vào máu thai.

+ Thường hoạt động tốt ở 37°C, có thể kết hợp bổ thể và gây tan máu.

+ Không bị huỷ ở 70°C, ít bị kháng nguyên hoà tan trung hoà.

+ Kháng thể miễn dịch xuất hiện thường cùng với kháng thể tự nhiên

2.2. Phản ứng hòa hợp

2.2.1. Mục đích

Phản ứng hoà hợp đầy đủ là phản ứng để lựa chọn nhóm máu hệ hồng cầu của người cho phù hợp nhất với bệnh nhân, đặc biệt là những trường hợp bệnh nhân có kháng thể bất thường. Xét nghiệm này góp phần đảm bảo an toàn về mặt miễn dịch cho bệnh nhân khi được truyền máu, thực hiện truyền máu có hiệu lực.

2.2.2. Nguyên tắc

Là phản ứng ngưng kết, để tìm sự hoà hợp về nhóm máu hệ hồng cầu ABO và các hệ nhóm máu hồng cầu khác giữa người cho và người nhận.

Xét nghiệm này góp phần đảm bảo an toàn về miễn dịch cho người bệnh khi được truyền máu, thực hiện truyền máu có hiệu lực.

2.2.3. Quy trình kỹ thuật

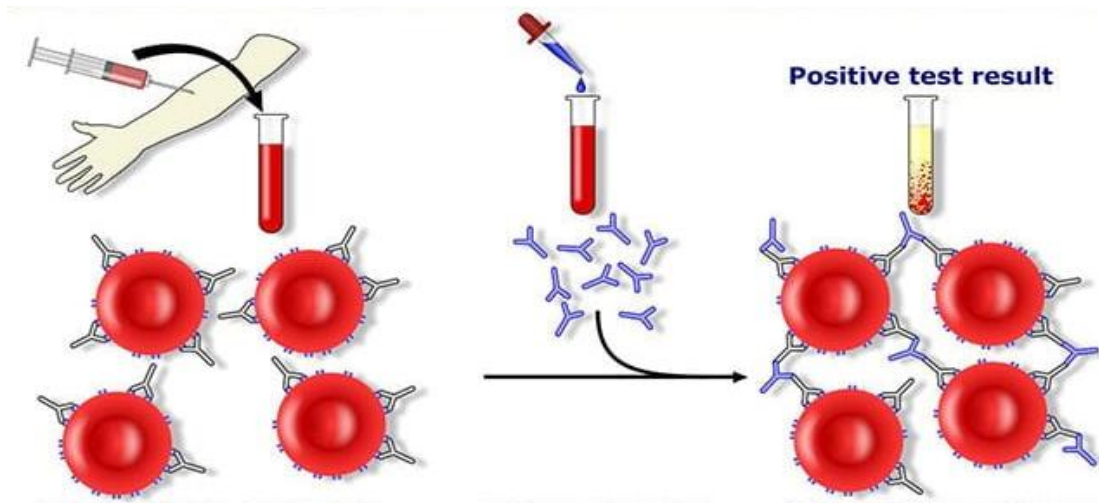
2.2.3.1. Định nhóm máu hệ ABO và Rh: (Bài định nhóm máu)

2.2.3.2. Phát hiện các kháng thể bất thường: Coombs trực tiếp và Coombs gián tiếp

* Nghiệm pháp Coombs trực tiếp

- Nguyên tắc:

Ở một số bệnh nhân, trên bề mặt hồng cầu có gắn một loại kháng thể miễn dịch có bản chất là IgG được gắn với các kháng nguyên tương ứng nhưng không gây ngưng kết hồng cầu, sử dụng kháng thể kháng globulin người làm cầu nối để hồng cầu ngưng kết lại với nhau.



- Tiến hành: theo quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP COOMBS TRỰC TIẾP

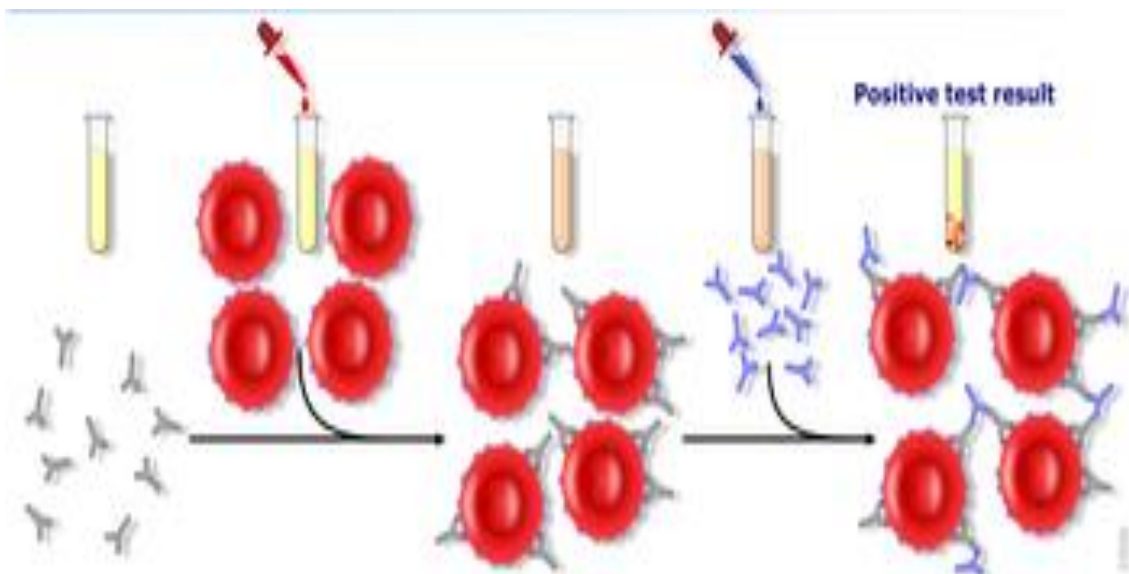
STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu: bơm kim tiêm vô khuẩn, ống nghiệm có chống đông EDTA. + Máy ly tâm, lam kính, kính hiển vi quang học, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet pasteur. - Hóa chất, thuốc thử + Cồn 70°, dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn. + Kháng globulin người (AHG)
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đôi chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Chuẩn bị và ghi thông tin lên ống nghiệm 1 để	Loại hết kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu	Ghi thông tin ống nghiệm 1: họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng. Dùng pipet lấy 2 giọt khối hồng cầu

	rửa hồng cầu người bệnh		vào ống nghiệm 1 và thêm NaCl 0,9%, ly tâm để HC lắng và dùng pipet hút bỏ hết dung dịch treo phía trên ống nghiệm, làm như vậy 3 lần. Hồng cầu được rửa sạch để loại bỏ các kháng nguyên, kháng thể bám trên bề mặt.
5	Pha thành dung dịch hồng cầu 5 %	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm	Bơm 0,5 ml nước muối sinh lý vào ống nghiệm sạch và thêm 25 µl khối hồng cầu mẫu đã rửa, lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc của ống nghiệm để có dung dịch hồng cầu mẫu 5% có màu hồng đều.
6	Trộn hồng cầu 5% của người bệnh và huyết thanh kháng globulin người vào ống nghiệm 2	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm và tránh nhầm lẫn	Cho vào ống nghiệm thứ hai: - 1 giọt hồng cầu bệnh nhân pha 5%. - 2 giọt kháng globulin người.
7	Lắc trộn và ly tâm	Để phản ứng xảy ra hoàn toàn	- Lắc đều và ly tâm 1000 vòng/phút/ 30 giây.
8	Đọc kết quả	Quan sát hiện tượng ngưng kết hoặc không ngưng kết	- Dùng pipette pasteur lấy 1 giọt hỗn dịch nhỏ lên 1 lam kính. Quan sát dưới kính hiển vi vật kính 10: để quan sát sự ngưng kết (các hồng cầu dính vào nhau thành đám) và không ngưng kết các hồng cầu tách rời và riêng rẽ nhau.
9	Nhận định kết quả	Kết quả chính xác	Dương tính: có kháng thể bất thường gắn lên trên bề mặt hồng cầu. Âm tính: không có kháng thể bất thường gắn lên trên bề mặt hồng cầu.

10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
11	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

* Nghiệm pháp Coombs gián tiếp

- Nguyên tắc: Trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể miễn dịch chống hồng cầu để xác định được các kháng thể này người ta dùng hồng cầu nhóm O của người bình thường gây cảm nhiễm (gắn kháng thể có trong huyết thanh) rồi tiếp tục làm như Coombs trực tiếp.



- Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP COOMBS GIÁN TIẾP

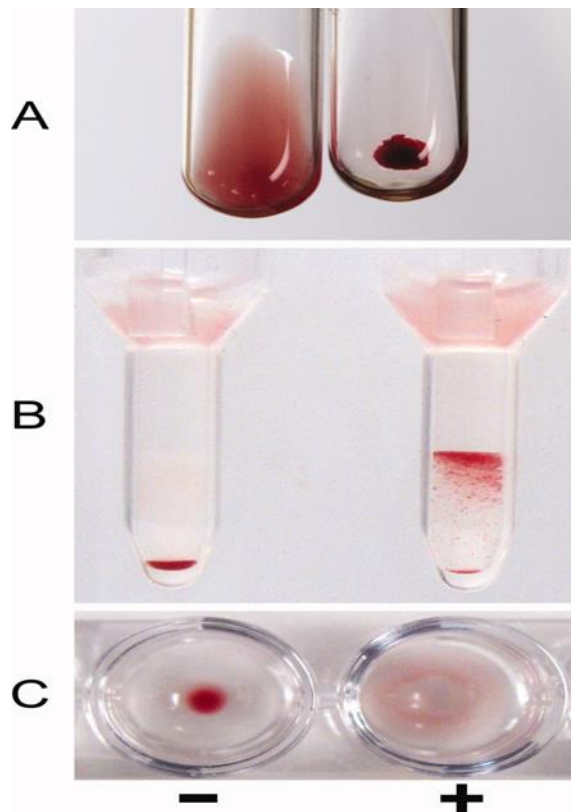
STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)

		túc khi làm việc	
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu: bơm kim tiêm vô khuẩn, ống nghiệm có chống đông EDTA. + Máy ly tâm, bình cách thủy, lam kính, kính hiển vi quang học, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet pasteur. - Hóa chất, thuốc thử + Cồn 70°, dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn, hồng cầu O Rh (+). + Kháng globulin người (AHG)
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	<ul style="list-style-type: none"> - Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Chuẩn bị và ghi thông tin lên 3 ống nghiệm 1, ống nghiệm 2, ống nghiệm 3	Tránh nhầm lẫn	<p>Thông tin ống nghiệm 1: họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng, HC O, Rh (+)..</p> <p>Thông tin ống nghiệm 2: họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng, HC O, Rh (+) 5%.</p> <p>Thông tin ống nghiệm 3 : họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng, Coombs gián tiếp</p>
5	Rửa hồng cầu O, Rh (+)	Đảm bảo kết quả chính xác	Ống nghiệm 1: Dùng pipets hút 2 giọt khối hồng cầu HC O, Rh (+) được và thêm NaCl 0,9%, ly tâm để

			HC lắng. Lấy pipet hút bỏ hết dung dịch treo phía trên ống nghiệm, làm như vậy 3 lần. Hồng cầu được rửa sạch để loại bỏ các kháng nguyên, kháng thể bám trên bề mặt.
6	Pha hồng cầu O, Rh (+) để thành dung dịch hồng cầu 5 %.	Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm	Ống nghiệm 2: Dùng pipets tự động hút 25 µl khối hồng cầu O, Rh (+) đã rửa, sau đó thêm 0,5 ml nước muối sinh lý vào ống nghiệm sạch và lắc trộn nhẹ nhàng theo chiều dọc 5 lần, khối HC được trộn đều với nước muối sinh lý tạo hỗn dịch có màu hồng.
7	Trộn huyết thanh của người bệnh và hồng cầu O Rh (+) 5%	Dùng hồng cầu O Rh (+) 5% làm hồng cầu cảm nhiễm	Ống nghiệm 3: Dùng pipet nhỏ 2 giọt huyết thanh bệnh nhân và 1 giọt hồng cầu O, Rh (+) 5% đã được pha ở trên.
8	Lắc trộn và ủ ở 37°C	Để phản ứng xảy ra hoàn toàn	- Lắc đều theo chiều dọc của ống nghiệm thành hỗn dịch có màu đồng nhất và ủ trong bình cách thủy 37°C trong 45 phút.
9	Rửa hồng cầu O Rh (+) đã được cảm nhiễm	Hồng cầu O Rh (+) đã được cảm nhiễm với huyết thanh bệnh nhân.	- Hồng cầu được rửa 3 lần bằng nước muối 0,9%. - HC được rửa sạch để loại bỏ các kháng nguyên, kháng thể bám trên bề mặt-
10	Trộn hồng cầu O Rh (+) đã được cảm nhiễm với kháng huyết thanh globulin	Để hồng cầu ngưng kết bởi kháng thể Coombs	Cho thêm 2 giọt huyết thanh kháng thể kháng globulin người đa giá (kháng thể Coombs).
11	Lắc trộn đều và ly tâm	Để hồng cầu ngưng kết bởi kháng thể Coombs.	- Lắc đều. - Ly tâm 1000 vòng/phút trong 30 giây

12	Đọc kết quả	Nhận định hồng cầu ngưng kết bởi kháng thể Coombs.	- Dùng pipette Pasteur lấy 1 giọt hỗn dịch nhỏ lên 1 lam kính. Quan sát hiện tượng ngưng kết hay không ngưng kết dưới kính hiển vi vật kính 10, quan sát hiện tượng ngưng kết (Dương tính) và không ngưng kết (Âm tính)
13	Nhận định kết quả	Kết quả đúng	Dương tính: có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh. Âm tính: không có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh.
14	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
15	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

*** Kết quả Coombs**



*** Biện luận kết quả**

- Bình thường

- + Coombs trực tiếp âm tính.
- + Coombs gián tiếp cũng âm tính.

