

Chương I

# TẾ BÀO VÀ MÔ HỌC CƠ QUAN TẠO MÁU



## TỔNG PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI (BẰNG MÁY)

### I. ĐẠI CƯƠNG

Các chỉ số tế bào máu phản ánh trực tiếp hoặc gián tiếp tình trạng sinh lý hoặc một số bệnh lý của cơ thể. Do có quan hệ mật thiết với mọi tổ chức nên máu có khả năng cung cấp những bằng chứng sớm nhất về các thay đổi tình trạng sức khỏe và tiến triển bệnh lý.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 điều dưỡng lấy máu người bệnh.
- 01 kỹ thuật viên làm xét nghiệm (làm bằng máy).

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Máy đếm tế bào tự động hoặc bán tự động kèm máy in.
- Máy lắc ống máu.
- Bàn sấy (đèn hoặc máy sấy tiêu bản).
- Cóng (bể) nhuộm tiêu bản.
- Giá cắm tiêu bản.
- Kính hiển vi quang học.
- Máy lập công thức bạch cầu.
- Ống nghiệm có chất chống đông.
- Giá cắm ống xét nghiệm.
- Lam kính, lam kéo.
- Bút chì đánh dấu, bút dạ ghi số, bút bi vào sổ.
- Bông cotton sát trùng, ga-rô.
- Kim lấy máu tĩnh mạch.
- Băng urgo.
- Dầu soi kính, gạc lau kính.
- Giấy xét nghiệm.
- Găng tay.
- Máu chuẩn máy.

- Dung dịch chạy máy, rửa máy.
- Cần tuyệt đối cố định tiêu bản.
- Dung dịch Giemsa mẹ.
- Nước trung tính.
- Túi rác các loại.

### 3. Người bệnh

Có thể xét nghiệm ở mọi thời điểm, tốt nhất làm vào buổi sáng, chưa ăn gì và không phải chuẩn bị gì đặc biệt.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Giấy chỉ định xét nghiệm (biểu mẫu số 30/BV 01), có ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, năm sinh, địa chỉ, khoa phòng, số giường, chẩn đoán, có đánh dấu những thông số cần xét nghiệm, ghi rõ ngày tháng năm và chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

Nếu là xét nghiệm cấp cứu thì giấy xét nghiệm có đánh dấu chéo ô cấp cứu.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Người cần xét nghiệm hoặc y tá điều dưỡng đưa giấy chỉ định xét nghiệm.
- Lấy 2ml máu tĩnh mạch trực tiếp từ người bệnh (theo quy trình lấy máu tĩnh mạch), cho vào ống chống đông, lắc đều hoặc nhận ống máu người bệnh do điều dưỡng lấy sẵn (mẫu máu phải đạt yêu cầu về số lượng và chất lượng, điều dưỡng phải ghi và ký nhận vào sổ nhận bệnh phẩm), trên ống phải ghi đầy đủ thông tin phù hợp với giấy xét nghiệm.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Đánh số thứ tự lên giấy xét nghiệm và ống máu người bệnh (cùng một số).
- Vào sổ theo thứ tự ghi trên giấy xét nghiệm.
- Lắc đều ống máu (bằng máy lắc nếu có).
- Cho máu vào chạy máy (theo quy trình chạy máy đếm tế bào). Số thứ tự trên máy cũng cùng số với ống máu. In (ghim) kết quả vào giấy xét nghiệm.
- Kéo tiêu bản và nhuộm Giemsa (theo quy trình kéo nhuộm tiêu bản).

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Đọc trên kính hiển vi và đối chiếu tiêu bản với kết quả chạy máy.

- Nếu phù hợp, nhân viên xét nghiệm ký, ghi ngày tháng xét nghiệm và trả.
- Nếu không phù hợp phải kiểm tra lại.
- Nếu quá khả năng phải báo cáo bác sĩ trong khoa hoặc người phụ trách.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhầm mẫu bệnh phẩm.
- Máy chạy không đúng hoặc nhầm kết quả.
- Mẫu bệnh phẩm lấy không đủ số lượng, bị đông, hoặc vỡ hồng cầu.

Những trường hợp này cần yêu cầu lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Thay đổi mật độ tế bào và không giữ được tính nguyên vẹn của tế bào.
- Thời gian từ khi lấy máu ra khỏi thành mạch đến khi làm xét nghiệm quá 6 tiếng.

## HUYẾT ĐỒ (BẰNG MÁY)

### I. ĐẠI CƯƠNG

Nhiều tình trạng sinh lý và bệnh lý của cơ thể được phản ánh trực tiếp hoặc gián tiếp qua số lượng, hình thái cũng như thành phần các tế bào máu. Huyết đồ là bản tổng kết có bình luận các biểu hiện đó. Qua đó có thể đưa ra một số định hướng cho các bác sĩ điều trị.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 điều dưỡng lấy máu xét nghiệm.
- 01 kỹ thuật viên thực hiện xét nghiệm.
- 01 bác sĩ chuyên khoa huyết học đọc kết quả.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Máy đếm tế bào tự động hoặc bán tự động kèm máy in.
- Máy lắc ống máu.
- Bàn sấy (đèn hoặc máy sấy tiêu bản).
- Tủ ấm 37°C
- Cóng (bể) nhuộm tiêu bản.
- Giá cắm tiêu bản.
- Kính hiển vi quang học.
- Máy lập công thức bạch cầu.
- Ống nghiệm có chất chống đông.
- Giá cắm ống xét nghiệm.
- Lam kính, lam kéo.
- Bút chì đánh dấu, bút dạ ghi số, bút bi vào sổ.
- Bông cotton sát trùng, ga-rô.
- Kim lấy máu tĩnh mạch.
- Băng urgo.
- Dầu soi kính, gạc lau kính.

- Giấy xét nghiệm.
- Găng tay.
- Máu chuẩn máy.
- Dung dịch chạy máy, rửa máy.
- Hóa chất làm hồng cầu lưới (xanh cresyl pha trong cồn).
- Cồn tuyệt đối cố định tiêu bản.
- Dung dịch Giemsa mẹ.
- Nước trung tính.
- Máy vi tính và máy in.
- Túi rác các loại.

### 3. Người bệnh

Có thể xét nghiệm ở mọi thời điểm, tốt nhất làm vào buổi sáng, chưa ăn gì và không phải chuẩn bị gì đặc biệt.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Giấy chỉ định xét nghiệm (biểu mẫu số 33/BV - 99), có ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, năm sinh, địa chỉ, khoa phòng, số giường, chẩn đoán, yêu cầu xét nghiệm, ghi rõ ngày tháng năm và chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Người cần xét nghiệm hoặc điều dưỡng viên đưa giấy chỉ định xét nghiệm.
- Lấy 2ml máu tĩnh mạch trực tiếp từ người bệnh cho vào ống chống đông, lắc đều (theo quy trình lấy máu tĩnh mạch) hoặc nhận ống máu người bệnh do điều dưỡng viên lấy sẵn (máu phải đảm bảo số lượng cũng như chất lượng, điều dưỡng viên phải ghi vào sổ nhận bệnh phẩm ngày giờ đưa xét nghiệm và ký tên), trên ống có ghi đầy đủ thông tin phù hợp với giấy xét nghiệm.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Đánh số thứ tự lên giấy xét nghiệm và ống máu người bệnh (cùng một số).
- Vào sổ theo thứ tự ghi trên giấy xét nghiệm.
- Lắc đều ống máu (bằng máy lắc nếu có).

