



## QUY TRÌNH

### Kỹ thuật phản ứng hoà hợp đầy đủ trong phát máu an toàn (phản ứng chéo đầy đủ)

#### 1. MỤC ĐÍCH

Quy định thống nhất cho tất cả nhân viên trong phòng xét nghiệm hiểu, tuân thủ theo quy trình kỹ thuật phản ứng hoà hợp đầy đủ trong phát máu an toàn. Từ đó giảm tối đa sai số có thể gặp trong giai đoạn trước xét nghiệm, thực hiện xét nghiệm và trả kết quả

#### 2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Áp dụng đối với tất cả các trường hợp sử dụng quy trình kỹ thuật phản ứng hoà hợp đầy đủ trong phát máu an toàn tại Khoa xét nghiệm Khoa Xét nghiệm – Trung Tâm Y Tế Hoàng Mai

- Tất cả cán bộ, nhân viên trong Khoa Xét nghiệm, nhân viên tham gia trực, học viên tại Khoa Xét nghiệm - Trung Tâm Y Tế Hoàng Mai.

#### 3. TRÁCH NHIỆM

- Nhân viên được giao nhiệm vụ thực hiện xét nghiệm này tuân thủ đúng quy trình.
- Phụ trách khoa, QLKT, QLCL chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình và nhận định kết quả xét nghiệm.

#### 4. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ VÀ CHỮ VIẾT TẮT

CAL	Calibration(hiệu chuẩn)
EDTA	Ethylenediamine tetra-acetic acid
QC	Quality control (kiểm tra chất lượng)
QLCL	Quản lý chất lượng
QLKT	Quản lý kỹ thuật
HSTĐ	Hóa sinh tự động

#### 5. NGUYÊN LÝ:

- Dựa vào sự kết hợp hồng cầu người cho và huyết thanh người nhận, ngược lại để xác định sự phù hợp hay ngưng kết trong phản ứng hoà hợp.

- Nguyên lý của nghiệm pháp Coombs gián tiếp (nghiệm pháp kháng Globulin gián tiếp) là sử dụng huyết thanh kháng  $\gamma$  globulin người (huyết thanh coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch (bao gồm các kháng thể hoặc thành phần bổ thể là globulin) có tự do trong huyết thanh của người bệnh.

#### 6. THIẾT BỊ VÀ VẬT LIỆU

##### 6.1. Thiết bị

- Máy ly tâm
- Kính hiển vi quang học
- Bình cách thủy
- Tủ lạnh.

## **6.2. Vật tư / Vật liệu**

### **6.2.1. Dụng cụ**

- Ống nghiệm thủy tinh.
- Giá đựng ống nghiệm.
- Bút ghi kính, bút bi.
- Pipet, đầu côn.
- Khẩu trang và găng tay y tế.
- Lam kính.
- Máy tính, máy in.
- Sổ lưu và hủy bệnh phẩm...

### **6.2.2. Hóa chất**

- Nước muối 0.9%.
- Huyết thanh Coombs (kháng gamma globulin người)

### **6.2.3. Mẫu bệnh phẩm**

Ống máu chống đông bằng EDTA 1-2ml.

## **7. NỘI DUNG THỰC HIỆN**

### **7.1. Chuẩn bị**

#### **7.1.1. Chuẩn bị dụng cụ**

- Ống nghiệm thủy tinh.
- Đá men trắng hoặc giấy xn định nhóm
- Giá đựng ống nghiệm.
- Bút ghi kính, bút bi.
- Pipet, đầu côn.
- Khẩu trang và găng tay y tế.
- Sổ lưu và hủy bệnh phẩm...

#### **7.1.2. Thiết bị**

- Máy ly tâm rotofix 32A
- Kính hiển vi quang học OLYMPUS CX33
- Tủ lạnh
- Nồi cách thủy memmert
- Máy tính, máy in.