- Bệnh lý

+ Coombs trực tiếp dương khi trên bề mặt hồng cầu bệnh nhân có kháng thể miễn dịch gắn vào kháng nguyên nhưng không gây ngưng kết hồng cầu.

+ Coombs gián tiếp khi trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể miễn dịch tự do chưa gắn lên hồng cầu.

+ Cả Coombs trực tiếp và gián tiếp dương khi trong máu bệnh nhân có cả kháng thể miễn dịch tự do trong huyết thanh và kháng thể miễn dịch đã gắn lên kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu bệnh nhân.

*** Nguyên nhân sai lầm**

- Huyết thanh Coombs hiệu lực kém do quá hạn, nhiễm trùng.
- Hồng cầu bệnh nhân bảo quản không đúng quy cách: ở nhiệt độ nóng (trên 37°C).
- Hồng cầu O làm giá đỡ trong Coombs gián tiếp không đạt yêu cầu.

2.2.3.3. Tiến hành phản ứng hòa hợp

*** Chuẩn bị**

1. Rửa hồng cầu hồng cầu nhóm O và của người cho 3 lần bằng nước muối 0,9% và pha thành dung dịch hồng cầu 5% để tiến hành phản ứng.

2. Ly tâm mẫu máu của bệnh nhân để tách huyết thanh.

3. Chuẩn bị hồng cầu chứng gắn IgG cho nghiệm pháp kháng globulin

- Rửa hồng cầu hồng cầu nhóm O 3 lần bằng nước muối 0,9% và pha thành dung dịch hồng cầu 5%.

- Nhỏ vào 1 ống nghiệm: 1 thể tích hồng cầu 5% và 2 thể tích anti D (IgG).

- Trộn đều, ủ 30 phút ở 37°C.

- Sau khi ủ, lấy ra rửa 3 lần bằng nước muối 0,9%

- Treo tế bào đã được cảm nhiễm trong nước muối để có dung dịch hồng cầu 5%.

- Lấy một thể tích dịch treo hồng cầu 5% đã được cảm nhiễm, thêm 2 thể tích kháng globulin, trộn đều và ly tâm ống nghiệm.

Phản ứng phải dương tính 3+. Nếu phản ứng này quá mạnh hoặc quá yếu sẽ không tốt cho việc làm chứng cho nghiệm pháp kháng globulin.

- Những tế bào đã được cảm nhiễm này có thể được bảo quản ở 4°C trong vòng 48 giờ.

*** Tiến hành phản ứng hoà hợp đầy đủ**

QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHẢN ỨNG HÒA HỢP

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu: bơm kim tiêm vô khuẩn, ống nghiệm có chống đông EDTA. + Máy ly tâm, bình cách thủy, lam kính, kính hiển vi quang học, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet pasteur.
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử		- Hóa chất, sinh phẩm + Cồn 70°, dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn, hồng cầu O; Rh (+). + Bộ huyết thanh mẫu: anti A, anti B,

			<p>anti A ; B, anti D</p> <p>+ Hồng cầu mẫu: HCM A, HCM B, HCM O.</p> <p>+ Kháng globulin người (AHG)</p>
3	<p>Chuẩn bị bệnh phẩm</p> <p>Kiểm tra đôi chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.</p> <p>Kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm</p>	<p>Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn</p>	<p>- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và máu tĩnh mạch được chống đông bằng EDTA và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi XN < 2h.</p> <p>- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>- Máu không đông, huyết tương không có màu hồng.</p>
4	<p>Định lại nhóm máu của bệnh nhân</p>	<p>Kiểm tra lại nhóm máu người bệnh chính xác</p>	<p>Bằng 2 phương pháp HTM và HC mẫu với 2 người định nhóm độc lập với 2 kỹ thuật khác nhau: ống nghiệm và gelcard. Kết quả xác định được nhóm máu của người bệnh.</p>
5	<p>Định lại nhóm máu của người cho (túi máu)</p>	<p>Kiểm tra lại nhóm máu người cho (túi máu) chính xác</p>	<p>Bằng 2 phương pháp HTM và HC mẫu với 2 người định nhóm độc lập với 2 kỹ thuật khác nhau: ống nghiệm và gelcard. Kết quả xác định được nhóm máu của người cho (túi máu)</p>
6	<p>Ghi thông tin lên 2 ống nghiệm và pha hồng cầu người cho và người nhận</p> <p>5 % (túi máu)</p>	<p>Chuẩn bị đúng điều kiện xét nghiệm</p>	<p>Ống nghiệm 1: Ghi thông tin: họ tên, mã số, khoa/phòng của người bệnh.</p> <p>Ống nghiệm 2: Ghi thông tin: họ tên, mã số, khoa/phòng của người cho (túi máu).</p> <p>Cho vào mỗi ống nghiệm 0,5 ml nước muối sinh lý và thêm 25 µl khối hồng</p>

			cầu của người bệnh (ống nghiệm 1) ; người cho (ống nghiệm 2) đã rửa, lắc trộn nhẹ nhàng, được hỗn dịch hồng cầu 5%.
7	Đánh dấu ống nghiệm 3 và 4	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên, mã số, khoa phòng lên 2 ống nghiệm 3,4
8	Pha ống 3	Làm phản ứng chéo giữa: HT của người nhận và HC của người cho	Cho vào ống 3: 2 giọt huyết thanh người bệnh (người nhận) và 2 giọt HC người cho 5%, lắc trộn nhẹ nhàng tạo thành hỗn dịch có màu đồng nhất.
9	Pha ống 4	Làm phản ứng chéo giữa: HC của người nhận và HT của người cho	Cho vào ống 4: 2 giọt hồng cầu 5 % người bệnh (người nhận) và 2 giọt huyết thanh người cho 5%, lắc trộn nhẹ nhàng tạo thành hỗn dịch có màu đồng nhất.
10	Làm phản ứng chéo ở điều kiện nhiệt độ phòng, nước muối sinh lý	Làm phản ứng chéo để phát hiện các kháng thể lạnh (IgM)	Đặt 2 ống 3 và 3 ở nhiệt độ phòng 15-30 phút. Ly tâm 1000v/phút x 1 phút. Đọc kết quả - Nếu ống 3: ngưng kết trả lời ngay chứng ko phù hợp không truyền được máu. - Nếu ống 3 không ngưng kết làm tiếp bước sau.
11	Làm phản ứng chéo ở điều kiện nhiệt độ 37°C, môi trường albumin	Làm phản ứng chéo để phát hiện các kháng thể miễn dịch (IgG)	- Đặt 2 ống 3, 4 vào bình cách thủy 37°C từ 30 đến 50 phút, lấy ra và ly tâm 1000v/phút x 1 phút, đọc kết quả ngưng kết trả kết quả chứng không phù hợp không truyền được. Ống 3 không ngưng kết, tiếp tục làm bước tiếp theo.
12	Làm phản ứng Coombs gián tiếp	Phát hiện các kháng thể miễn dịch.	Rửa 2 HC 2 ống nghiệm 3 và 3 bằng NaCL 0,9% 3 lần - Thực hiện nghiệm pháp Coomb trực tiếp và Coomb gián tiếp - Đọc kết quả.
13	Đọc kết quả	Xác định sự hòa hợp	- Nếu 2 ống 3 và 4 không ngưng kết

		giữa máu người cho và huyết thanh người nhận và ngược lại.	thì máu người cho và người nhận phù hợp. - Nếu 2 ống đều ngưng kết hay ống 3 ngưng kết khi truyền khối tiêu cầu, ống 4 ngưng kết khi truyền huyết tương thì ko truyền được.
14	Nhận định kết quả	Xác định các xét nghiệm thực hiện khi truyền máu hoặc các chế phẩm máu.	- Truyền máu toàn phần phải làm cả 2 ống + Truyền được: khi kết quả bước 10, 11, 12, 13 âm tính. + Không truyền được khi các bước 10, hoặc 11, hoặc 12, hoặc 13 dương tính. - Truyền khối hồng cầu chỉ làm ống 1 - Truyền huyết tương hoặc khối tiêu cầu chỉ làm chéo ống 2
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
16	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

* Đánh dấu ống 3 và ống 4:

+ Ống 1: Huyết thanh người bệnh + Hồng cầu người cho 5%

+ Ống 2: Hồng cầu bệnh nhân 5% + Huyết thanh người cho

* Yêu cầu kỹ thuật:

+Truyền máu toàn phần: Làm chéo cả 2 ống

+Truyền khối hồng cầu: Làm chéo ống 3

+Truyền huyết tương, khối tiêu cầu: Làm chéo ống 4

* Kỹ thuật làm chéo ống 1 đầy đủ như sau:

+ Phản ứng hòa hợp trong phát máu toàn phần: chéo HC người cho và huyết thanh người nhận và HC người nhận và huyết thanh người cho.

- + Truyền khối hồng cầu: chéo HC người cho và huyết thanh người nhận
- + Truyền huyết tương và khối tiểu cầu: chéo HC người nhận và huyết thanh người cho
- Đọc và nhận định kết quả trong 1 số tình huống dạy học

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nếu kết quả một trong những điều kiện, nhiệt độ của phản ứng hoà hợp đầy đủ trên dương tính (ngưng kết) phải tiến hành chọn máu cho bệnh nhân.
- Nếu kết quả phản ứng hoà hợp đầy đủ ở các điều kiện, nhiệt độ trên đều âm tính (không ngưng kết), máu người cho hoà hợp với máu của bệnh nhân. Túi máu được phát để truyền cho bệnh nhân.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Hồng cầu bệnh nhân tự ngưng kết do vậy phải rửa bằng nước muối ấm 37°C

4. 3. Nhận định kết quả:

- Nếu kết quả một trong những điều kiện, nhiệt độ của phản ứng hoà hợp đầy đủ trên dương tính (Ngưng kết) phải tiến hành chọn máu cho bệnh nhân.
- Nếu kết quả phản ứng hoà hợp đầy đủ ở các điều kiện, nhiệt độ trên đều âm tính (Không ngưng kết), máu người cho hoà hợp với máu của bệnh nhân. Túi máu được phát để truyền cho bệnh nhân.

PHẦN THỰC HÀNH
BÀI 5. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN MÁU CHẢY
MÁU ĐÔNG

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện được quy trình kỹ thuật xác định thời gian máu chảy, máu đông.
- Nhận định và giải thích được kết quả các xét nghiệm trên trong 1 số tình huống.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm

NỘI DUNG

1. Thời gian máu chảy

1.1. Nguyên tắc

Đo thời gian từ lúc tạo một vết thương tiêu chuẩn ở vùng giữa daï tai đến khi máu ngưng chảy. Thời gian máu chảy tùy thuộc vào sự bền vững của thành mạch, số lượng và chức năng của tiểu cầu.

1.2. Chuẩn bị

* Dụng cụ, hóa chất

- Đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.
- + Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.

* Bệnh phẩm

- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh có trùng khớp thông tin như: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Người bệnh đồng ý hợp tác

1.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

1.4. Các bước cần lưu ý

- Bước 4 , 5 cần lưu ý có thể ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm

1.5. Kết quả

- Bình thường: 2- 4 phút

- Thời gian máu chảy kéo dài trên 5 phút, cần kiểm tra lại ở tai đối diện.

* **Biện luận**

Thời gian máu chảy kéo dài trong:

- Bệnh thành mạch kém bền vững.
- Bệnh giảm tiểu cầu hoặc rối loạn chức năng tiểu cầu.
- Bệnh Von Willebrand.
- Kết quả thời gian chảy máu kéo dài sau một lần làm xét nghiệm chưa đủ chính xác để kết luận bệnh. Do đó cần thực hiện kiểm tra lần hai ở tai đối diện.

1.6. Nguyên nhân sai lầm

- Tạo vết thương không đúng tiêu chuẩn.
- + Vết đâm quá nông: Rút ngắn thời gian chảy máu.
- + Vết đâm quá sâu: Kéo dài thời gian chảy máu.
- Trường hợp dái tai lạnh (do lo sợ, do thời tiết lạnh) nên chà xát dái tai cho ấm trước khi thực hiện xét nghiệm.
- Trong trường hợp chưa đến 30 giây máu đã nhỏ thành giọt lớn, hãy để máu nhỏ xuống bông thấm nước, sau đó cứ đúng 30 giây tiếp theo dùng giấy thấm giọt máu.
- Sau 10 phút vẫn còn chảy máu, ngừng không thực hiện trắc nghiệm nữa. Làm ngưng chảy máu bằng cách dùng bông ép chặt vết thương trong 5 phút hay dùng bột thrombin cầm máu.
- Vì dái tai trẻ em quá mỏng không thích hợp cho việc tạo vết thương như thế, nên phải chích ở cạnh bên ngón chân cái hoặc ở gót chân.
- Động tác thấm máu từ vết chích quá mạnh làm phá vỡ đỉnh tiểu cầu vừa thành lập.