Cho máu vào chạy máy (theo quy trình chạy máy đếm tế bào). Số thứ tự trên máy cũng cùng số với ống máu. In kết quả vào giấy riêng rồi ghim vào giấy xét nghiệm.

- Kéo tiêu bản và nhuộm Giemsa (theo quy trình kéo nhuộm tiêu bản).

Làm hồng cầu lưới (cho vào ống nghiệm nhỏ 2 giọt máu, 1 giọt xanh cresyl, lắc đều, nút kín, cho vào tủ ấm 37°C trong 15-20 phút, lấy ra kéo tiêu bản, để khô tự nhiên rồi đọc trên kính hiển vi quang học) và tính số lượng hồng cầu lưới trong 1000 hồng cầu trưởng thành, ghi kết quả vào giấy xét nghiệm.

– Lưu ý nếu sử dụng máy đếm tế bào có kèm hồng cầu lưới thì bước này không phải làm.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

– Đọc tiêu bản nhuộm Giemsa trên kính hiển vi, đối chiếu với kết quả chạy máy và ghi đầy đủ các thông số cùng với ý kiến nhận xét vào giấy xét nghiệm. Có thể đưa ra một số yêu cầu xét nghiệm thêm hoặc định hướng chẩn đoán (nếu cần). Ghi ngày tháng năm đọc kết quả và bác sĩ ký tên.

- Vào sổ lưu kết quả hoặc vào máy vi tính.
- Trả kết quả.
- Xét nghiệm trả trong vòng 24 giờ.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhầm mẫu bệnh phẩm.
  - Nhầm tiêu bản.
  - Máy chạy kết quả không đúng hoặc bị nhầm.
  - Mẫu bệnh phẩm lấy không đủ số lượng, bị đông, hoặc vỡ hồng cầu.
- Những trường hợp này cần yêu cầu lấy lại mẫu bệnh phẩm.
- Thay đổi mật độ tế bào và không giữ được tính nguyên vẹn của tế bào.



## CHỌC HÚT TỬY XƯƠNG LÀM TỬY ĐỒ

### I. ĐẠI CƯƠNG

Tủy xương là cơ quan tạo máu quan trọng và là nơi sinh máu chủ yếu ở người trưởng thành. Tủy đồ là xét nghiệm thăm dò chức năng tạo máu cũng như gợi ý các nguyên nhân gây rối loạn chức năng này ở tủy qua phân tích số lượng và hình thái các tế bào tủy xương.

### II. CHỈ ĐỊNH

- Khi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi không bình thường mà không xác định được nguyên nhân bằng các xét nghiệm khác.
- Người bệnh sốt không rõ nguyên nhân.
- Chẩn đoán rối loạn sự sinh máu: rối loạn sinh tủy, lơ xê mi, rối loạn tăng sinh tủy.
- Chẩn đoán những rối loạn miễn dịch: đa u tủy xương.
- Kiểm tra tình trạng tủy của người bệnh bị u lympho ác tính và u các tổ chức khác.
- Theo dõi đáp ứng điều trị.
- Đánh giá tình trạng tủy xương ở người bệnh cấy ghép tủy.
- Tình trạng sinh máu của tủy trong các bệnh lý khác: nhiễm trùng, bệnh hệ thống, ung thư di căn, sau điều trị tia xạ hoặc lao.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tương đối: - Bệnh nhân hemophillia.  
- Không làm thủ thuật tại vị trí đang có nhiễm trùng.

### IV CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 bác sĩ chuyên khoa huyết học làm thủ thuật và đọc kết quả.
- 02 kỹ thuật viên chuyên khoa phụ làm thủ thuật, làm tiêu bản...

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Phòng làm thủ thuật có trang bị giường thủ thuật, đèn làm thủ thuật, điều hòa, máy sưởi, lavabo, xe đẩy dụng cụ.

- Nồi hấp ướt, hấp sấy dụng cụ vô trùng.
- Tủ thuốc cấp cứu (có đủ thuốc chống phản vệ, chống chảy máu).
- Bàn sấy (hoặc đèn hoặc máy sấy tiêu bản).
- Giá cầm tiêu bản.
- Ống nghiệm có chất chống đông EDTA.
- Giá cầm ống xét nghiệm.
- Lam kính, lam kéo.
- Bút chì đánh dấu tiêu bản, bút dạ ghi số ống, bút bi vào sổ.
- Bông cotton 70°, cotton iốt sát trùng, ga-rô.
- Bơm kim tiêm lấy máu tĩnh mạch.
- Băng urgo.
- Giấy xét nghiệm, sổ sách.
- Găng tay vô trùng.
- Mũ, khẩu trang, quần áo bảo hộ lao động
- Bơm kim tiêm gây tê.
- Kim chọc tủy.
- Xi lanh hút dịch tủy loại 10ml.
- Thuốc gây tê.
- Xốp cầm máu.
- Kẹp phẫu tích, kéo.
- khay chữ nhật, khay quả đậu, bát kê...
- Hộp đựng kim, hộp đựng dụng cụ, đồ vải hấp sấy.
- Săng vô trùng.
- Ga trải giường.
- Túi rác các loại.

### 3. Người bệnh

- Nên làm xét nghiệm vào buổi sáng.

- Phải được bác sĩ tư vấn, giải thích trước khi làm xét nghiệm để người bệnh yên tâm và cùng cộng tác.
- Thử test thuốc gây tê có kết quả âm tính.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

- Có giấy chỉ định xét nghiệm huyết tủy đồ (theo biểu mẫu số 33/BV - 99), ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, năm sinh, địa chỉ, khoa phòng, số giường, chẩn đoán, yêu cầu xét nghiệm, ghi rõ ngày tháng năm và chữ ký bác sĩ ra y lệnh. Có ghi ngày hẹn làm xét nghiệm của labo (trường hợp đông người bệnh).
- Có kết quả xét nghiệm HIV âm tính.
- Có kết quả thử test thuốc gây tê âm tính với chữ ký của người đọc kết quả.

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Kiểm tra hồ sơ

Có đầy đủ như trên

#### 2. Kiểm tra người bệnh

Đã có thử test

#### 3. Thực hiện kỹ thuật

- Chuẩn bị đầy đủ trang thiết bị, dụng cụ, hóa chất cần thiết.
- Người thực hiện kỹ thuật trang bị bảo hộ đầy đủ.
- Gọi người bệnh vào theo thứ tự (ưu tiên người bệnh nặng, người già, trẻ nhỏ).
- Cho người bệnh nằm xuống giường.
- Lấy máu tĩnh mạch (quy trình lấy máu tĩnh mạch) cho vào ống chống đông EDTA và kéo 4-6 tiêu bản máu đàn.
- Cho người bệnh nằm sấp nếu chọc ở vị trí gai chậu sau trên, nằm ngửa nếu chọc ở gai chậu trước trên hoặc xương ức.
- Bộc lộ vị trí làm thủ thuật (xương ức, gai chậu sau trên hoặc trước trên).
- Trải sạch.
- Xác định vị trí chọc.
- Sát trùng vị trí chọc bằng cồn iốt, sau đó bằng cồn 70°.
- Sát trùng tay bằng cồn 70°.
- Gây tê vị trí chọc theo lớp (da, cơ, màng xương), khi chọc vào màng xương bơm thuốc tê sẽ có cảm giác hơi nặng tay, chờ 3-5 phút.

