

KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH NHÓM MÁU

Xác định nhóm máu của một hệ thống là xác định sự có mặt của kháng nguyên (KN) hệ nhóm máu đó trên màng hồng cầu. Tùy theo đặc điểm của các kháng nguyên và từng loại kháng thể mà người ta sử dụng các kỹ thuật và phương pháp khác nhau.

XÁC ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO

Hệ nhóm máu ABO có hai kháng nguyên là kháng nguyên A và kháng nguyên B, ngoài ra còn một số người có kháng nguyên A hay B yếu, tuy nhiên tỷ lệ rất thấp, tên của nhóm máu là tên các kháng nguyên có mặt trên hồng cầu. Điểm đặc biệt ở hệ nhóm máu ABO là sự có mặt của kháng thể tự nhiên một cách thường xuyên ở những người không có kháng nguyên tương ứng trên màng hồng cầu, do vậy có thể xác định sự có mặt của kháng nguyên qua việc xác định sự vắng mặt của kháng thể tương ứng trong huyết thanh.

1. Nguyên lý

Hồng cầu mang kháng nguyên A hay kháng nguyên B sẽ bị ngưng kết khi cho tiếp xúc với kháng thể chống A hay kháng thể chống B trong môi trường nước muối..

Có hai phương pháp xác định nhóm máu hệ ABO là: (1) phương pháp huyết thanh mẫu là dùng kháng thể đã biết để phát hiện kháng nguyên tương ứng trên màng hồng cầu và (2) phương pháp hồng cầu mẫu là dùng hồng cầu mẫu đã biết trước kháng nguyên để xác định kháng thể tương ứng trong huyết thanh, từ đó suy ra kháng nguyên trên hồng cầu cần thử.

2. Dụng cụ, hoá chất

2.1. Dụng cụ

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| - Máy ly tâm | - Ống nghiệm tan máu |
| - Kính hiển vi | - Phiến kính |
| - Pipette Pasteur | - Quả bóp cao su |
| - Phiến đá 12x12 cm | - Cốc mở thủy tinh |
| - Que thủy tinh | - Bông thấm |
| - Tủ lạnh đựng sinh phẩm | - Tủ ấm 37°C |
| - Bình cách thủy 37°C | - Cặp |
| - Kéo | - Đồng hồ bấm giây |
| - Giá đựng ống nghiệm | |

2.2. Thuốc thử

Tài liệu được sưu tầm từ nhiều nguồn khác nhau và mang tính tham khảo. NhómMáu.vn không chịu trách nhiệm về tính pháp lý và tính chính xác trong các tài liệu này.

- Huyết thanh mẫu: chống A, chống B, chống AB
- Hồng cầu mẫu A 10% và 2-5 %
- Hồng cầu mẫu B 10% và 2-5 %
- Nước muối 9%
- Nước cất

2.3. Máu xét nghiệm: lấy 2 ống máu cho mỗi bệnh nhân

- 2 ml máu có chống đông bằng dung dịch citrate (tỷ lệ máu/ chống đông = 4/1)
- 2 ml máu không chống

3. Quy trình kỹ thuật

3.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

- Ly tâm tách lấy huyết thanh máu xét nghiệm (ống không chống đông)
- Rửa hồng cầu bệnh nhân bằng nước muối 9% 3 lần, pha thành dung dịch treo hồng cầu 5% và 10% trong nước muối 9%.

3.2. Kỹ thuật định nhóm máu trên đá men (hoặc phiến kính)

3.2.1. Phương pháp huyết thanh mẫu:

- Chọn ba vị trí ngang hàng trên phiến đá cách nhau khoảng 5 - 6cm
- Nhỏ vào mỗi vị trí hai giọt huyết thanh mẫu mỗi loại theo trình tự: vị trí 1 là chống A, vị trí 2 là chống B, vị trí 3 là chống AB (sử dụng pipet gắn sẵn ở lọ huyết thanh mẫu)
- Dung pipet Pasteur nhỏ thêm vào bên cạnh ba vị trí trên mỗi vị trí một giọt dịch treo hồng cầu cần định nhóm 10%
- Dùng que thủy tinh trộn đều huyết thanh mẫu với hồng cầu cần định nhóm để có vòng tròn đường kính từ 2 - 3cm, lắc nhẹ liên tục trong vòng 2 - 3 phút và đọc kết quả.