1.7. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật theo bảng kiểm

18. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN MÁU CHẢY

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc		

		gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.		
	Chuẩn bị hóa chất	+ Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.		
3	Chuẩn bị người bệnh Giải thích cho người bệnh	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh có trùng khớp thông tin như: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Người bệnh đồng ý hợp tác		
4	Xác định vị trí chích máu và sát khuẩn.	Vùng da tại không bị tổn thương, sát khuẩn bằng cồn 70° từ trong ra ngoài, sát khuẩn sạch và để khô tự nhiên.		
5	Chích máu bằng kim chích vô khuẩn vào vùng giữa da tai	Vết thương được tạo ra có kích thước 2x2 mm, để máu chảy tự nhiên.		
6	Thấm máu bằng giấy thấm sạch và Bấm đồng hồ bấm giây	Máu được thấm bằng giấy thấm, khi thấm không chạm vào da. Cứ 30 giây thấm 1 lần và thấm cho đến khi máu ngừng chảy dùng bấm đồng hồ dừng lại.		
7	Ghi lại thời gian máu chảy	Đếm các vết máu được thấm trên giấy thấm		
8	Nhận định kết quả	- 2- 4 phút là bình thường, Nếu > 5 phút KT tai đối diện. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng		

		quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
10	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

2. Thời gian máu đông trên lam kính (phương pháp Millian)

2.1. Nguyên tắc

Là thời gian thăm dò tốc độ của sự xuất hiện sợi huyết trong giọt máu.

2.2. Chuẩn bị

* Dụng cụ, hóa chất

- Đầy đủ và đúng yêu cầu

+ Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.

+ Lam, hộp petri

* Hóa chất

+ Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.

* Bệnh phẩm

- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh có trùng khớp thông tin như: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.

- Người bệnh đồng ý hợp tác

2.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

2.4. Nhận định kết quả

- Trị số bình thường: 5 phút đến 10 phút.

- Kéo dài trên 10 phút là bất thường.

2.5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

2.6. Lượng giáat bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN MÁU ĐÔNG (PP MILLIAN)

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ		

		công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, lam kính, đĩa petri, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.		
	Chuẩn bị hóa chất	- Cồn sát khuẩn		
3	Chuẩn bị người bệnh - Kiểm tra đối chiếu người bệnh với phiếu yêu cầu xét nghiệm - Giải thích cho người bệnh	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh trùng khớp thông tin như: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Người bệnh đồng ý hợp tác		
4	Đánh số lam kính	Đánh số lam kính 1 và lam kính 2		
5	Xác định vị trí chích máu	Vị trí chích máu thường là đầu ngón tay áp út bàn tay trái, là vị trí ít tiếp xúc sau khi trích máu. Chọn vị trí da lành, không bị tổn thương.		
6	Sát khuẩn vị trí chích máu	Sát trùng sạch đầu ngón tay áp út của người bệnh, để khô tự nhiên		
7	Chích máu và nhỏ máu lên lam kính	Tạo vết chích bằng kim chích vô khuẩn ở đầu ngón tay: căng da và chích nhanh, loại bỏ giọt máu đầu. Nhỏ lên chính giữa mỗi lam kính 1 giọt máu có đường kính khoảng 0,3 cm. Dùng 2 đĩa petri đặt lên lam kính có giọt máu		
8	Tính thời gian máu đông	Bấm giờ khi nhỏ máu lên lam kính thứ 2. Chờ khoảng 3 phút, sau đó quan sát lam kính thứ nhất, cứ 30 giây quan sát 1 lần. Khi giọt máu 1 đông thì nghiêng giọt máu thứ 2 lên		

		quan sát nếu xuất hiện sợi huyết (xuất hiện hiện tượng giọt máu đông) ở lam kính thứ 2 thì bấm đồng hồ dừng lại. Ghi lại thời gian máu đông		
9	Nhận định kết quả	- 5-10 phút là bình thường; > 10 phút là kéo dài. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
11	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

3. Phương pháp Lee - white (Phương pháp trong ống nghiệm)

3.1. Nguyên tắc

Thời gian từ khi máu tiếp xúc với bề mặt ống nghiệm đến khi hình thành cục máu đông là thời gian máu đông.

3.2. Chuẩn bị

* Dụng cụ, hóa chất

- Đầy đủ và đúng yêu cầu

+ Dụng cụ chích máu vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.

+ Lam, hộp petri

* Hóa chất

+ Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.

* Bệnh phẩm

- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh có trùng khớp thông tin như: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.

- Người bệnh đồng ý hợp tác

3.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

3.4. Các lưu ý hoặc nguyên nhân sai lầm

Bước 5, 6, 9, 10.

3.5. Kết quả

- Bình thường: 8-10 phút

- Trên 12 phút: bất thường.

Thời gian máu đông kéo dài khi có sự rối loạn đường đông máu nội sinh như bệnh Hemophilia, điều trị heparin...Phương pháp thực hiện trong ống chính xác hơn phương pháp trên kính.

Thời gian máu đông là xét nghiệm đơn giản, độ chính xác bị hạn chế dù đã được thực hiện đúng quy trình kỹ thuật.

3.6. Nguyên nhân sai lầm

- Ống nghiệm không sạch.

- Nhiệt độ bình thường cách thủy không đúng.

- Kỹ thuật lấy máu sai: chọc hút nhiều lần, kim quá to...

- Lượng máu lấy ra quá nhiều hoặc quá ít.

- Kỹ thuật đọc độ đông không đảm bảo.

3.7. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

3.8. Lượng giá bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN MÁU ĐÔNG (PP LEE- WHITE)

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục: đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bơm tiêm sử dụng 1 lần vô khuẩn, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, ống nghiệm khô sạch, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế.		
	Chuẩn bị hóa chất	+ Còn sát khuẩn		
3	Chuẩn bị người bệnh - Kiểm tra đối chiếu	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và người bệnh trùng khớp thông tin như: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.		

	người bệnh với phiếu yêu cầu xét nghiệm - Giải thích cho người bệnh	Người bệnh đồng ý hợp tác		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm không có chất chống đông	Đánh số 2 ống nghiệm 1; 2 và ghi đầy đủ thông tin: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Cho máu vào ống nghiệm	Mỗi ống nghiệm cho 2 ml máu tĩnh mạch 2 ml		
6	Bấm đồng hồ bấm giây	Bấm đồng hồ khi máu bắt đầu tiếp xúc với thành ống nghiệm số 1.		
7	Đề 2 ống nghiệm vào bình cách thủy	Nhiệt độ 37°C, trong 3 phút		
8	Đọc kết quả ống 1	Đọc kết quả ống 1: Kiểm tra bằng cách nghiêng nhẹ ống 1 góc 45°. Cứ 30 giây nghiêng 1 lần cho đến khi máu đông hoàn toàn bằng cách dốc ống nghiệm, khối máu đông ko chảy xuống được.		
9	Đọc kết quả ống 2	Sau khi ống 1 đã đông , cứ sau 30 giây nghiêng ống 2 cho đến khi đông hoàn toàn. Ghi lại kết quả bằng giấy		
10	Nhận định kết quả	5-10 phút là bình thường; > 10 phút là kéo dài		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
12	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 6. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN CO CỤC MÁU - THỜI GIAN HOWELL

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được quy trình xét nghiệm thời gian co cục máu và Howell
- Nhận định và giải thích được kết quả các xét nghiệm trên trong 1 số tình huống.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm

NỘI DUNG

1. Thời gian Howell

1.1. Nguyên tắc

Quá trình đông máu sẽ bị ngừng do sự có mặt của Natricitrat ở giai đoạn cần ion CaCl_2 . Quá trình đông máu sẽ được tái lập với sự hiện diện của ion Ca^{2+} . Dựa vào đặc tính này, người ta khảo sát thời gian đông của huyết tương sau khi cho thừa Calci để đánh giá đường đông máu nội sinh với sự có mặt của tiểu cầu

1.2. Chuẩn bị

*** Dụng cụ**

- Đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Đồng hồ bấm giây, ống nghiệm thủy tính khô sạch, bình cách thủy, thùng rác thải y tế.

*** Hóa chất**

- Cồn sát khuẩn, CaCl_2 , Natri citrat 3,8%.

*** Bệnh phẩm:**

- Huyết tương chứng giàu tiểu cầu.
- Máu tĩnh mạch
- + Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- + Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/ máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

+ Ly tâm 2000v/ phút x 5 phút được huyết tương nghèo tiểu cầu.

1.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

1.4. Kết quả

- Thời gian Howell bình thường từ 1 phút 15 giây đến 2 phút 30 giây. Trị số này có thể thay đổi từng phòng xét nghiệm.
- Nếu thời gian Howell của ống chứng nằm ngoài giá trị trên thì phải kiểm tra lại thuốc thử, kỹ thuật và máu chứng.
- Thời gian Howell kéo dài trong các trường hợp bệnh lý có rối loạn đường đông máu nội sinh do thiếu hụt các yếu tố đông máu (như bệnh Hemophilia) hoặc do các kháng đông lưu hành hoặc do điều trị heparin.
- Thời gian Howell là một xét nghiệm đơn giản nhưng độ chính xác không cao vì vậy hiện nay nhiều phòng xét nghiệm đã áp dụng xét nghiệm APTT thay cho thời gian Howell để đánh giá đường đông máu nội sinh.

1.5. Nguyên nhân sai lầm

- Ống nghiệm bẩn, không đúng kích thước.
- Nhiệt độ bình cách thuỷ không đủ 37⁰C.
- Chất lượng CaCl₂ M/40.
- Mẫu huyết tương được chuẩn bị sai: không đúng chất chống đông, tỷ lệ chống đông, ly tâm mạnh.

1.6. Các bước cần lưu ý

1.7. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

1.8. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN HOWELL

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		

2	Chuẩn bị dụng cụ	<ul style="list-style-type: none"> - Đầy đủ và đúng yêu cầu + Đồng hồ bấm giây, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, bình cách thủy, thùng rác thải y tế. 		
	Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm.	<ul style="list-style-type: none"> - Cồn sát khuẩn, CaCl₂, Natri citrat 3,8%. + Huyết tương chứng giàu tiểu cầu. 		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	<ul style="list-style-type: none"> - Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng. 		
4	Ly tâm ống bệnh phẩm hoặc để lắng	Ly tâm 1000v/phút x 5 phút hoặc để lắng.		
5	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm thủy tinh	Đánh số ống nghiệm 1 (Ống chứng) và trên ống nghiệm 2 ghi đầy đủ thông tin người bệnh: Họ tên/ mã số và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
6	Cho huyết tương vào ống nghiệm thủy tinh đã ghi đủ thông tin	Ống nghiệm 1: 0,2 ml huyết tương chứng. Ống nghiệm 2: 0,2 ml huyết tương người bệnh.		
7	Để ống nghiệm huyết tương và CaCl ₂ vào bình cách thủy.	Nhiệt độ 37°C trong 5 phút		
8	Cho CaCl ₂ vào ống nghiệm 1. Bấm đồng hồ bấm giây	CaCl ₂ được hút bằng micropipette 0,2 ml, nhỏ vào ống huyết tương 1 và lắc đều để huyết tương và CaCl ₂ tạo thành hỗn dịch.		

		Bấm đồng hồ bấm giây đồng thời khi cho CaCl_2 vào ống nghiệm 1		
9	Cho CaCl_2 vào ống nghiệm 2	Sau 15-30 giây thì cho 0,2 ml CaCl_2 M/40 vào ống nghiệm 2 và lắc đều để huyết tương và CaCl_2 tạo thành hỗn dịch.		
10	Đọc kết quả.	Sau 1 phút nghiêng ống 1, cứ 30 giây sau lại nghiêng 1 lần cho đến khi đông chắc. Thì làm như vậy với ống nghiệm 2. Khi ống nghiệm 2 đông chắc thì bấm tắt đồng hồ và ghi kết quả.		
11	Nhận định kết quả	- Mẫu chúng nằm trong khoảng: 1 phút 15 giây đến 2 phút 30 giây. Nếu ngoài khoảng thì kiểm tra lại dụng cụ, hóa chất, kỹ thuật thực hiện. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
13	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

2. Thời gian co cục máu

2.1. Nguyên tắc

Quá trình đông máu là quá trình hình thành cục máu đông do vai trò của tiểu cầu và sợi huyết, sau đó sợi huyết co lại, quá trình này có thể đánh giá sơ bộ vai trò của tiểu cầu, số lượng và chất lượng của sợi huyết.

2.2. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Đầy đủ và đúng yêu cầu

+ Bơm kim tiêm nhựa, bông, cồn sát trùng.

- + Bình cách thủy 37⁰ C.
- + Hai ống nghiệm thủy tinh sạch kích thước 75 x 9,5 mm.
- + Đồng hồ bấm giây, thùng rác thải y tế.
- * Hóa chất
- Cồn sát khuẩn.
- * Bệnh phẩm:
- Máu tĩnh mạch không chống đông: 4 ml
- + Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- + Máu không chống đông; khi thực hiện XN ngay sau khi lấy máu.

2.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

2.4. Kết quả

Tạo cục máu tách biệt rõ ràng và nổi lên trên. Phần trên cục máu dính vào thành ống. Phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50 đến 65% thể tích máu ban đầu.