– Chọc kim qua 3 lớp như trên, lúc qua xương vào đến ổ tủy có cảm giác nhẹ tay hơn, hút lấy 0,5ml dịch tủy, lúc hút người bệnh có cảm giác hơi đau tức, cho vào ống chống đông 0,3ml dịch, còn lại gạt lấy cặn kéo 8-10 tiêu bản, có thể làm lam áp nếu cần.

– Băng cầm máu bằng xốp cầm máu và băng urgo.

## VI. THEO DÕI

Theo dõi trong vòng 15 phút không thấy máu thấm ra băng thì cho người bệnh về.

## VII. XỬ TRÍ TAI BIẾN

Nói chung ít có tai biến.

Có thể người bệnh lo lắng, sợ hãi: cần giải thích rõ để người bệnh yên tâm, trẻ em có thể dùng tiền mê, an thần nhẹ.

– Đau: gây tê tốt vị trí chọc.

– Máu chảy ra ở vị trí chọc tủy, dùng tay ép chặt một lúc, đặt xốp cầm máu và băng ép là được.

– Sốc dị ứng thuốc gây tê: phải thử test trước.

– Gãy kim, tụt đốc kim: do kim sử dụng lại quá nhiều lần hoặc kim chất lượng không đảm bảo. Nên sử dụng kim dùng một lần.

– Nhiễm trùng nơi chọc: dụng cụ và thao tác phải đảm bảo vô trùng.

## XÉT NGHIỆM TỬY ĐỒ

### I. ĐẠI CƯƠNG

Tủy xương là cơ quan tạo máu quan trọng và là nơi sinh máu chủ yếu ở người trưởng thành. Tủy đồ là xét nghiệm thăm dò chức năng tạo máu cũng như gợi ý các nguyên nhân gây rối loạn chức năng này ở tủy qua phân tích số lượng và hình thái các tế bào tủy xương.

### II. CHỈ ĐỊNH

- Khi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi không bình thường mà không xác định được nguyên nhân bằng các xét nghiệm khác.
- Người bệnh sốt không rõ nguyên nhân.
- Chẩn đoán rối loạn sự sinh máu: rối loạn sinh tủy, lơ xê mi, rối loạn tăng sinh tủy.
- Chẩn đoán những rối loạn miễn dịch: đa u tủy xương.
- Kiểm tra tình trạng tủy của người bệnh bị u lympho ác tính và u các tổ chức khác.
- Theo dõi đáp ứng điều trị.
- Đánh giá tình trạng tủy xương ở người bệnh cấy ghép tủy.
- Tình trạng sinh máu của tủy trong các bệnh lý khác: nhiễm trùng, bệnh hệ thống, ung thư di căn, sau điều trị tia xạ hoặc lao.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Tương đối khi làm thủ thuật:

- Người bệnh hemophillia.
- Không làm thủ thuật tại vị trí đang có nhiễm trùng.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 bác sĩ chuyên khoa huyết học đọc kết quả.
- 02 kỹ thuật viên chuyên khoa phụ làm tiêu bản, chạy máy, vào sổ kết quả.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Máy đếm tế bào tự động hoặc bán tự động kèm máy in.

- Máy lắc ống máu.
- Bàn sấy (hoặc đèn hoặc máy sấy tiêu bản).
- Tủ ấm 37°C
- Cóng (bể) nhuộm tiêu bản.
- Giá cắm tiêu bản.
- Kính hiển vi quang học.
- Máy lập công thức bạch cầu.
- Giá cắm ống xét nghiệm.
- Lam kính, lam kéo.
- Bút chì đánh dấu tiêu bản, bút dạ ghi số ống, bút bi vào sổ.
- Dầu soi kính, gạc lau kính.
- Giấy xét nghiệm.
- Găng tay.
- Mũ, khẩu trang, quần áo bảo hộ lao động.
- Máy vi tính, máy in.
- Giấy và mực in.
- Máu chuẩn máy.
- Dung dịch chạy máy, rửa máy.
- Hóa chất làm hồng cầu lưới (dung dịch xanh cresyl pha trong cồn). Nếu dùng máy laser có sẵn hồng cầu lưới thì không cần pha dung dịch xanh cresyl trong cồn.
- Cồn tuyệt đối cố định tiêu bản.
- Dung dịch Giemsa mẹ.
- Nước trung tính.

### 3. Bệnh phẩm

- Ống đựng máu và tủy của người bệnh.
- Tiêu bản đã kéo.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Giấy xét nghiệm của người bệnh có chữ ký của bác sĩ ra y lệnh.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Kiểm tra giấy xét nghiệm đối chiếu với bệnh phẩm.
- Kiểm tra bệnh phẩm có đảm bảo yêu cầu về số lượng và chất lượng không.
- Kiểm tra tiêu bản có đúng, đủ và đã đánh dấu tiêu bản của từng người bệnh.

- Chạy máy đếm tế bào máu ngoại vi và dịch tủy.
- Làm tiêu bản hồng cầu lưới cả máu và tủy (tương tự trong xét nghiệm huyết đồ) và đọc kết quả hồng cầu lưới trong máu và tủy, ghi kết quả vào giấy xét nghiệm. *(Lưu ý nếu sử dụng máy đếm tế bào có cả hồng cầu lưới thì không phải làm bước này).*
- Nhuộm Giemsa 2 thì hai tiêu bản máu và hai tiêu bản tủy, còn lại để tiêu bản lưu.
- Đọc trên kính hiển vi quang học, đối chiếu với kết quả chạy máy, ghi đầy đủ các thông số cần thiết và ý kiến nhận xét về kết quả huyết đồ và tủy đồ. Có thể đưa ra kết luận nếu thấy chắc chắn hoặc yêu cầu làm thêm xét nghiệm, định hướng chẩn đoán. Bác sĩ ghi ngày tháng năm và ký tên.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- So sánh kết quả do máy đưa ra với lam tủy và lam máu, lưu ý số lượng hồng cầu lưới.
- Đặc điểm về mật độ và sự phân bố tế bào tủy xương.
- Tỷ lệ các dòng hồng cầu, bạch cầu, mẫu tiểu cầu.
- Đặc điểm hình thái các dòng tế bào máu.
- Có hay không có: ALIP (Abnomal Localization Immature Precursors), tế bào ung thư di căn, sợi xơ.
- Vào sổ lưu kết quả hoặc máy vi tính.
- Trả kết quả: xét nghiệm trả trong vòng 48 giờ, trừ trường hợp đặc biệt (khó chẩn đoán, cần hội chẩn, làm thêm một số xét nghiệm khác).