#### **7.1.3. Hóa chất**

- Nước muối 0.9%
- Huyết thanh mẫu được sản xuất theo phương pháp kháng thể đơn dòng, gồm:

- + Huyết thanh mẫu chống A (anti A)
- + Huyết thanh mẫu chống B (anti B)
- + Huyết thanh mẫu chống AB (anti AB)
- Hồng cầu mẫu 10%:
  - + Hồng cầu mẫu A (HCM A)
  - + Hồng cầu mẫu B (HCM B)
  - + Hồng cầu mẫu O (HCM O)
- + Kháng globulin
  - + Anti D
- + Chế phẩm khối hồng cầu người cho
- + chế phẩm khối huyết tương người cho
- + Chế phẩm máu toàn phần.
- +Tra đổi thông tin giữa ống mẫu bệnh phẩm với giấy chỉ định xét nghiệm.
  - + Kiểm tra chất lượng mẫu.

## **7.2. Các bước thực hiện**

Bước 1: Ly tâm tách huyết tương bệnh nhân tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút.

Bước 2: Rửa hồng cầu bệnh nhân 3 lần bằng nước muối NaCl 0,9% pha thành hồng cầu 5% (19 giọt NaCl 0,9% + 1 giọt hồng cầu) trộn đều.

Bước 3: Đánh dấu ống 1 và ống 2 (ống 1: HC người cho 5% + HT người nhận, ống 2: HC người nhận 5% và huyết thanh người cho.

Bước 4: Định lại nhóm máu của bệnh nhân và người cho bằng kỹ thuật ống nghiệm

Bước 5: Nhỏ 1 giọt HC 5% của người cho và 3 giọt huyết thanh người nhận, hoặc 1 giọt HC 5% của người nhận và 3 giọt HT của người cho

Bước 6: Ly tâm 1000 vòng/ 15- 30s

Bước 7: Đọc và ghi kết quả

Bước 8: ủ tiếp ở 37<sup>0</sup>c trong 30 phút

Bước 9: Đọc và ghi kết quả

Bước 10: Thêm 2 giọt kháng globulin vào hỗn hợp trên ủ 37<sup>0</sup>C trong vòng 30 phút sau đó ly tâm 1000 vòng/ 15- 30s

Bước 11: Đọc và ghi kết quả

## **7.3. 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 hòa 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.

## **8. DIỄN GIẢI VÀ BÁO CÁO KẾT QUẢ**

- Chứng âm: HC không bị ngưng kết.

- Chứng dương: HC bị ngưng kết.

Kết quả bệnh nhân:

- Dương tính: Có hiện tượng ngưng kết hoặc tiêu huyết.

- Âm tính: không có hiện tượng ngưng kết hoặc tiêu huyết.

- Kết quả nghiệm pháp Coombs gián tiếp âm tính: Không có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh và người hiến máu, trên hồng cầu không có kháng nguyên tương ứng với kháng thể nhóm máu được xác định.

- Kết quả nghiệm pháp Coombs gián tiếp dương tính: Có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh và người hiến máu, trên hồng cầu có kháng nguyên tương ứng với kháng thể nhóm máu được xác định.

## **9. LƯU Ý (CẢNH BÁO)**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/2013/TT-BYT về “Hướng dẫn hoạt động truyền máu”;

- Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm mà hiện đang được sử dụng.

- Cần đọc dưới kính hiển vi ánh sáng thường

- Thực hiện theo đúng quy trình kỹ thuật

## **10. LƯU TRỮ HỒ SƠ**

- Ghi đầy đủ thông tin của khách hàng vào sổ lưu và hủy bệnh phẩm.

- Kết quả xét nghiệm được lưu trên phần mềm, quản lý LIS.

## **11. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- Thông tư số 01/2013/TT-BYT ngày 11/01/2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế, “Hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh”.

- Bộ Y tế, tháng 6 năm 2014, "Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học".

- Bộ Y tế, tháng 12 năm 2015, “Hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh”.

- Đỗ Trung Phần (2013), Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (tái bản lần thứ hai), Nhà xuất bản Y học, năm 2013.
- Thông tư 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.
- Tài liệu hướng dẫn sử dụng hóa chất AHG.