Có hai cách để đánh giá kết quả:

* Dựa vào mức độ co của cục đông (co hoàn toàn, co không hoàn toàn, không co, cục đông bị tan).

- Cục máu co hoàn toàn

Tạo cục máu bờ rõ ràng, phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50- 60% thể tích máu ban đầu, không có hồng cầu tự do

- Cục máu co không hoàn toàn

Khối máu hầu như bám dính hoàn toàn vào thành ống, không co hoặc co rất ít. Có thể có một ít huyết thanh được tiết ra.

Phần huyết thanh còn lại ít dưới 40% thể tích máu ban đầu hoặc còn hồng cầu tự do.

- Cục máu không co

Huyết tương vàng không tạo riêng phần huyết thanh ở trên và cặn hồng cầu lắng xuống đáy.

- Cục máu bị nát

Hầu hết cầu tự do trong huyết thanh. Máu nghèo sợi fibrin hoặc tăng tiểu cầu.

* Dựa vào lượng hồng cầu tự do còn lại dưới đáy ống sau khi co và chia ra làm các mức độ: (+), (++) , (+++)

Tùy theo mức độ bệnh lý số lượng, chất lượng tiểu cầu hoặc sợi huyết sẽ gây nên tình trạng cục máu không co, co không hoàn toàn hoặc bị tan (hình.....)

2.5. Nguyên nhân sai lầm

- Lượng máu lấy không đúng.
- Ống nghiệm không sạch, kích thước không đúng.
- Nhiệt độ bình cách thủy không đúng 37⁰ C.

2.6. Các bước cần lưu ý

2.7. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

2.8. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN CO CỤC MÁU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu tĩnh mạch, bông thấm nước, đồng hồ bấm giây, giấy thấm, thùng để vật sắc nhọn, thùng rác thải y tế. + Bình cách thủy, ống nghiệm thủy tính khô sạch. + Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín.		
	Chuẩn bị hóa chất			
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không chống đông thực hiện XN ngay khi lấy máu.		

4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm thủy tinh	Đánh số ống nghiệm 1 và ống nghiệm 2 ghi đầy đủ thông tin người bệnh: Họ tên/ mã số và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Cho máu vào ống nghiệm 1	Máu được cho vào ống nghiệm 1 là 2 ml máu tĩnh mạch. Bơm máu nhẹ và từ từ để chảy vào thành ống nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu, để lắng huyết tương có màu vàng chanh. Bấm đồng hồ bấm giây khi máu bắt đầu tiếp xúc với thành ống nghiệm 1.		
6	Cho máu vào ống nghiệm 2	Máu được cho vào ống nghiệm 2: 2 ml máu tĩnh mạch. Bơm máu nhẹ và từ từ để chảy vào thành ống nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu, để lắng huyết tương có màu vàng chanh.		
7	Đặt 2 ống nghiệm vào bình cách thủy	Nhiệt độ 37°C, trong 4 giờ		
8	Đọc kết quả	Kết quả được đọc sau 2 giờ và sau 4 giờ. Có 4 mức độ: - Cục máu co hoàn toàn, co không hoàn toàn, không co, cục máu bị nát.		
9	Nhận định kết quả	- Bình thường: cục máu co hoàn toàn là cục máu bờ rõ ràng, phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50- 60% thể tích máu ban đầu, không có hồng cầu tự do hoặc bất thường (cục máu không co, cục máu bị nát, cục máu co không hoàn toàn). - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng		

		quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
11	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 7. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN PROTHROMBIN

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được quy trình xét nghiệm thời gian prothrombin.
- Nhận định và giải thích được kết quả các xét nghiệm trên trong 1 số tình huống.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Máu sau khi chống đông bằng natricitrat 3,8%, quá trình đông theo đường ngoại sinh sẽ được khởi động lại khi được bổ sung ion CaCl_2 và thromboplastin.

2. Chuẩn bị

* Dụng cụ: Đầy đủ và đúng yêu cầu

+ Đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet tự động, thùng rác thải y tế.

* Hóa chất

+ Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín. CaCl_2 M/40, Thromboplastin Calci.

* Bệnh phẩm

+ Huyết tương nghèo tiểu cầu chứng.

+ Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.

+ Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/ máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

+ Ly tâm 2.000 v/phút trong 10 phút. Tách lấy huyết tương nghèo tiểu cầu.

3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

4. Kết quả

Tùy theo loại thuốc thử sử dụng.

- Trị số bình thường từ 11 đến 13 giây khi sử dụng thromboplastin có hoạt tính đầy đủ. Kéo dài hơn huyết tương chứng 2 giây là bệnh lý.

- Kết quả có thể biểu thị bằng thời gian (giây) hoặc bằng phần trăm.
- Ngày nay, để tránh những sai sót kết quả do các loại thromboplastin khác nhau, Ủy ban chuẩn hóa quốc tế của Tổ chức y tế thế giới yêu cầu mỗi loại thromboplastin phải ghi rõ I.S.I (chỉ số độ nhạy quốc tế). Từ đó tính ra chỉ số hiệu chỉnh quốc tế INR.

$$\text{INR} = (\text{PT bệnh} / \text{PT chứng})^{\text{ISI}}$$

5. Biện luận

Thời gian Quick khảo sát con đường đông máu ngoại sinh gồm các yếu tố đông máu VII, X, V, II và I.

Thời gian Quick kéo dài trong các trường hợp rối loạn đường đông máu ngoại sinh như:

- Thiếu hụt các yếu tố: VII, X, V, II, I.
- Dùng thuốc chống đông dicumaron.
- Điều trị thuốc chống đông kháng vitamin K.
- Suy gan.

6. Nguyên nhân sai lầm

- Sai tỷ lệ chống đông, có hiện tượng đông dây ở mẫu bệnh phẩm.
- Tiến hành kỹ thuật sau 4 giờ kể từ khi lấy máu với mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.
- Do chất lượng thromboplastin không đảm bảo hoặc sử dụng thromboplastin đã bảo quản lâu sau khi pha chế.

7. Các bước cần lưu ý

8. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

9. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN PT

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		

2	Chuẩn bị dụng cụ	<ul style="list-style-type: none"> - Đầy đủ và đúng yêu cầu + Đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet tự động, thùng rác thải y tế. + Cồn sát khuẩn đựng trong lọ thủy tinh nắp kín. CaCl₂ M/40, Thromboplastin Calci. - Huyết tương chứng nghèo tiểu cầu 		
3	Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	<ul style="list-style-type: none"> - Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/ máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng. 		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên 2 ống nghiệm thủy tinh	Đánh số ống nghiệm 1 (ống chứng) và ống nghiệm 2 ghi đầy đủ thông tin người bệnh: Họ tên/ mã số và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Cho huyết tương chứng và huyết tương nghèo tiểu cầu vào 2 ống nghiệm thủy tinh đã ghi đủ thông tin	Ống nghiệm số 1: 0,2ml huyết tương chứng. Ống nghiệm số 2: 0,2 ml huyết tương của người bệnh.		
6	Đề nhiệt độ 37°C	Hai ống nghiệm số 1 và 2 được ủ 37°C x 5 phút.		
7	Cho Thromboplastin calci vào ống số 1 Bấm đồng hồ tính giờ.	Cho 0,2 ml thromboplastin calci vào ống 1 (ống chứng), bấm đồng hồ tính giờ. Trộn đều thromboplastin calci trong bình cách thủy 37°C.		

8	Quan sát màng đông của ống chứng	Sau 9 giây đảo nhẹ và quan sát nhanh thấy màng đông bám đồng hồ dừng lại. Ghi lại thời gian		
9	Cho thromboplastin calci vào ống số 2 (ống người bệnh). Bám đồng hồ tính giờ.	Cho 0,2 ml thromboplastin calci vào ống nghiệm 2, bám đồng hồ tính giờ. Trộn đều thromboplastin calci trong bình cách thủy 37°C		
10	Quan sát màng đông của ống người bệnh	Sau 9 giây đảo nhẹ và quan sát nhanh thấy màng đông bám đồng hồ dừng lại. Ghi lại thời gian		
11	Đọc kết quả và nhận xét kết quả	Bình thường 11- 13 giây Mẫu của người bệnh kéo dài hơn so với mẫu chứng >2 giây là bệnh lý - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
13	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 8. THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN THROMBOPLASTIN TỪNG PHẦN HOẠT HÓA

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được quy trình xét nghiệm thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa (APTT.)
- Nhận định và giải thích được kết quả các xét nghiệm trên trong 1 số tình huống.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm.

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Đánh giá thời gian phục hồi CaCl_2 của huyết tương citrat hóa bằng cách ủ với một lượng thừa Kaolin và cephalin. Kaolin có tác dụng hoạt hóa yếu tố tiếp xúc. Cephalin thay thế yếu tố 3 của tiêu cầu. Xét nghiệm này giúp đánh giá chính xác các yếu tố khác đường đông máu nội sinh.

2. Chuẩn bị

*** Dụng cụ**

- Đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet tự động,
- + Thùng rác thải y tế.

*** Hóa chất**

- Natricitrat 3,8%, cephalin- Kaolin, CaCl_2 0,025M.
- Nước cất

*** Bệnh phẩm**

- + Huyết tương nghèo tiêu cầu chúng.
- + Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- + Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/ máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

+ Ly tâm 2.000 v/phút trong 10 phút. Tách lấy huyết tương nghèo tiểu cầu.

3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

4. Kết quả

Tùy theo loại thuốc thử sử dụng, trị số bình thường của APTT thay đổi từ 25 - 30 giây so với huyết tương chứng.

Kéo dài hơn huyết tương chứng 8 giây là thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa kéo dài.

* Biện luận

- Đường đông máu nội sinh gồm các yếu tố đông máu tham gia như: XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I và các yếu tố tiếp xúc.

- APTT kéo dài do:

+ Giảm tiểu cầu nặng.

+ Thiếu hụt các yếu tố thuộc đường đông máu nội sinh: IX, VIII, X, V, II, I

+ Có chất kháng đông lưu hành.

+ Đang điều trị bằng heparine.

+ Suy gan nặng

5. Nguyên nhân sai lầm

- Thời gian ủ không đủ.

- Không trộn đều thuốc thử Cephalin - Kaolin trước khi sử dụng. Vì Kaolin rất dễ lắng xuống đáy ống nghiệm.

- Sai tỷ lệ chống đông, có hiện tượng đông dây ở mẫu bệnh phẩm.

- Tiến hành kỹ thuật sau 4 giờ kể từ khi lấy máu với mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Sinh viên thực hiện các bước giống quy trình xác định thời gian Howell, giảng viên thực hiện mẫu các bước còn lại

6. Các bước cần lưu ý

7. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

8. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THỜI GIAN APTT

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt

1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet tự động, thùng rác thải y tế. - Natricitrat 3,8%, cephalin- Kaolin, CaCl ₂ 0,025M, nước cất		
	Chuẩn bị hóa chất, sinh phẩm	+ Huyết tương chứng nghèo tiểu cầu		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu chống đông bằng Natricitrat 3,8%, tỷ lệ dung dịch chống đông/máu là 1/9; thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Đánh dấu 2 ống nghiệm thủy tinh: ống chứng và ống huyết tương người bệnh	Đánh số ống nghiệm 1 (ống chứng) và ống 2 (ống của người bệnh), ghi đủ thông tin của người bệnh, tên, mã số		
5	Cho huyết tương chứng và huyết tương nghèo tiểu cầu vào 2 ống nghiệm thủy tinh đã ghi đủ thông tin	Cho vào ống nghiệm 1: 0,1 ml huyết tương chứng Ống nghiệm 2: 0,1 ml huyết tương của người bệnh.		
6	Nhỏ Cephalin – kaolin vào ống huyết tương và lắc trộn	0,1 ml Cephalin – kaolin được nhỏ lần lượt vào 2 ống nghiệm trong bình cách thủy trong 3 phút. Lắc trộn đều		

7	Cho CaCl ₂ 0,025M vào ống nghiệm 1 (ống chứng) và bấm giờ	Cho 0,1 ml CaCl ₂ 0,025M, vào ống nghiệm 1 và cứ 15 giây lại nghiêng ống nghiệm 1 lần, bấm đồng hồ dừng ngay khi thấy ống nghiệm 1 đông lại. Ghi thời gian		
8	Cho CaCl ₂ 0,025M vào ống nghiệm 2 (ống người bệnh) và bấm giờ	Cho 0,1 ml CaCl ₂ 0,025M, vào ống nghiệm 2 và cứ 15 giây lại nghiêng ống nghiệm 1 lần, bấm đồng hồ dừng ngay khi thấy ống nghiệm 2 đông lại. Ghi thời gian		
9	Đọc và nhận định kết quả	<ul style="list-style-type: none"> - Bình thường: 30-35 giây với huyết tương chứng - Kéo dài: khi thời gian đông của mẫu bệnh nhân hơn mẫu chứng 8 giây - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần 		
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay 		
11	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 9. THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh

Mục tiêu

* Kỹ năng

- Thực hiện được quy trình kỹ thuật định nhóm máu hệ ABO bằng 2 phương pháp.
- Nhận định và giải thích được kết quả nhóm máu của hệ nhóm máu ABO và Rh bằng 2 phương pháp.
- Nhận định được kết quả xét nghiệm nhóm máu trong 1 số tình huống.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm.