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhầm ống bệnh phẩm.
- Nhầm tiêu bản
- Thiếu hoặc thừa tiêu bản.
- Không đủ số lượng, chất lượng bệnh phẩm.
- Máy chạy kết quả không đúng hoặc nhầm kết quả.
- Kính hiển vi chất lượng kém.
- Trình độ của bác sĩ, tay nghề của kỹ thuật viên còn yếu kém.
- Chọc không đúng ổ tủy nên tủy nghèo hoặc kết quả giống máu ngoại vi.

Tất cả khắc phục bằng đào tạo nâng cao trình độ tay nghề thực hành kỹ thuật, cũng như trình độ đọc chẩn đoán cho bác sĩ và kỹ thuật viên. Sử dụng trang thiết bị, máy móc đảm bảo chất lượng tốt.

## MÁU LẮNG (PHƯƠNG PHÁP THỦ CÔNG)

### I. NGUYÊN LÝ

Máu toàn phần sau khi lấy ra khỏi cơ thể, được chống đông và pha loãng theo một tỷ lệ nhất định, cho vào ống thủy tinh có chia vạch, để đứng thẳng, sau một thời gian máu sẽ lắng và phân lớp, các thành phần hữu hình lắng xuống dưới, lớp trên là huyết tương. Chiều cao của cột huyết tương thể hiện tốc độ lắng máu. Kết quả đánh giá sau 1 giờ và 2 giờ. Tốc độ máu lắng có giá trị trong theo dõi diễn biến và tiên lượng bệnh. Tốc độ lắng máu liên quan chặt chẽ với các yếu tố huyết tương và hồng cầu như sự chênh lệch giữa tỷ trọng của hồng cầu và huyết tương, kích thước hồng cầu, độ nhớt của huyết tương, trạng thái ngưng tập của hồng cầu.

Tốc độ máu lắng tăng ở phụ nữ có thai hay trong thời kỳ kinh nguyệt, người thiếu máu, thay đổi fibrinogen và gammaglobulin, nhiễm trùng, lao, thấp khớp cấp, các bệnh thận, gan, u lympho, u tủy.

Tốc độ lắng máu giảm trong bệnh đa hồng cầu, rối loạn protein, viêm gan virus, dị ứng.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 điều dưỡng lấy máu.
- 01 kỹ thuật viên làm kỹ thuật.

#### 2. Phương tiện - hoá chất

- Dụng cụ lấy máu tĩnh mạch (bông cồn sát trùng, ga-rô, bơm kim tiêm, băng urgo).
- Ống xét nghiệm có sẵn chất chống đông.
- Giá cầm ống xét nghiệm.
- Nút cao su, bông gạc.
- Que (ống) máu lắng (Pachenkob hoặc Westergreen).
- Giá lên máu lắng (Pachenkob hoặc Westergreen).
- Ống nghiệm nhỏ.
- Đồng hồ hẹn giờ.



- Dung dịch natri citrat 3,8%.
- Sổ ghi kết quả, bút dạ đánh số, bút bi ghi kết quả.

### 3. Người bệnh

Nên làm vào buổi sáng, người bệnh chưa ăn gì.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Giấy chỉ định xét nghiệm (biểu mẫu số 30/BV-01), có ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, năm sinh, địa chỉ, khoa phòng, số giường, chẩn đoán, có đánh dấu ô chỉ định xét nghiệm, ghi rõ ngày tháng năm và chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Người cần xét nghiệm hoặc điều dưỡng viên đưa giấy chỉ định xét nghiệm.
- Lấy 2ml máu tĩnh mạch trực tiếp từ người bệnh cho vào ống chống đông, lắc đều hoặc nhận ống máu người bệnh do điều dưỡng viên lấy sẵn (máu phải đảm bảo số lượng cũng như chất lượng, điều dưỡng viên phải ghi vào sổ nhận bệnh phẩm ngày giờ đưa xét nghiệm và ký tên), trên ống có ghi đầy đủ thông tin phù hợp với giấy xét nghiệm.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Đánh số thứ tự lên giấy xét nghiệm và ống máu người bệnh (cùng một số)
- Vào sổ theo thứ tự ghi trên giấy xét nghiệm.
- Lắc đều ống máu (bằng máy lắc nếu có).
- Tráng que máu lắng bằng dung dịch natri citrat. Lấy 0,4ml (pp Westergreen) hoặc đến vạch P (pp Pachenkob) dung dịch natri citrat 3,8% cho vào ống nghiệm nhỏ khô sạch. Hút tiếp 1,6ml (pp Westergreen) hoặc 2 lần đến vạch K (pp Pachenkob) máu người bệnh, rồi cho vào ống đã có dung dịch natri citrat. Lắc đều nhẹ nhàng. Mao dẫn máu đã được pha loãng (tỷ lệ 1/5) vào que Westergreen đến vạch 0 hoặc que Pachenkob đến vạch K, lau sạch máu bám quanh que máu lắng. Cắm que đứng thẳng lên giá.
- Vào sổ thứ tự ống máu người bệnh và thứ tự que máu lắng trên giá sao cho tương ứng.
- Đặt chuông đồng hồ hẹn sau 1 giờ và 2 giờ.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Đọc kết quả sau 1 giờ và 2 giờ ghi vào sổ kết quả.
- Vào giấy xét nghiệm kết quả máu lắng.

- Ghi ngày tháng năm và ký tên.
- Trả kết quả trong vòng 24 giờ.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Bệnh phẩm lấy không đủ số lượng hoặc đông dây hoặc vỡ hồng cầu.
- Lấy máu để quá lâu mới làm xét nghiệm
- Ống máu lắng bẩn, ứt hoặc sút mẻ
- Tỷ lệ pha loãng không chính xác
- Lắc trộn máu không đều
- Có bọt khí trong ống máu lắng
- Ống máu lắng không thẳng đứng
- Đọc kết quả không đúng thời gian hoặc không đúng cách thức quy định

## TẬP TRUNG BẠCH CẦU

### I. ĐẠI CƯƠNG

Trong các trường hợp có ít tế bào bất thường ở máu ngoại vi, đặc biệt ở người bệnh có số lượng bạch cầu thấp, không thể phát hiện bằng tiêu bản máu dàn. Tập trung bạch cầu là một kỹ thuật làm tăng số lượng và mật độ tế bào có nhân trên tiêu bản, giúp khắc phục khó khăn trên.

### II. CHỈ ĐỊNH

Các trường hợp số lượng tế bào bất thường ở máu ngoại vi ít, đặc biệt ở người bệnh có số lượng bạch cầu máu ngoại vi thấp.