3.2.2. Phương pháp hồng cầu mẫu:

- Chọn hai vị trí trên đá men cách nhau từ 6 - 7 cm.
- Nhỏ vào mỗi vị trí một giọt hồng cầu mẫu 10% theo thứ tự: vị trí 1 là hồng cầu mẫu A, vị trí 2 là hồng cầu mẫu B
- Thêm một giọt huyết thanh cần định nhóm vào cạnh các giọt hồng cầu trên.
- Trộn đều huyết thanh cần thử với hồng cầu mẫu để có một vòng tròn có đường kính 2-3 cm. Lắc nhẹ liên tục trong vòng 2 phút rồi đọc và ghi lại kết quả.

3.3. Kỹ thuật định nhóm máu trên ống nghiệm:

a. Phương pháp Huyết thanh mẫu

- Chuẩn bị ba ống nghiệm tan máu viết nhãn và đặt vào một hàng trên giá ống nghiệm,

*Tài liệu được sưu tầm từ nhiều nguồn khác nhau và mang tính tham khảo.
NhómMáu.vn không chịu trách nhiệm về tính pháp lý và tính chính xác trong các tài liệu này.*

- Nhỏ vào mỗi ống một giọt huyết thanh mẫu theo thứ tự các ống 1-2-3-là : chống A, chống B, chống AB
- Thêm vào mỗi ống nghiệm 1 giọt hồng cầu cần định nhóm đã được pha loãng 5% trong nước muối 9%
- Trộn đều và ly tâm 1000 v/phút trong 1 phút
- Nghiêng nhẹ thành ống, đọc ngưng kết và hiện tượng tan máu bằng mắt thường, sau đó đọc qua kính hiển vi
- Ghi lại kết quả.

b. Phương pháp Hồng cầu mẫu(HCM)

- Chuẩn bị hai ống nghiệm tan máu viết nhãn và đặt vào một hàng trên giá ống nghiệm,
- Nhỏ vào mỗi ống một giọt HCM 5% theo trình tự: ống 1: HCM A, ống 2: HCM B
- Thêm vào mỗi ống nghiệm một giọt huyết thanh bệnh nhân
- Trộn đều, ly tâm 1000v/phút/ trong 1 phút.
- Nghiêng nhẹ thành ống, đọc ngưng kết bằng mắt thường và qua kính hiển vi.
- Ghi lại kết quả.

4. Kết quả định nhóm máu hệ ABO (theo bảng 1)

Bảng 1. Phân tích kết quả định nhóm máu hệ ABO

PP	Phương pháp Huyết thanh mẫu			PP. Hồng cầu mẫu		Kết quả (Nhóm)
	Chống A	Chống B	Chống A, B	HC. A	HC. B	
Kết quả PƯ	+	-	+	-	+	A
	-	+	+	+	-	B
	-	-	-	+	+	O
	+	+	+	-	-	AB

Ghi chú: PƯ: Phản ứng; + : Có ngưng kết; - : Không ngưng kết.

5. Những nguyên nhân sai lầm

5.1. Do thiếu kiểm tra:

- Không kiểm tra nên nhầm tên hoặc trùng tên bệnh nhân,
- Không kiểm tra nên lẫn sinh phẩm, sinh phẩm hồng
- Trình độ chuyên môn kém, hoặc thiếu thận trọng, tiến hành không theo quy trình.
+ Tỷ lệ huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu không tương ứng

*Tài liệu được sưu tầm từ nhiều nguồn khác nhau và mang tính tham khảo.
NhómMáu.vn không chịu trách nhiệm về tính pháp lý và tính chính xác trong các tài liệu này.*

+ Để quá lâu mới đọc kết quả, đọc kết quả quá nhanh.

5.2. Do nhầm lẫn về huyết thanh học:

- Ngưng kết không đặc hiệu:

+ Do hồng cầu mẫu và huyết thanh mẫu nhiễm trùng hoặc biến chất

+ Máu tự ngưng kết (kháng thể tự miễn nóng và lạnh)

+ Mẫu máu bị nhiễm trùng.