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Nhóm máu ABO được xác định nhờ sự có mặt của kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể trong huyết thanh. Hai thành phần này khi gặp nhau sẽ gây phản ứng ngưng kết đặc hiệu.

Dùng huyết thanh mẫu chứa *kháng thể đặc hiệu* đã biết để định loại *kháng nguyên nhóm máu* của hồng cầu dựa vào phản ứng ngưng kết.

Dùng hồng cầu mẫu chứa kháng nguyên đặc hiệu đã biết để định loại kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

Cho huyết thanh chống D (anti - D) tác dụng với hồng cầu bệnh nhân cần định nhóm. Hồng cầu mang kháng thể D sẽ bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng D.

2. Chuẩn bị

2.1. Dụng cụ

- Phiến đá 12 x 12 cm.
- Bút viết kính.
- Que thủy tinh.
- Máy ly tâm.
- Pipette Pasteur.
- Bông.
- Bình cách thủy 37⁰ C.

2.2. Thuốc thử

- * Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen
- * Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.
- * **Huyết thanh mẫu (HTM)**

Huyết thanh mẫu được sản xuất theo phương pháp kháng thể đơn dòng gồm ba loại sau:

- Huyết thanh mẫu chống A (Anti A).
- Huyết thanh mẫu chống B (Anti B).
- Huyết thanh mẫu chống AB (Anti AB).
- Huyết thanh mẫu chống D (Anti D)

* **Hồng cầu mẫu**

- Hồng cầu mẫu A 5%.
- Hồng cầu mẫu B 5%.
- Hồng cầu mẫu O 5%.

2.3. Mẫu thử

- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
- Một ống nghiệm lấy 5 ml máu tĩnh mạch không có chống đông, một ống khác lấy 2 ml máu có chống đông bằng EDTA. ống máu này dùng lấy hồng cầu.
- Ly tâm tách huyết thanh ống máu không chống đông.
- Rửa hồng cầu bệnh nhân bằng nước muối sinh lý 9‰ 3 lần, pha thành dung dịch hồng cầu 5% trong nước muối sinh lý.

3. Tiến hành định nhóm máu hệ ABO và Rh trên phiến đá bằng phương pháp huyết thanh mẫu theo quy trình kỹ thuật

- Phiến đá
- Ống nghiệm

4. Tiến hành định nhóm máu hệ ABO và Rh trên phiến đá bằng phương pháp hồng cầu mẫu theo quy trình kỹ thuật

- Phiến đá
- Ống nghiệm

* **Đọc kết quả**

- Trên phiến đá
- + Ngưng kết: Thấy cụm hồng cầu đứng tách rời nhau rõ rệt trên nền dung dịch trong.

+ Không ngưng kết: Hồn dịch vẫn đỏ đều.

- Ống nghiệm: quan sát hiện tượng ngưng kết hay không ngưng kết bằng mắt thường và dưới kính hiển vi vật kính x 10.

5. Nguyên nhân sai lầm

* Sai lầm do huyết thanh

Do huyết thanh mẫu có hiệu giá kháng thể yếu, mất hoạt tính hay nhiễm trùng.

* Sai lầm do hồng cầu

- Do hồng cầu mẫu bị biến chất.

- Do máu bị nhiễm trùng hoặc bạch cầu quá nhiều.

* Sai lầm về thủ tục, giấy tờ

- Do nhầm tên, ống máu, nhầm vị trí hồng cầu mẫu.

6. Các bước cần lưu ý

7. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

8. Lượng giá bằng kiểm

**BẢNG KIỂM KỸ THUẬT
ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh TRÊN PHIẾN ĐÁ BẰNG PP HTM**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Đá men trắng, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh		
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	+ Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HTM Anti A; anti B; anti AB; anti		

		D sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi các thông tin lên phiến đá	Ghi các TT và kê ô: họ tên người bệnh, nhóm máu, vị trí nhỏ huyết thanh mẫu theo thứ tự anti A, anti B, anti AB, NaCl 0,9%, Anti D		
5	Pha hồng cầu người bệnh	Lắc đều ống máu người bệnh và pha hồng cầu: 1 giọt khối hồng cầu và 2 giọt nước muối sinh lý		
6	Nhỏ HTM vào các ô đã ghi	Nhỏ vào mỗi ô HTM: 2 giọt huyết thanh mẫu anti A, anti B, Anti AB, NaCl 0,9%, Anti D. Nhỏ đúng vị trí của huyết thanh mẫu.		
7	Nhỏ HC người bệnh 30%	1 giọt HC người bệnh đã pha được nhỏ vào cạnh mỗi vị trí HTM.		
8	Trộn đều HC đã pha của người bệnh và huyết thanh mẫu	Dùng đũa thủy tinh sạch trộn đều HTM và HC người bệnh có đường kính 2 cm và lắc nghiêng tròn phiến đá trong 3 phút.		
9	Đọc và nhận định kết quả hệ nhóm máu ABO	Quan sát hiện tượng ngưng kết và không ngưng kết để xác định kháng nguyên của nhóm máu của người bệnh.		

		Nhóm máu A: có kháng nguyên A, Nhóm máu B có kháng nguyên B, Nhóm máu AB có KN A và B, Nhóm máu O không có kháng nguyên A và B.		
10	Đọc và nhận định kết quả hệ nhóm máu Rh	Quan sát hiện tượng ngưng kết và không ngưng kết để xác định kháng nguyên của nhóm máu của người bệnh. Rh (+) có kháng nguyên D, Rh (-) không có kháng nguyên D		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
12	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

**BẢNG KIỂM KỸ THUẬT
ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRÊN PHIẾN ĐÁ BẰNG PP HCM**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Đá men trắng, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh		

2	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	+ Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HCM A 5%, HCM B 5%, HCM O 5% sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi các thông tin lên phiến đá	Ghi các TT và kẻ ô: họ tên người bệnh, nhóm máu, vị trí nhỏ huyết thanh mẫu theo thứ tự HCM A, HCM B, HCM O		
5	Tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh	Lấy được huyết tương bằng cách ly tâm hoặc để lắng ống nghiệm máu người bệnh với ống chống đông EDTA. Sao cho huyết tương/ tách thành 2 lớp rõ. Lấy được huyết thanh bằng cách ly tâm với ống máu không chống đông.		
6	Nhỏ HCM vào các 3 ô đã ghi	Nhỏ 1 giọt HCM A 5%, HCM B 5%, HCM O 5% vào các ô đã ghi sẵn		
7	Nhỏ Huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh vào các 3 ô trên	Nhỏ 2 giọt huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh vào 3 ô đã ghi sẵn ở trên		
8	Trộn đều huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh với hồng cầu mẫu	Dùng 1 đũa thủy tinh sạch trộn đều HCM và huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh cho từng ô có đường kính khoảng 2 cm, lắc nghiêng tròn phiến đá trong 3 phút. Sau mỗi ô HCM		

		đã trộn phải thay đũa thủy tinh mới.		
9	Đọc và nhận định kết quả	Quan sát hiện tượng ngưng kết và không ngưng kết để xác định kháng thể của trong huyết thanh của người bệnh. Nhóm máu A: có anti B Nhóm máu B: có anti A Nhóm máu AB: không có kháng thể Nhóm máu O: có anti A và B		
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
11	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

B. THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ RH TRONG ỒNG NGHIỆM

1. Nguyên tắc

Nhóm máu ABO được xác định nhờ sự có mặt của kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu và kháng thể trong huyết thanh. Hai thành phần này khi gặp nhau sẽ gây phản ứng ngưng kết đặc hiệu.

Dùng huyết thanh mẫu chứa *kháng thể đặc hiệu* đã biết để định loại *kháng nguyên nhóm máu* của hồng cầu dựa vào phản ứng ngưng kết.

Dùng hồng cầu mẫu chứa kháng nguyên đặc hiệu đã biết để định loại kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết.

Cho huyết thanh chống D (anti - D) tác dụng với hồng cầu bệnh nhân cần định nhóm. Hồng cầu mang kháng thể D sẽ bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng D.

2. Chuẩn bị

2.1. Dụng cụ

- Ống nghiệm thủy tinh khô sạch
- Bút viết kính.
- Que thủy tinh.
- Máy ly tâm.

- Pipette Pasteur.
- Bông.
- Bình cách thủy 37⁰ C.

2.2. Thuốc thử

*** *Huyết thanh mẫu (HTM)***

Huyết thanh mẫu được sản xuất theo phương pháp kháng thể đơn dòng gồm ba loại sau:

- Huyết thanh mẫu chống A (Anti A).
- Huyết thanh mẫu chống B (Anti B).
- Huyết thanh mẫu chống AB (Anti AB).
- Huyết thanh mẫu chống D (Anti D)

*** *Hồng cầu mẫu***

- Hồng cầu mẫu A 5%.
- Hồng cầu mẫu B 5%.
- Hồng cầu mẫu O 5%.

2.3. Mẫu thử

- Một ống nghiệm lấy 5 ml máu tĩnh mạch không có chống đông, một ống khác lấy 2 ml máu có chống đông bằng EDTA. ống máu này dùng lấy hồng cầu.
- Ly tâm tách huyết thanh ống máu không chống đông.
- Rửa hồng cầu bệnh nhân bằng nước muối sinh lý 9‰ 3 lần, pha thành dung dịch hồng cầu 5% trong nước muối sinh lý.

3. Tiến hành định nhóm máu hệ ABO và Rh trong ống nghiệm bằng phương pháp huyết thanh mẫu theo quy trình kỹ thuật

4. Tiến hành định nhóm máu hệ ABO và Rh trong ống nghiệm bằng phương pháp hồng cầu mẫu theo quy trình kỹ thuật

*** *Đọc kết quả***

- + Ngưng kết: Quan sát dưới kính hiển vi vật kính x10 thấy các đám hồng cầu nằm dính sát vào nhau trên nền của dung dịch có màu của huyết thanh mẫu.
- + Không ngưng kết: Quan sát dưới kính hiển vi vật kính x10 thấy các hồng cầu nằm riêng lẻ trên nền của dung dịch có đỏ màu hồng.

*** *Nguyên nhân sai lầm***

- Sai lầm do huyết thanh

Do huyết thanh mẫu có hiệu giá kháng thể yếu, mất hoạt tính hay nhiễm trùng.

- Sai lầm do hồng cầu

- + Do hồng cầu mẫu bị biến chất.
- + Do máu bị nhiễm trùng hoặc bạch cầu quá nhiều.

- Sai lầm về thủ tục, giấy tờ

- + Do nhầm tên, ống máu, nhầm vị trí hồng cầu mẫu.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

7. Lượng giá bằng kiểm

**BẢNG KIỂM KỸ THUẬT
ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh TRONG ỐNG NGHIỆM BẰNG PP
HTM**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm khô sạch, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính, máy ly tâm		
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	+ Cốc có mỏ, bocan thủy tinh, pipet tự động, kính hiển vi quang học, lam kính, la men. + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen - Hóa chất, thuốc thử: Bộ HTM Anti A; anti B; anti AB; anti D sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu		

	<ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	<p>và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng. 		
4	Ghi các thông tin lên 5 ống nghiệm	Ghi các TT lên 5 ống nghiệm: họ tên người bệnh, nhóm máu, tên huyết thanh mẫu theo thứ tự anti A, anti B, anti AB, NaCl 0,9%, Anti D		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất		
6	Pha hồng cầu người bệnh 5%	Hồng cầu người bệnh được pha 5% theo 1 trong 2 cách: - 1 giọt khối hồng cầu với 19 giọt nước muối sinh lý - Hoặc 0,05ml khối HC với 0,95 ml nước muối sinh lý.		
7	Nhỏ HTM vào 5 ống nghiệm	Nhỏ vào mỗi ống nghiệm: 2 giọt HTM anti A, anti B, Anti AB, NaCl 0,9%, Anti D lần lượt vào các ống nghiệm đã ghi.		
8	Nhỏ HC người bệnh 5% vào 5 ống nghiệm	Nhỏ vào mỗi ống nghiệm: 1 giọt HC 5% vào lần lượt các ống nghiệm anti A, anti B, Anti AB, NaCl 0,9%, Anti D.		
9	Trộn đều HC của người bệnh và huyết thanh mẫu	Các ống nghiệm được trộn đều bằng cách ly tâm khoảng 1000 vòng/ phút trong 30 giây		
10	Đọc và nhận định kết quả hệ nhóm máu	Nghiêng nhẹ thành ống nghiệm, đọc kết quả bằng mắt thường hoặc soi		

	ABO	<p>kính hiển vi vật kính x10 để quan sát hiện tượng ngưng kết: các HC dính thành đám</p> <p>Không ngưng kết : các hồng cầu nằm riêng rẽ</p> <p>Nhóm máu A: có KN A</p> <p>Nhóm máu B: có KN B</p> <p>Nhóm máu AB: Có KN A và B</p> <p>Nhóm máu O: không có KN A và không có KN B</p>		
11	Đọc và nhận định kết quả hệ nhóm máu Rh	<p>Nghiêng nhẹ thành ống nghiệm, đọc kết quả bằng mắt thường hoặc soi kính hiển vi vật kính x10 để quan sát hiện tượng ngưng kết: các HC dính thành đám</p> <p>Rh (+) có kháng nguyên D,</p> <p>Rh (-) không có kháng nguyên D</p>		
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay 		
13	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