### III. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 kỹ thuật viên làm kỹ thuật
- 01 bác sĩ đọc kết quả

#### 2. Phương tiện - hoá chất

- Dụng cụ lấy máu tĩnh mạch (bông cồn sát trùng, ga-rô, bơm kim tiêm, băng urgo).
- Ống có chống đông EDTA, natri citrat hoặc heparin
- Máy ly tâm
- Máy lập công thức bạch cầu
- Kính hiển vi quang học
- Pipet paster
- Lam kính, lam kéo
- Dung dịch Giemsa mẹ
- Cồn tuyệt đối
- Nước trung tính

#### 3. Người bệnh

Không có yêu cầu đặc biệt

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Giấy chỉ định xét nghiệm có ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, năm sinh, địa chỉ, khoa phòng, số giường, chẩn đoán, có chỉ định xét nghiệm, ghi rõ ngày tháng năm và chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

### IV. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Người cần xét nghiệm hoặc điều dưỡng viên đưa giấy chỉ định xét nghiệm.
- Lấy 3-5ml máu tĩnh mạch trực tiếp từ người bệnh cho vào ống chống đông, lắc đều hoặc nhận ống máu người bệnh do điều dưỡng viên lấy sẵn (máu phải đảm bảo số lượng cũng như chất lượng, điều dưỡng viên phải ghi vào sổ nhận bệnh phẩm ngày giờ đưa xét nghiệm và ký tên), trên ống có ghi đầy đủ thông tin phù hợp với giấy xét nghiệm.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Cắm ống máu lên giá để ở nhiệt độ phòng 30 phút, hút bỏ phần huyết tương ở trên, phần huyết tương còn lại cách khối hồng cầu khoảng 5mm.
- Hút lớp huyết tương này (gồm bạch cầu, tiểu cầu và ít hồng cầu) cho vào ống nghiệm nhỏ.
- Ly tâm 1.000 vòng /phút trong 15 phút, hút bỏ phần huyết tương ở trên, chỉ để lại 0,5ml cặn.

Lắc đều phần cặn, kéo tiêu bản máu dàn, để khô, cố định và nhuộm Giemsa.

### V. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Đọc tiêu bản trên kính hiển vi và trả lời kết quả vào giấy xét nghiệm.
- Ghi ngày tháng năm và ký tên.
- Trả kết quả trong vòng 24 giờ.

### VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhầm lẫn mẫu bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm lấy không đủ số lượng, bị đông hoặc bị vỡ hồng cầu.

## HẠCH ĐỒ

### I. ĐẠI CƯƠNG

Hạch đồ là một xét nghiệm tế bào học nhằm đánh giá thành phần tế bào trong hạch. Đây là một xét nghiệm thăm dò trực tiếp nên rất có giá trị trong chẩn đoán xác định các trường hợp hạch to.

### II. CHỈ ĐỊNH

Có thể chỉ định trong tất cả các trường hợp hạch to, đặc biệt các trường hợp nghi ngờ ác tính hoặc viêm đặc hiệu như:

- U lympho.
- Ung thư di căn hạch.
- Hạch viêm lao.
- Hạch viêm phản ứng.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Khi có biểu hiện nhiễm trùng tại hạch (viêm tấy, đỏ, chảy mủ...).

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 bác sĩ
- 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện - hoá chất

- Bộ dụng cụ sát khuẩn và cầm máu tại chỗ (Bông khô, bông cồn, băng).
- Bơm tiêm 5-10ml, kim tiêm loại 20Gx1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> hoặc lớn hơn.
- Phiến kính làm tiêu bản.
- Bộ dụng cụ nhuộm Giemsa.
- Kính hiển vi quang học.

#### 3. Người bệnh

Có thể thực hiện lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm ở mọi thời điểm trong ngày.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

- Ghi rõ tên, tuổi, địa chỉ người bệnh.
- Chẩn đoán sơ bộ.
- Tên người thực hiện thủ thuật.

- Thời gian thực hiện.
- Mô tả hạch về mặt đại thể.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Kiểm tra hồ sơ**

### **2. Kiểm tra người bệnh**

- Người bệnh được giải thích lý do tiến hành thủ thuật, tư vấn tâm lý trước khi chọc hạch.
- Tư thế: ngồi thẳng, hoặc nằm nếu người bệnh không ngồi được.
- Kiểm tra vị trí hạch to, tính chất hạch.

### **3. Tiến hành kỹ thuật**

- Lựa chọn hạch: ưu tiên chọc hạch thượng đòn, hạch mới to
- Sát khuẩn tại chỗ.
- Cố định hạch bằng ngón trỏ và ngón cái tay trái. Tay phải cầm bơm tiêm lắp sẵn kim, chọc nhẹ nhàng qua da, khi chọc qua vỏ hạch sẽ có cảm giác mật độ chắc hơn. Tùy theo kích thước hạch to hay nhỏ mà quyết định độ sâu của kim. Nói chung nên chọc vào hạch 0,5-1cm hoặc đến vùng trung tâm hạch. Hút mạnh 4-5 lần (áp lực -5ml đến -8ml) nếu hạch có mật độ chắc thì có thể giữ bơm tiêm ở áp lực âm quay bơm tiêm 2-3 vòng đồng tâm. Thả từ từ pít-tông của bơm tiêm đến khi hết áp lực âm. Rút bơm tiêm và kim tiêm.
- Bơm chất hạch lên phiến kính, dàn tiêu bản.
- Để khô tiêu bản tự nhiên, cố định, nhuộm Giemsa.
- Đọc tiêu bản trên kính hiển vi, trả lời kết quả.

## **VI. THEO DÕI**

Theo dõi trong vòng 15 phút không thấy máu thấm ra băng thì cho người bệnh về.

## **VII. XỬ TRÍ TAI BIẾN**

### **1. Tai biến sớm**

- Chảy máu: do chọc vào mạch máu, cần băng cầm máu ngay cho người bệnh.
- Choáng, ngất: do tâm lý người bệnh không ổn định, do chảy máu, hoặc do đau. Cần cho người bệnh nằm nghỉ nơi yên tĩnh, kín gió, theo dõi sát.

### **2. Tai biến muộn**

Nhiễm trùng tại vùng chọc hạch: sử dụng kháng sinh nếu có biểu hiện nhiễm trùng.

## LÁCH ĐỒ

### I. ĐẠI CƯƠNG

Lách đồ là một xét nghiệm tế bào học nhằm đánh giá thành phần tế bào trong lách. Đây là một xét nghiệm thăm dò trực tiếp nên rất có giá trị trong chẩn đoán xác định bệnh tại lách hoặc bệnh hệ tạo máu.

### II. CHỈ ĐỊNH

Trong trường hợp:

- Cường lách
- U lách
- Nghi ngờ sinh máu tại lách
- Nghi ngờ thực bào tại lách

Chỉ tiến hành chọc lách khi người bệnh không có rối loạn đông máu và số lượng TC > 100 G/L.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Khi có rối loạn đông máu
- Số lượng tiểu cầu < 100 G/L

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 bác sĩ.
- 01 kỹ thuật viên.

#### 2. Phương tiện - hoá chất

- Bộ dụng cụ sát khuẩn và cầm máu tại chỗ (Bông khô, bông cồn, băng).
- Bơm tiêm 510ml, kim tiêm loại 20Gx1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> hoặc lớn hơn.
- Phiến kính làm tiêu bản.
- Bộ dụng cụ nhuộm Giemsa.



- Kính hiển vi quang học.