**BẢNG KIỂM KỸ THUẬT
ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO TRONG ÓNG NGHIỆM BẰNG PP HCM**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		

2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm khô sạch, đĩa thủy tinh, gạc sạch, bút viết kính, máy ly tâm + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh, pipet tự động, kính hiển vi quang học, lam kính, la men. + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen		
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	- Hóa chất, thuốc thử: Bộ HCM A; HCM B; HCM O; sắp xếp theo thứ tự. Cồn sát khuẩn, nước muối sinh lý 0,9%.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đôi chiều mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi các thông tin lên 3 ống nghiệm	Ghi các TT lên 5 ống nghiệm: họ tên người bệnh, nhóm máu, tên huyết thanh mẫu theo thứ tự HCM A; HCM B; HCM O.		
5	Tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh	Lấy được huyết tương bằng cách ly tâm hoặc để lắng ống nghiệm máu người bệnh với ống chống đông EDTA. Sao cho huyết tương/ tách thành 2 lớp rõ. Lấy được huyết thanh bằng cách ly tâm với ống máu không chống đông.		
6	Nhỏ HCM 5% vào các	Nhỏ 1 giọt HCM A 5%, HCM B 5%,		

	3 ô đã ghi	HCM O 5% vào các ống nghiệm đã ghi sẵn		
7	Nhỏ huyết tương hoặc huyết thanh người bệnh vào các 3 ống nghiệm trên	Nhỏ 2 giọt huyết thanh hoặc huyết tương người bệnh vào 3 ống nghiệm đã ghi sẵn ở trên		
8	Trộn đều HC của người bệnh và huyết thanh mẫu	Các ống nghiệm được trộn đều bằng cách ly tâm khoảng 1000 vòng/ phút trong 30 giây		
9	Đọc kết quả	Kết quả được đọc bằng cách nghiêng nhẹ thành ống nghiệm đọc kết quả bằng mắt thường hoặc trên kính hiển vi vật kính x10 để quan sát hiện tượng ngưng kết: các HC dính thành đám Không ngưng kết: các hồng cầu nằm riêng rẽ		
10	Nhận định kết quả	Nhóm máu A: có anti B Nhóm máu B: có anti A Nhóm máu AB: không có kháng thể A và B Nhóm máu O: có anti A và B. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
12	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

C. THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ RH BẰNG GEL CARD

1. Kỹ thuật định nhóm máu hệ ABO và Rh với phương pháp huyết thanh mẫu bằng Gelcard

Ý nghĩa: Định nhóm máu trên Gelcard là một tiến bộ mới tiếp theo định nhóm máu trên phiến đá men và định nhóm máu trong ống nghiệm. Kỹ thuật có độ nhạy cao an toàn cho người làm xét nghiệm.

Nguyên lý

Cột gel là một môi trường phản ứng có kháng thể đặc hiệu chống A, B, AB hoặc Rh (anti D) và màng ngăn được cấu tạo bởi các hạt thủy tinh nhỏ có tác dụng giữ lại các hạt ngưng kết lớn hơn kích thước hồng cầu. Nhờ vậy, khi cho hồng cầu muốn định nhóm máu đi qua cột gel, nếu có phản ứng đặc hiệu, các hạt ngưng kết sẽ hình thành, màng ngăn sẽ giữ lại các hạt ngưng kết ở phần trên của cột gel. Nếu không có phản ứng đặc hiệu, hồng cầu sẽ lọt qua màng ngăn lắng xuống đáy cột gel.

2. Chuẩn bị

*** Dụng cụ**

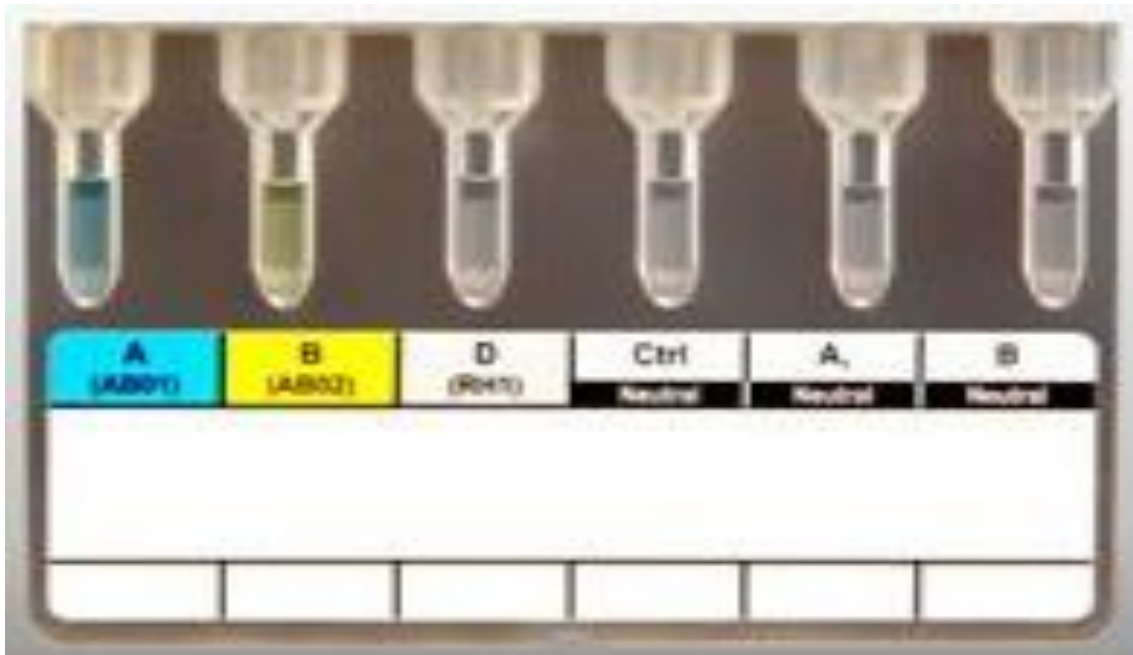
- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Ống nghiệm thủy tinh sạch, khô, gạc sạch, bút viết kính
- + Máy ly tâm thường để tách huyết thanh
- + Máy ly tâm chuyên dụng để ly tâm gelcard
- + Máy đọc kết quả chuyên dùng, máy tính kết nối máy đọc kết quả.
- + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh
- + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen

*** Hóa chất, thuốc thử:**

Gelcard định nhóm gồm HTM hoặc gelcard HCM hoặc gelcard cả HTM và HCM. Gelcard nguyên vẹn, còn hạn sử dụng. Dung dịch Diluent-2 để pha hồng cầu .

*** Bệnh phẩm:**

- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.



3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

* Cách nhỏ vào các giếng của gelcard 2 phương pháp HTM và HC mẫu

	A (ABO1)	B (ABO2)	D (Rh1)	Ctrl Neutral	A1 Neutral	B Neutral
HCM 0,8 %	-	-	-	-	50µl	50µl
HTBN	-	-	-	-	50µl	50µl
HC 5% BN	10µl	10µl	10µl	10µl	-	-

*** Đọc kết quả**

- Đọc không ngưng kết: các tế bào máu đỏ đi qua và tạo thành một nút nhỏ gọn ở phía dưới của gel

- Ngưng kết: Đọc mức độ ngưng kết

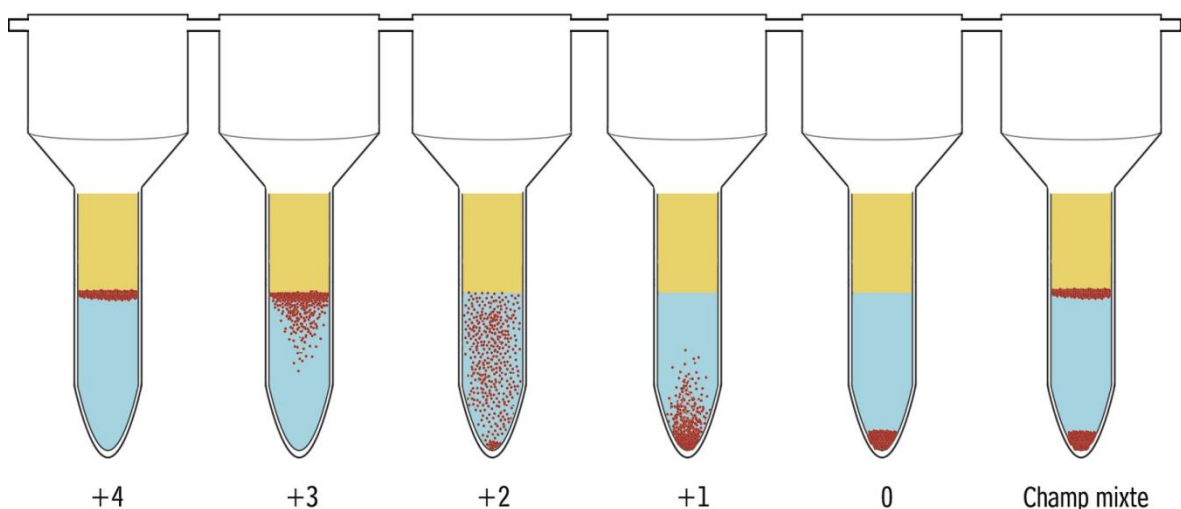
4 +: các hồng cầu ngưng kết ở phía trên cùng cột gel.

3 +: hầu hết các hồng cầu ngưng kết vẫn còn ở nửa trên của cột gel.

2 +: hồng cầu ngưng kết được quan sát trong suốt chiều dài của cột. Một ít nhóm hồng cầu cũng có thể được hiển thị ở dưới cùng của cột gel.

1 +: hầu hết các hồng cầu ở nửa dưới của cột. Một số cũng có thể được hiển thị ở dưới cùng của cột gel.

Phản ứng pha trộn (microtube 6) có hai quần thể hồng cầu: một trên bề mặt gel, một quần thể khác lắng đọng ở đáy gel: phản ứng không xác định được đòi hỏi phải khai thác tiền sử và làm thêm xét nghiệm để xác định.



ANTI A	ANTI B	ANTI D	Cit	HCA	HCB	NHÓM
+	-	+	-	-	+	A+
-	+	+	-	+	-	B+
+	+	+	-	-	-	AB+
-	-	+	-	+	+	O+

4. Nguyên nhân sai lầm

4.1. Sai lầm do huyết thanh

Do huyết thanh mẫu có hiệu giá kháng thể yếu, mất hoạt tính hay nhiễm trùng.

4.2. Sai lầm do hồng cầu

- Do hồng cầu mẫu bị biến chất.
- Do máu bị nhiễm trùng hoặc bạch cầu quá nhiều.

4.3. Sai lầm về thủ tục, giấy tờ

- Do nhầm tên, ống máu, nhầm vị trí hồng cầu mẫu.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

7. Lượng giá: bảng kiểm

**BẢNG KIỂM KỸ THUẬT
ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO VÀ Rh BẰNG GELCARD**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt		

		ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống nghiệm thủy tinh sạch, khô, gác sạch, bút viết kính, máy ly tâm gelcard + Cốc có mỏ, bocan thủy tinh + Nước cất, dung dịch sát khuẩn javen		
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	- Hóa chất, thuốc thử: Gelcard định nhóm gồm HTM hoặc gelcard HCM hoặc gelcard cả HTM và HCM. Gelcard nguyên vẹn, còn hạn sử dụng. Dung dịch Diluent-2		
3	- Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Pha hồng cầu người bệnh 5%	Bơm 0.5ml Diluent-2 vào ống nghiệm sạch.và thêm 25µl khối hồng cầu của người bệnh (hoặc 50µl của máu toàn phần), lắc trộn nhẹ nhàng 8- 10 theo chiều dọc của ống nghiệm. Tạo thành hỗn dịch có màu đỏ đều.		
5	Chuẩn bị hồng cầu mẫu 0,8%	Bơm 1 ml Diluent-2 vào ống nghiệm sạch, thêm 10 µl khối hồng cầu mẫu, lắc trộn nhẹ nhàng 8- 10 theo chiều dọc của ống nghiệm. Tạo thành hỗn dịch có màu đỏ đều.		

6	Chuẩn bị card định nhóm và ghi thông tin người bệnh trên card	Card tốt nhất nên dùng có 2 phương pháp HTM và HCM. Ghi đầy đủ họ tên, tuổi, mã số người bệnh, khoa/phòng.		
7	Phương pháp hồng cầu mẫu: Nhỏ hồng cầu mẫu 0,8%	Gỡ bỏ lá nhôm và nhỏ 50 µl hồng cầu mẫu vào 2 giếng A1 và B và tiếp tục nhỏ thêm 50 µl huyết thanh của người bệnh.		
8	Phương pháp HTM	Nhỏ 10µl hồng cầu 5% của người bệnh vào các giếng A, B, D và Ctl (các giếng này đã có sẵn huyết thanh mẫu)		
9	Ly tâm card	Ly tâm 900 vòng/ phút/ 10 phút		
10	Đọc kết quả	Phản ứng ngưng kết bằng mắt thường và đọc trên máy đọc gelcard		
11	Nhận định kết quả của hệ nhóm máu ABO	Nhóm máu A: có kháng nguyên A trên bề mặt hồng cầu và anti B trong huyết thanh. Nhóm máu B: có kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu và anti A trong huyết thanh. Nhóm máu AB: có kháng nguyên A và B trên bề mặt hồng cầu; không có anti A và anti B trong huyết thanh. Nhóm máu O: không có có kháng nguyên A và kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu; có anti A và anti B trong huyết thanh.		
12	Nhận định kết quả của hệ nhóm máu Rh	Rh (+): có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu; Rh (-) không có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu		
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát		

		khuẩn, xử lý rác thải theo quy định		
14	Rửa tay	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy		
15	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi		

BÀI 10. THỰC HÀNH NGHIỆM PHÁP COOMBS TRỰC TIẾP VÀ COOMBS GIÁN TIẾP

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện được nghiệm pháp Coombs trực tiếp và Coombs gián tiếp.
- Nhận định và giải thích được nghiệm pháp Coombs trực tiếp và Coombs gián tiếp.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

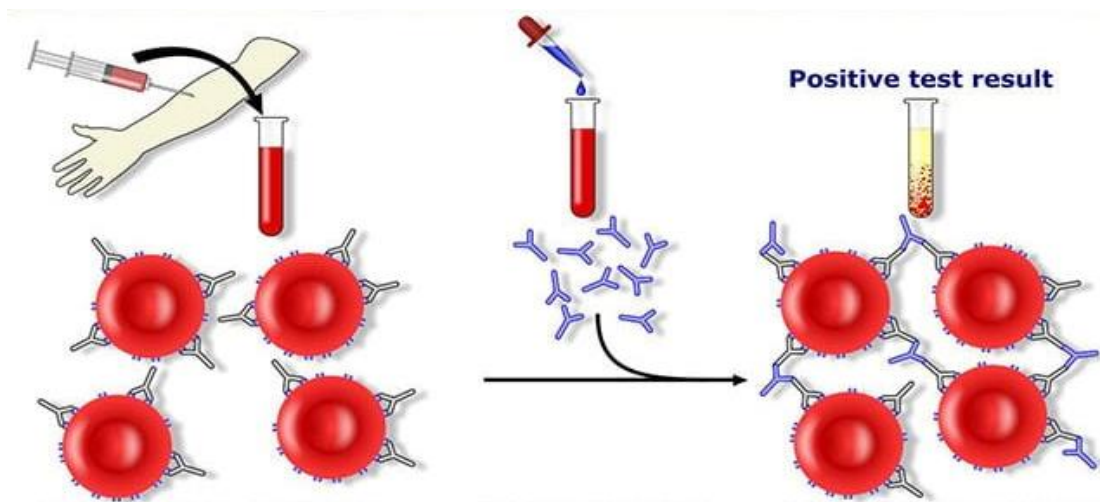
- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm.

NỘI DUNG

1. Kỹ thuật Coombs trực tiếp

1.1. Nguyên tắc

Ở một số bệnh nhân, trên bề mặt hồng cầu có gắn một loại kháng thể miễn dịch có bản chất là IgG được gắn với các kháng nguyên tương ứng nhưng không gây ngưng kết hồng cầu, sử dụng kháng thể kháng globulin người làm cầu nối để hồng cầu ngưng kết lại với nhau.



1.2. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Lam kính.
- Ống nghiệm thủy tinh nhỏ.

- Pipette Pasteur.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37⁰ C.

* Hóa chất

- Huyết thanh kháng globulin người đa giá.
- Huyết thanh kháng D loại thiếu.
- Hồng cầu O, Rh (+): chống đông bằng natricitrat.
- NaCl 0,9%.

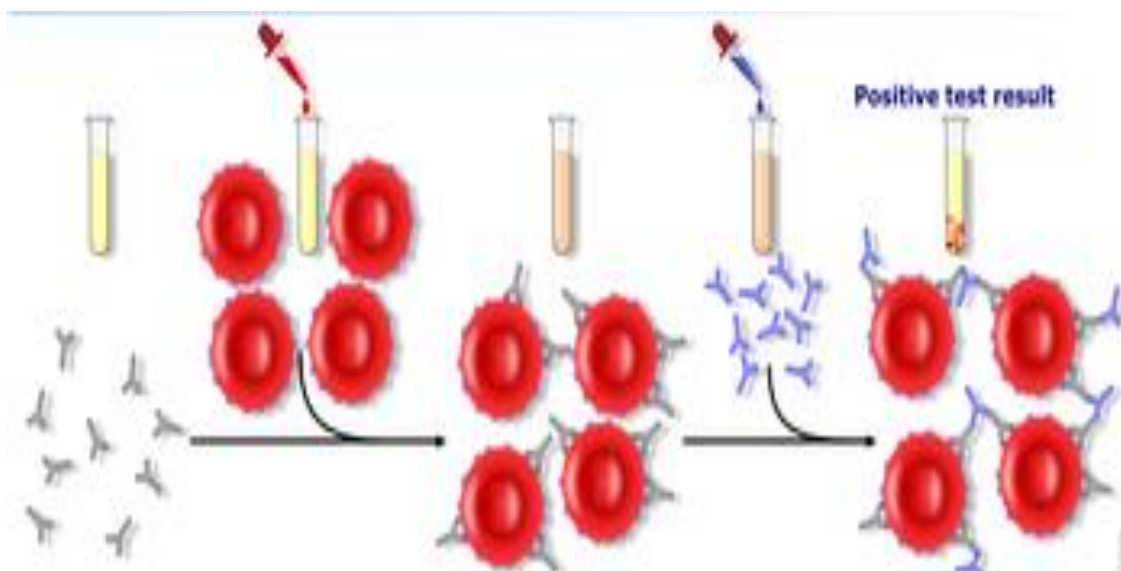
* Bệnh phẩm

- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

1.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

2. Kỹ thuật Coombs gián tiếp

2.1. Nguyên tắc: Trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể miễn dịch chống hồng cầu để xác định được các kháng thể này người ta dùng hồng cầu nhóm O của người bình thường gây cảm nhiễm (gắn kháng thể có trong huyết thanh) rồi tiếp tục làm như Coombs trực tiếp.



2.2. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Lam kính.
- ống nghiệm thủy tinh nhỏ.
- Pipette Pasteur.

- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37⁰ C.

*** Hóa chất**

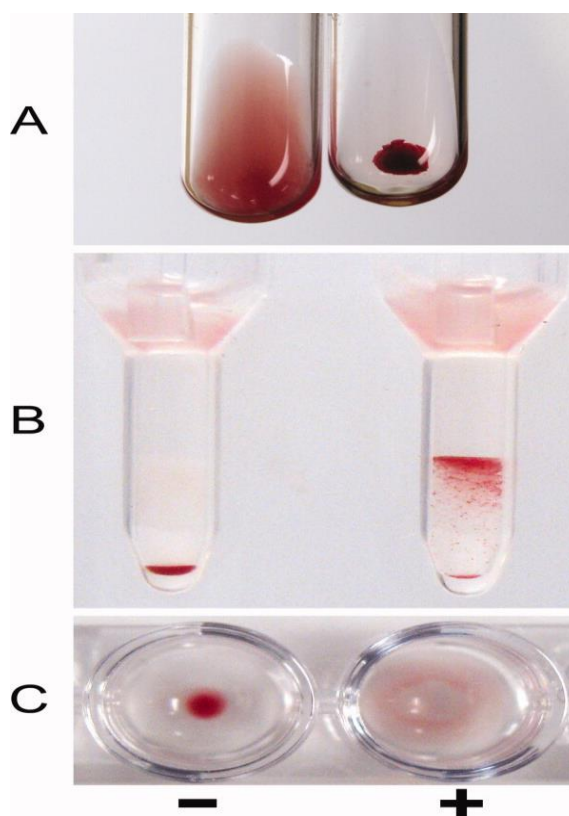
- Huyết thanh kháng globulin người đa giá.
- Huyết thanh kháng D loại thiếu.
- Hồng cầu O, Rh (+): chống đông bằng natricitrat.
- NaCl 0,9%.

*** Bệnh phẩm**

- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

2.3. Tiến hành theo quy trình kỹ thuật

2.4. Kết quả Coombs



2.5. Nhận xét kết quả

2.5.1. Bình thường

- Coombs trực tiếp âm tính.
- Coombs gián tiếp cũng âm tính.

2.5.2. Bệnh lý

- Coombs trực tiếp dương khi trên bề mặt hồng cầu bệnh nhân có kháng thể miễn dịch gắn vào kháng nguyên nhưng không gây ngưng kết hồng cầu.

- Coombs gián tiếp khi trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể miễn dịch tự do chưa gắn lên hồng cầu.

- Cả Coombs trực tiếp và gián tiếp dương khi trong máu bệnh nhân có cả kháng thể miễn dịch tự do trong huyết thanh và kháng thể miễn dịch đã gắn lên kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu bệnh nhân.

2.6. Nguyên nhân sai lầm

- Huyết thanh Coombs hiệu lực kém do quá hạn, nhiễm trùng.

- Hồng cầu bệnh nhân bảo quản không đúng quy cách: ở nhiệt độ nóng (trên 37⁰C).

- Hồng cầu O làm giá đỡ trong Coombs gián tiếp không đạt yêu cầu.

2.7. Các bước cần lưu ý

2.8. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

2.9. Lượng giá

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP COOMBS TRỰC TIẾP

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu: bơm kim tiêm vô khuẩn, ống nghiệm có chống đông EDTA.		
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	+ Máy ly tâm, lam kính, kính hiển vi quang học, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet pasteur. - Hóa chất, thuốc thử		

		+ Cồn 70°, dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn. + Kháng globulin người (AHG)		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Chuẩn bị và ghi thông tin lên ống nghiệm 1 để rửa hồng cầu người bệnh	Ghi thông tin ống nghiệm 1: họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng. Dùng pipet lấy 2 giọt khối hồng cầu vào ống nghiệm 1 và thêm NaCl 0,9%, ly tâm để HC lắng và dùng pipet hút bỏ hết dung dịch treo phía trên ống nghiệm, làm như vậy 3 lần. Hồng cầu được rửa sạch để loại bỏ các kháng nguyên, kháng thể bám trên bề mặt.		
5	Pha thành dung dịch hồng cầu 5 %	Bơm 0,5 ml nước muối sinh lý vào ống nghiệm sạch và thêm 25 µl khối hồng cầu mẫu đã rửa, lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc của ống nghiệm để có dung dịch hồng cầu mẫu 5% có màu hồng đều.		
6	Trộn hồng cầu 5% của người bệnh và huyết thanh kháng globulin người vào ống nghiệm 2	Cho vào ống nghiệm thứ hai: - 1 giọt hồng cầu bệnh nhân pha 5%. - 2 giọt kháng globulin người.		
7	Lắc trộn và ly tâm	- Lắc đều và ly tâm 1000 vòng/phút/ 30 giây.		
8	Đọc kết quả	- Dùng pipette pasteur lấy 1 giọt hỗn dịch nhỏ lên 1 lam kính. Quan sát		

		dưới kính hiển vi vật kính 10: để quan sát sự ngưng kết (các hồng cầu dính vào nhau thành đám) và không ngưng kết các hồng cầu tách rời và riêng rẽ nhau.		
9	Nhận định kết quả	Dương tính: có kháng thể bất thường gắn lên trên bề mặt hồng cầu. Âm tính: không có kháng thể bất thường gắn lên trên bề mặt hồng cầu.		
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
11	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP COOMBS GIÁN TIẾP

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu: bơm kim tiêm vô khuẩn, ống nghiệm có chống đông EDTA.		
	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	+ Máy ly tâm, bình cách thủy, lam kính, kính hiển vi quang học, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet pasteur.		

		<p>- Hóa chất, thuốc thử + Cồn 70°, dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn, hồng cầu O Rh (+). + Kháng globulin người (AHG)</p>		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm</p>	<p>- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>		
4	<p>Chuẩn bị và ghi thông tin lên 3 ống nghiệm 1, ống nghiệm 2, ống nghiệm 3</p>	<p>Thông tin ống nghiệm 1: họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng, HC O, Rh (+).. Thông tin ống nghiệm 2: họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng, HC O, Rh (+) 5%. Thông tin ống nghiệm 3 : họ tên, mã số, tuổi, khoa/phòng, Coombs gián tiếp</p>		
5	<p>Rửa hồng cầu O, Rh (+)</p>	<p>Ống nghiệm 1: Dùng pipets hút 2 giọt khối hồng cầu HC O, Rh (+) được và thêm NaCl 0,9%, ly tâm để HC lắng. Lấy pipet hút bỏ hết dung dịch treo phía trên ống nghiệm, làm như vậy 3 lần. Hồng cầu được rửa sạch để loại bỏ các kháng nguyên, kháng thể bám trên bề mặt.</p>		
6	<p>Pha hồng cầu O, Rh (+) để thành dung dịch hồng cầu 5 %.</p>	<p>Ống nghiệm 2: Dùng pipets tự động hút 25 µl khối hồng cầu O, Rh (+) đã rửa, sau đó thêm 0,5 ml nước muối sinh lý vào ống nghiệm sạch và lắc trộn nhẹ nhàng theo chiều dọc 5 lần, khối HC được trộn đều với nước muối sinh lý tạo hỗn dịch có màu hồng.</p>		

7	Trộn huyết thanh của người bệnh và hồng cầu O Rh (+) 5%	Ống nghiệm 3: Dùng pipet nhỏ 2 giọt huyết thanh bệnh nhân và 1 giọt hồng cầu O, Rh (+) 5% đã được pha ở trên.		
8	Lắc trộn và ủ ở 37°C	- Lắc đều theo chiều dọc của ống nghiệm thành hỗn dịch có màu đồng nhất và ủ trong bình cách thủy 37°C trong 45 phút.		
9	Rửa hồng cầu O Rh (+) đã được cảm nhiễm	- Hồng cầu được rửa 3 lần bằng nước muối 0,9%. - HC được rửa sạch để loại bỏ các kháng nguyên, kháng thể bám trên bề mặt-		
10	Trộn hồng cầu O Rh (+) đã được cảm nhiễm với kháng huyết thanh globulin	Cho thêm 2 giọt huyết thanh kháng thể kháng globulin người đa giá (kháng thể Coombs).		
11	Lắc trộn đều và ly tâm	- Lắc đều. - Ly tâm 1000 vòng/phút trong 30 giây		
12	Đọc kết quả	- Dùng pipette Pasteur lấy 1 giọt hỗn dịch nhỏ lên 1 lam kính. Quan sát hiện tượng ngưng kết hay không ngưng kết dưới kính hiển vi vật kính 10, quan sát hiện tượng ngưng kết (Dương tính) và không ngưng kết (Âm tính)		
13	Nhận định kết quả	Dương tính: có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh. Âm tính: không có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh.		
14	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng		

		<ul style="list-style-type: none">- Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định.- Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
15	Lưu kết quả	<ul style="list-style-type: none">- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 11. THỰC HÀNH PHẢN ỨNG HÒA HỢP

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện được phản ứng hòa hợp theo đúng quy trình.
- Nhận định và giải thích được kết quả phản ứng hòa hợp trong 1 số tình huống.