### 3. Người bệnh

Có thể thực hiện lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm ở mọi thời điểm trong ngày.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Ghi rõ tên, tuổi, địa chỉ người bệnh.
- Chẩn đoán sơ bộ.
- Tên người thực hiện thủ thuật.
- Thời gian thực hiện.
- Mô tả lách về mặt đại thể.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Kiểm tra hồ sơ

### 2. Kiểm tra người bệnh

- Người bệnh được giải thích lý do tiến hành thủ thuật, tư vấn tâm lý trước khi chọc hạch.
- Tư thế: người bệnh nằm ngửa, thoải mái.

### 3. Tiến hành kỹ thuật

- Chọn vị trí chọc: thường chọc vào mỗm lách trên đường rạch trước.
- Sát khuẩn tại chỗ.
- Chọc nhẹ nhàng kim đã lắp sẵn bơm tiêm đến hết chiều dày thành bụng. Cho người bệnh hít sâu và nín thở, chọc thật nhanh vào lách, hút 1- 3 lần với áp lực từ -5ml đến -8ml. Thả từ từ pít-tông của bơm tiêm đến khi hết áp lực âm. Rút bơm tiêm cùng kim tiêm. Cho người bệnh thở bình thường.
- Bơm chất hút được lên phiến kính, dàn tiêu bản.
- Để khô tiêu bản tự nhiên, cố định, nhuộm Giemsa.
- Đọc tiêu bản trên kính hiển vi, trả lời kết quả.

## VI. THEO DÕI

Người bệnh nằm bất động tại giường và theo dõi trong vòng 2 giờ.

## VII. XỬ TRÍ TAI BIẾN

### 1. Tai biến sớm

- Chảy máu tại vị trí chọc: do chọc vào mạch máu, cần băng cầm máu ngay cho người bệnh.
- Chảy máu trong ổ bụng: cần theo dõi sát tình trạng đau, biểu hiện mất máu (lâm sàng, xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, siêu âm ổ bụng), cần xử trí cấp cứu, nếu cần có thể phải can thiệp ngoại khoa.
- Choáng, ngất: do tâm lý người bệnh không ổn định, do chảy máu, hoặc do đau. Cần cho người bệnh nằm nghỉ nơi yên tĩnh, kín gió, truyền dịch, theo dõi sát toàn trạng, tìm nguyên nhân.

### 2. Tai biến muộn

Nhiễm trùng tại vùng chọc lách: sử dụng kháng sinh nếu có biểu hiện nhiễm trùng.

## XÉT NGHIỆM SINH THIẾT HẠCH

### I. ĐẠI CƯƠNG

Là xét nghiệm mô bệnh học. Sinh thiết hạch cho phép quan sát cấu trúc hạch, hình thái và phân bố tế bào trong hạch.

### II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả các trường hợp hạch to chưa rõ nguyên nhân.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Có rối loạn đông máu.
- Đang sử dụng thuốc làm tăng nguy cơ chảy máu như: aspirin, heparin.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 bác sĩ và 01 điều dưỡng (Hoặc kỹ thuật viên) trong quá trình lấy hạch.
- Kỹ thuật viên xử lý, cắt, nhuộm mảnh sinh thiết.

#### 2. Phương tiện - hoá chất

- Phòng vô khuẩn (Tốt nhất là phòng mổ) khi lấy hạch.
- Bộ dụng cụ tiểu phẫu: dao mổ, kẹp, kim và chỉ khâu.
- Băng, băng, gạc, cồn 70°, cồn iốt
- Thuốc gây tê tại chỗ (lindocain 1%)
- Hóa chất giúp cố định, xử lý mảnh sinh thiết và nhuộm Giemsa tiêu bản mảnh sinh thiết.
- Dụng cụ chuyển đúc, cắt và nhuộm tiêu bản mảnh sinh thiết.
- Kính hiển vi quang học.

#### 3. Người bệnh

- Nên làm xét nghiệm vào buổi sáng.
- Được bác sĩ tư vấn, giải thích trước khi làm thủ thuật.
- Thử test thuốc tê có kết quả âm tính

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Có giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Kiểm tra hồ sơ

#### 2. Kiểm tra người bệnh

- Kiểm tra lại tên, tuổi, số giường, khoa.
- Khám kỹ hạch, đặc biệt chú ý vùng cổ.

#### 3. Lấy bệnh phẩm

- Lựa chọn hạch
  - + Chọn hạch ở ngoại biên nông, kích thước vừa (đường kính < 2cm).
  - + Tốt nhất hạch ở vùng cổ hoặc phía trên cơ hoành.
- Gây tê tại chỗ bằng lindocain.
- Rửa da và lớp cơ, cân.
- Lấy hạch bằng kẹp. Thường lấy cả hạch, cắt một phần khi hạch quá to.
- Chuyển mảnh sinh thiết vào dung dịch cố định, sát khuẩn và khâu vết rạch.

#### 4. Tiến hành kỹ thuật

##### 4.1. Xử lý mảnh sinh thiết

- Cố định mảnh sinh thiết trong dung dịch formol 10% trong 24 giờ.
- Chuyển trong hóa chất.
  - + Rửa mẫu trong nước chảy nhẹ trong 1 giờ.
  - + Đẩy nước bằng ngâm trong cồn.
    - Ngâm trong cồn 90°: 30 phút.
    - Ngâm trong cồn tuyệt đối I: 1 giờ.
    - Ngâm trong cồn tuyệt đối II: 1 giờ.
    - Ngâm trong cồn tuyệt đối II: 3 giờ.
- Đẩy cồn bằng xylen lấy mảnh sinh thiết thấm khô bằng giấy thấm.
  - Ngâm trong xylen I: 30 phút.
  - Ngâm trong xylen III: 1 giờ.

- Vùi mẫu trong paraffin và đúc khuôn.
- Lấy mẫu từ xylen III và thấm khô bằng giấy thấm.
- Ngâm trong paraffin nóng chảy trong 12 giờ.
- Đúc mảnh sinh thiết trong khuôn paraffin nóng chảy.
- Bảo quản khuôn mảnh sinh thiết trong ngăn tủ mát (2°C - 8°C).

#### 4.2. Nhuộm Giemsa mảnh sinh thiết

- Cắt dán tiêu bản và để khô trong tủ 37°C trong 2 giờ
- Tẩy paraffin bằng cách chuyển mẫu qua Toluen I,II,III → cồn tuyệt đối I,II và cồn 80°C. Mỗi loại 5 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ: 5 phút.
- Tráng qua cồn tuyệt đối.
- Nhuộm Giemsa 1/10: 15 phút.
- Rửa dưới nước chảy nhẹ.
- Đẩy nước bằng cồn tuyệt đối ngâm trong Toluen.
- Gắn lamên và để khô

### VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Quan sát tiêu bản ở vật kính nhỏ (x 4 hoặc x 10) để có nhận xét tổng thể về cấu trúc hạch và đặc điểm phân bố tế bào.
- Quan sát ở vật kính x 40 để xem xét thành phần và hình thái tế bào.

### VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Biến chứng chảy máu vùng sinh thiết (đặc biệt vị trí mũi, tai và họng).
- Biến chứng nhiễm trùng (đặc biệt vị trí mũi, họng).
- Đảm bảo thời gian ở mỗi khâu trong quá trình xử trí, nhuộm Giemsa.
- Chảy máu
  - + Giảm nguy cơ chảy máu: xem xét kỹ xét nghiệm đông máu trước khi làm xét nghiệm. Dùng thuốc có khả năng làm tăng nguy cơ chảy máu trước 1 tuần.
  - + Băng ép cầm máu tại chỗ.
  - + Có thể cân nhắc dùng thuốc cầm máu.
- Nhiễm trùng: dùng kháng sinh dự phòng trong 5 ngày.

## SINH THIẾT TUY XƯƠNG

### I. NGUYÊN LÝ

Sinh thiết tủy xương là kỹ thuật khảo sát cấu trúc mô bệnh học của tủy tạo máu. Bằng kỹ thuật cố định, cắt lát và nhuộm tổ chức học, xét nghiệm sinh thiết tủy xương cho phép khảo sát:

- Cấu trúc mô bệnh học của tủy sinh máu.
- Số lượng, hình thái, cấu trúc, thành phần và vị trí nguyên ủy của tế bào máu và các bất thường của hệ thống liên võng (xơ, sợi).

### II. CHỈ ĐỊNH

Xét nghiệm sinh thiết tủy xương được chỉ định khi cần:

- Chọc hút tủy thất bại.
- Chẩn đoán xác định, chẩn đoán giai đoạn, theo dõi điều trị các bệnh thuộc hội chứng tăng sinh tủy mạn tính, hội chứng tăng sinh lympho...
- Chẩn đoán xác định bệnh suy tủy xương.
- Hỗ trợ chẩn đoán (lơ xê mi cấp, rối loạn sinh tủy, xuất huyết giảm tiểu cầu...) trong các trường hợp tủy đồ nghèo tế bào.
- Chẩn đoán các trường hợp ung thư di căn tủy xương, u lympho xâm lấn tủy xương.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Có rối loạn đông máu.
- Đang sử dụng thuốc làm tăng nguy cơ chảy máu như: aspirin, heparin
- Người bệnh có các bệnh lý nội khoa nặng khác kèm theo như: suy tim, suy hô hấp, hôn mê.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

- 01 bác sĩ và 01 kỹ thuật viên thực hiện thủ thuật.
- 01 bác sĩ và 01 kỹ thuật viên xử lý, cắt nhuộm và đọc kết quả mảnh sinh thiết.

## 2. Phương tiện - hoá chất

- Phòng thủ thuật vô khuẩn và dụng cụ đó tiệt trùng (khay quả đậu, xe tiêm, hộp dụng cụ).
- Vật liệu sát trùng: bông, cồn iốt 5%, cồn 70°.
- Vật liệu cầm máu.
- Thuốc gây tê tại chỗ (lylocain 2%).
- Bơm tiêm 5ml.
- Kim sinh thiết tuỷ xương (kim Jamshidi).
- Lọ thuỷ tinh 60ml (lọ cổ to).
- Dung dịch cố định Helly

## 3. Người bệnh

- Người bệnh được giải thích về sự cần thiết, các tai biến có thể gặp của thủ thuật.
- Thử test thuốc tê.

## 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

# V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

## 1. Kiểm tra hồ sơ

## 2. Kiểm tra người bệnh

Kiểm tra đối chiếu các thông tin giữa người bệnh và chỉ định xét nghiệm:

- Tên tuổi, số giường, khoa/ phòng.
- Không có các chống chỉ định xét nghiệm
- Người bệnh đã có kết quả xét nghiệm HIV âm tính.
- Người bệnh đã được thử test thuốc tê âm tính.

## 3. Tiến hành kỹ thuật

- Xác định vị trí chọc sinh thiết.
- Sát trùng.
- Gây tê từng lớp.
- Đưa kim qua da.

- Dụng kim thẳng đứng khoan nhẹ nhàng qua lớp cơ.
- Xác định lại điểm mốc.
- Khoan nhẹ kim trên màng xương, góc quay kim khoảng 10-150°.
- Khi có cảm giác đồ khoan qua màng xương (vào phần tuỷ xương xốp), tay trái giữ cố định phần vỏ kim, tay phải rút nòng kim để vào hộp vô trùng.
- Đem một miếng gạc vô trùng lên đốc kim, tiếp tục khoan nhẹ nhàng 1-1,5cm.
- Lắc nhẹ kim để cắt rời mảnh sinh thiết khỏi tổ chức xương xung quanh.
- Xoay kim tại chỗ theo một chiều 2-3 vòng.
- Từ từ rút kim, khi thân kim qua khỏi màng xương, nghiêng kim, nhẹ nhàng rút kim khỏi mặt da.
- Cầm máu, dán băng.
- Thả mảnh sinh thiết vào dung dịch cố định.

## VI. THEO DÕI

Theo dõi trong vòng 15 phút không thấy máu thấm ra băng thì cho người bệnh về.

## VII. XỬ TRÍ TAI BIẾN

- Biến chứng chảy máu vị trí sinh thiết.
- Biến chứng nhiễm trùng vị trí sinh thiết.
- Chảy máu.
  - + Giảm nguy cơ chảy máu: hạn chế chỉ định sinh thiết tuỷ xương khi người bệnh có rối loạn đông cầm máu. Dùng thuốc có khả năng làm tăng nguy cơ chảy máu trước khi tiến hành thủ thuật 1 tuần.
  - + Băng ép cầm máu tại chỗ.
  - + Dùng thuốc cầm máu (nếu cần).
- Nhiễm trùng: dùng thuốc kháng sinh phổ rộng 5-7 ngày.

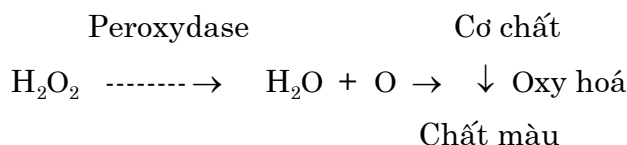




## NHUỘM PEROXYDASE

### I. NGUYÊN LÝ

Nhuộm peroxydase là phương pháp hóa học tế bào giúp đánh giá mức độ biệt hóa của các tế bào trong phân loại bệnh lơ xê mi cấp, đồng thời giúp phân biệt một số bệnh lý huyết học khác lơ xê mi cấp. Dưới tác dụng của peroxydase, hydrogen peroxid ( $H_2O_2$ ) sẽ giải phóng ra một oxy nguyên tử, oxy hoá cơ chất (benzidin) tạo chất tủa màu tương ứng trong bào tương bạch cầu.



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hoá chất

- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản.
- Kính hiển vi quang học.
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 01 chiếc
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 02 chiếc
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc
- Cồn tuyệt đối: 90ml
- Formandehyt 40%: 10ml
- Nước cất: 4ml
- Giemsa mẹ: 1ml
- Dầu soi kính hiển vi.
- Benzidin 0,1%: 1ml
- \* Cách pha benzidin 0,1%:
  - Benzidin: 100mg

- Cồn tuyệt đối: 10ml
- Nước cất vừa đủ: 100ml
- Oxy già (30 thể tích): vài giọt

Sau đó lắc đều, bảo quản ở nhiệt độ phòng xét nghiệm. Lắc đều trước khi sử dụng.