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.
- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm.

NỘI DUNG

1. Mục đích

Phản ứng hoà hợp đầy đủ là phản ứng để lựa chọn nhóm máu hệ hồng cầu của người cho phù hợp nhất với bệnh nhân, đặc biệt là những trường hợp bệnh nhân có kháng thể bất thường. Xét nghiệm này góp phần đảm bảo an toàn về mặt miễn dịch cho bệnh nhân khi được truyền máu, thực hiện truyền máu có hiệu lực.

2. Nguyên tắc

Là phản ứng ngưng kết, để tìm sự hoà hợp về nhóm máu hệ hồng cầu ABO và các hệ nhóm máu hồng cầu khác giữa người cho và người nhận.

Xét nghiệm này góp phần đảm bảo an toàn về miễn dịch cho người bệnh khi được truyền máu, thực hiện truyền máu có hiệu lực.

3. Chuẩn bị

* **Dụng cụ:**

- Ly tâm ống thẳng.
- Bình cách thuỷ 370C (hoặc tủ ấm hoặc bình giữ nhiệt)
- Pipet Pasteur.
- Ống nghiệm để định nhóm (50 x 7 mm) nhựa hoặc thuỷ tinh.
- Giá đựng ống nghiệm để tiến hành kỹ thuật.
- Lam kính.
- Bút chì kính, bút dạ
- Bông thấm
- Cốc mở thuỷ tinh

- Que thủy tinh
- Kính hiển vi
- Tủ sấy dụng cụ

*** Thuốc thử:**

- Anti D
- Huyết thanh Coombs
- Nước muối 9 %
- Nước cất hoặc nước không có ion.

*** Bệnh phẩm**

- Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

4. Tiến hành

4.1. Chuẩn bị

1. Rửa hồng cầu hồng cầu nhóm O và của người cho 3 lần bằng nước muối 0,9% và pha thành dung dịch hồng cầu 5% để tiến hành phản ứng.

2. Ly tâm mẫu máu của bệnh nhân để tách huyết thanh.

3. Chuẩn bị hồng cầu chứng gắn IgG cho nghiệm pháp kháng globulin

- Rửa hồng cầu hồng cầu nhóm O 3 lần bằng nước muối 0,9% và pha thành dung dịch hồng cầu 5%.

- Nhỏ vào 1 ống nghiệm: 1 thể tích hồng cầu 5% và 2 thể tích anti D (IgG).

- Trộn đều, ủ 30 phút ở 37°C.

- Sau khi ủ, lấy ra rửa 3 lần bằng nước muối 0,9%

- Treo tế bào đã được cảm nhiễm trong nước muối để có dung dịch hồng cầu 5%.

- Lấy một thể tích dịch treo hồng cầu 5% đã được cảm nhiễm, thêm 2 thể tích kháng globulin, trộn đều và ly tâm ống nghiệm.

Phản ứng phải dương tính 3+. Nếu phản ứng này quá mạnh hoặc quá yếu sẽ không tốt cho việc làm chứng cho nghiệm pháp kháng globulin.

- Những tế bào đã được cảm nhiễm này có thể được bảo quản ở 4°C trong vòng 48 giờ.

4.2. Tiến hành phản ứng hoà hợp đầy đủ

*** Đánh dấu ống 1 và ống 2:**

+ Ống 1: Huyết thanh người bệnh + Hồng cầu người cho 5%

+ Ống 2: Hồng cầu bệnh nhân 5% + Huyết thanh người cho

* Yêu cầu kỹ thuật:

+Truyền máu toàn phần: Làm chéo cả 2 ống

+Truyền khối hồng cầu: Làm chéo ống 1

+Truyền huyết tương, khối tiểu cầu: Làm chéo ống 2

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nếu kết quả một trong những điều kiện, nhiệt độ của phản ứng hoà hợp đầy đủ trên dương tính (ngưng kết) phải tiến hành chọn máu cho bệnh nhân.

- Nếu kết quả phản ứng hoà hợp đầy đủ ở các điều kiện, nhiệt độ trên đều âm tính (không ngưng kết), máu người cho hoà hợp với máu của bệnh nhân. Túi máu được phát để truyền cho bệnh nhân.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Hồng cầu bệnh nhân tự ngưng kết do vậy phải rửa bằng nước muối ấm 37°C

4. 3. Nhận định kết quả:

- Nếu kết quả một trong những điều kiện, nhiệt độ của phản ứng hoà hợp đầy đủ trên dương tính (Ngưng kết) phải tiến hành chọn máu cho bệnh nhân.

- Nếu kết quả phản ứng hoà hợp đầy đủ ở các điều kiện, nhiệt độ trên đều âm tính (Không ngưng kết), máu người cho hoà hợp với máu của bệnh nhân. Túi máu được phát để truyền cho bệnh nhân.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

7. Lượng giá: Bảng kiểm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHẢN ỨNG HÒA HỢP

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Dụng cụ lấy máu: bom kim tiêm vô khuẩn, ống nghiệm có chống đông EDTA. + Máy ly tâm, bình cách thủy, lam kính,		

	Chuẩn bị hóa chất, thuốc thử	<p>kính hiển vi quang học, ống nghiệm thủy tinh khô sạch, pipet pasteur.</p> <p>- Hóa chất, sinh phẩm</p> <p>+ Cồn 70°, dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn, hồng cầu O; Rh (+).</p> <p>+ Bộ huyết thanh mẫu: anti A, anti B, anti A ; B, anti D</p> <p>+ Hồng cầu mẫu: HCM A, HCM B, HCM O.</p> <p>+ Kháng globulin người (AHG)</p>		
3	Chuẩn bị bệnh phẩm Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	<p>- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và máu tĩnh mạch được chống đông bằng EDTA và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi XN < 2h.</p> <p>-Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>- Máu không đông, huyết tương không có màu hồng.</p>		
4	Định lại nhóm máu của bệnh nhân	Bằng 2 phương pháp HTM và HC mẫu với 2 người định nhóm độc lập với 2 kỹ thuật khác nhau: ống nghiệm và gelcard. Kết quả xác định được nhóm máu của người bệnh.		
5	Định lại nhóm máu của người cho (túi máu)	Bằng 2 phương pháp HTM và HC mẫu với 2 người định nhóm độc lập với 2 kỹ thuật khác nhau: ống nghiệm và gelcard. Kết quả xác định được nhóm máu của người cho (túi máu)		
6	Ghi thông tin lên 2 ống nghiệm và pha hồng cầu người cho và người nhận 5 % (túi máu)	<p>Ống nghiệm 1: Ghi thông tin: họ tên, mã số, khoa/phòng của người bệnh.</p> <p>Ống nghiệm 2: Ghi thông tin: họ tên, mã số, khoa/phòng của người cho (túi máu).</p> <p>Cho vào mỗi ống nghiệm 0,5 ml nước muối sinh lý và thêm 25 µl khối hồng cầu</p>		

		của người bệnh (ống nghiệm 1) ; người cho (ống nghiệm 2) đã rửa, lắc trộn nhẹ nhàng, được hỗn dịch hồng cầu 5%.		
7	Đánh dấu ống nghiệm 3 và 4	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên, mã số, khoa phòng lên 2 ống nghiệm 3,4		
8	Pha ống 3	Cho vào ống 3: 2 giọt huyết thanh người bệnh (người nhận) và 2 giọt HC người cho 5%, lắc trộn nhẹ nhàng tạo thành hỗn dịch có màu đồng nhất.		
9	Pha ống 4	Cho vào ống 4: 2 giọt hồng cầu 5 % người bệnh (người nhận) và 2 giọt huyết thanh người cho 5%, lắc trộn nhẹ nhàng tạo thành hỗn dịch có màu đồng nhất.		
10	Làm phản ứng chéo ở điều kiện nhiệt độ phòng, nước muối sinh lý	Đặt 2 ống 3 và 3 ở nhiệt độ phòng 15- 30 phút. Ly tâm 1000v/phút x 1 phút. Đọc kết quả - Nếu ống 3: ngưng kết trả lời ngay chứng ko phù hợp không truyền được máu. - Nếu ống 3 không ngưng kết làm tiếp bước sau.		
11	Làm phản ứng chéo ở điều kiện nhiệt độ 37°C, môi trường albumin	- Đặt 2 ống 3, 4 vào bình cách thủy 37°C từ 30 đến 50 phút, lấy ra và ly tâm 1000v/phút x 1 phút, đọc kết quả ngưng kết trả kết quả chứng không phù hợp không truyền được. Ống 3 không ngưng kết, tiếp tục làm bước tiếp theo.		
12	Làm phản ứng Coombs gián tiếp	Rửa 2 HC 2 ống nghiệm 3 và 3 bằng NaCL 0,9% 3 lần - Thực hiện nghiệm pháp Coomb trực tiếp và Coomb gián tiếp - Đọc kết quả.		
13	Đọc kết quả	- Nếu 2 ống 3 và 4 không ngưng kết thì máu người cho và người nhận phù hợp. - Nếu 2 ống đều ngưng kết hay ống 3 ngưng kết khi truyền khối tiểu cầu, ống 4		

		ngưng kết khi truyền huyết tương thì ko truyền được.		
14	Nhận định kết quả	<ul style="list-style-type: none"> - Truyền máu toàn phần phải làm cả 2 ống + Truyền được: khi kết quả bước 10, 11, 12, 13 âm tính. + Không truyền được khi các bước 10, hoặc 11, hoặc 12, hoặc 13 dương tính. - Truyền khối hồng cầu chỉ làm ống 1 - Truyền huyết tương hoặc khối tiểu cầu chỉ làm chéo ống 2 		
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay 		
16	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG GIÁO TRÌNH

Giáo trình có 165 trang, được chia làm 2 phần.

Phần I: Lý thuyết về đông cầm máu và truyền máu

Phần II: Thực hành là các xét nghiệm đánh giá các chỉ số đông cầm máu cơ bản và truyền máu an toàn.

Giáo trình được viết dựa theo một số quyết định, thông tư của Bộ Y tế ban hành như sau:

1. *Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học – Truyền máu*, Nhà xuất bản Y học, năm 2015.
 2. Đỗ Trung Phần (2009), *Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.
 3. TT 01.2013 TT-BYT, *Hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh*.
 4. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về *Hướng dẫn hoạt động truyền máu*
 5. Quyết định 2429/QĐ-BYT ngày 12/6/2017 *Tiêu chí đánh giá phòng xét nghiệm y học – Cục Quản lý khám chữa bệnh*.
 6. *Quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học – Truyền máu – Miễn dịch – Di truyền – Sinh học phân tử* (Ban hành kèm QĐ số 2017/QĐ-BYT ngày 9/6/2014 Bộ Y tế).
- Rất mong nhận được sự góp ý và đóng góp cho giáo trình ngày càng hoàn thiện hơn!

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Quang Vinh, (2009), Giáo trình lý thuyết Huyết học và truyền máu – tài liệu lưu hành nội bộ.
2. Đỗ Trung Phần, (2009), Bài giảng thực hành Huyết học - truyền máu – tài liệu lưu hành nội bộ.
3. *Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học – Truyền máu*, Nhà xuất bản Y học, năm 2015.
4. Đỗ Trung Phần (2009), *Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học.
5. TT 01.2013 TT-BYT, *Hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh*.
6. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về *Hướng dẫn hoạt động truyền máu*
7. Quyết định 2429/QĐ-BYT ngày 12/6/2017 *Tiêu chí đánh giá phòng xét nghiệm y học – Cục Quản lý khám chữa bệnh*.
8. *Quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học – Truyền máu – Miễn dịch – Di truyền – Sinh học phân tử* (Ban hành kèm QĐ số 2017/QĐ-BYT ngày 9/6/2014 Bộ Y tế).
9. Trần Văn Bé và CS, (2003), Huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học.
10. Hà Thị Anh, (2009), Huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học.