### 3. Người bệnh

- Tiêu bản máu hoặc tủy xương theo chỉ định; đã ghi thông tin (tên, tuổi...), ký hiệu (Pe), đã khô.
- Số lượng: 01 lam/1 người bệnh.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Pha dung dịch cồn formol 10%.
- Cố định tiêu bản bằng cách ngâm trong cồn formol 10%: 10 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy 30 giây → để khô tự nhiên.
- Nhuộm benzinidin 0,1% : 5-10 phút (tùy trường hợp).
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh: 1 phút → để khô tự nhiên.
- Nhuộm Giemsa 1/5: 10 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh: 30 giây → để khô tự nhiên.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Phương pháp nhuộm này cho các hạt dương tính màu vàng xỉn (gỉ sắt) trong bào tương tế bào. Tính số lượng tế bào dương tính trong tổng số 100 tế bào cần xem xét. Đối với lơ xê mi cấp thì đó là 100 tế bào Blast. Người ta chỉ quan sát để có nhận xét chung về mức độ dương tính chứ không cần thiết tính score trong phương pháp nhuộm peroxidase.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Cố định tiêu bản chưa đạt hiệu quả.
- Tiêu bản chưa khô hẳn trước khi nhuộm các thì khác
- Nồng độ của benzinidin không đạt.
- Thời gian để phản ứng chưa phù hợp.
- Dung dịch nhuộm nền (Giemsa) chưa đạt tiêu chuẩn.

## NHUỘM SOUDAN ĐEN

### I. NGUYÊN LÝ

Nhuộm soudan là phương pháp nhuộm hạt mỡ trong các tế bào dòng hạt, nhất là trong lúc thiếu oxy, phản ứng soudan black để phân biệt những bạch cầu chưa biệt hoá thuộc dòng hạt, từ đó giúp chẩn đoán các bệnh bạch cầu cấp dòng tủy và phân biệt các bệnh lý huyết học khác dòng.

Chất màu soudan black có thuộc tính hoà tan trong lipid, người ta lợi dụng đặc điểm này để phát hiện thành phần lipid có trong tế bào.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản
- Kính hiển vi quang học
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 02 chiếc
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 02 chiếc
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc
- Cồn 70°: bình bóp >100ml
- Formandehyt 40%: 10ml
- Nước cất: 4ml
- Giemsa mẹ: 1ml
- Dầu soi kính hiển vi.
- Dung dịch soudan black: 100ml (để trong bể nhuộm - bịt kín)

Cách pha dung dịch Soudan black:

(A) Soudan black B: 0,1g

Cồn tuyệt đối: 30ml

(B) Dung dịch phenol:

Dung dịch phenol: 2,96ml

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ : 0,06g

Cồn tuyệt đối: 6ml

Nước cất: 20ml

⇒ Trộn (A) & (B) ta được dung dịch soudan black (chú ý rất sốc mùi).

### 3. Người bệnh

- Tiêu bản máu hoặc tủy xương theo chỉ định; đã ghi thông tin (tên, tuổi...), ký hiệu (Sou), đã khô.
- Số lượng: 01 lam/1 người bệnh.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Nhỏ 01 giọt ( $\approx 30\mu\text{l}$ ) vào bề nhuộm 100ml khô sạch.
- Cố định tiêu bản bằng hơi focmol trong bể nhuộm: 10 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ và nhanh (10 giây) → để khô tự nhiên.
- Nhuộm soudan (ngâm trong bể soudan): 30 phút.
- Tráng cồn 70°: 10 giây.
- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ: 30 giây → để khô tự nhiên.
- Nhuộm Giemsa 1/5: 10 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh 1 phút → để khô tự nhiên.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Các tế bào dương tính chứa các hạt, cục màu đen trong bào tương và thường chồm lên nhân, có khi che kín cả tế bào. Tính số lượng tế bào dương tính trong tổng số 100 tế bào cần xem xét. Đối với lơ xê mi cấp thì đó là 100 tế bào Blast.

Cũng giống như phương pháp nhuộm peroxydase, người ta chỉ quan sát để có nhận xét chung về mức độ dương tính chứ không cần thiết tính score trong phương pháp nhuộm soudan black.

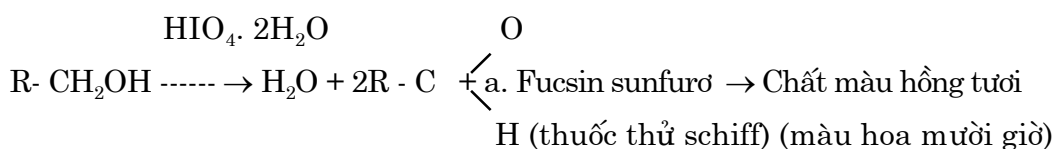
## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Cố định không tốt.
- Tiêu bản chưa khô hẳn trước khi nhuộm các thì khác.
- Thời gian ngâm tiêu bản trong dung dịch soudan quá dài hoặc quá ngắn.
- Dung dịch soudan black đã nhạt (do để lâu ngày).

## NHUỘM P.A.S

### I. NGUYÊN LÝ

Dưới tác động của periodic ( $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), nhóm chức rượu của glycogen được chuyển thành aldehyt ( $\text{R}-\text{CHO}$ ), sẽ tác dụng với thuốc thử schiff, cho hợp chất màu hồng tươi trong bào tương tế bào.



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản
- Kính hiển vi quang học
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 01 chiếc
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 02 chiếc
- Ống nghiệm tan huyết khô sạch
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc
- Dầu soi kính hiển vi.
- Cồn tuyệt đối: 90ml
- Formandehyt 40%: 10ml
- Dung dịch periodic 1%: 1ml
- Schiff (để trong tủ sinh phẩm  $2^\circ\text{--}8^\circ\text{C}$ ): 4ml (lấy ra trước khi làm).
- Dung dịch hematoxylin: 1ml

*Ghi chú:* Ngày nay có dung dịch thành phẩm schiff reagent và hematoxylin.

### 3. Người bệnh

- Tiêu bản tủy xương theo chỉ định; đã ghi thông tin (tên, tuổi...), ký hiệu (PAS), đã khô.
- Số lượng: 01 lam/1 người bệnh.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Ngâm tiêu bản trong cồn formol 10%: 10 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh: 30 giây → để khô tự nhiên.
- Nhuộm periodic 1%: 10-15 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh: 30 giây → để khô tự nhiên.
- Nhuộm Schiff (phủ lên tiêu bản): 10-20 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh: 30 giây → để khô tự nhiên.
- Nhuộm hematoxylin (phủ lên tiêu bản): 20 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy mạnh: 30 giây → để khô tự nhiên.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Các tế bào dương tính có các hạt, cục màu đỏ tươi (màu hoa mười giờ) trong bào tương. Các tế bào dương tính lan toả (bào tương có màu đỏ tươi mịn, không có hạt) không có giá trị.

Cũng giống như phương pháp nhuộm peroxidase và soudan black, người ta chỉ quan sát để có nhận xét chung về mức độ dương tính chứ không cần thiết tính score trong phương pháp nhuộm soudan black.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Cố định không tốt.
- Tiêu bản chưa khô hẳn trước khi nhuộm các thì khác
- Thời gian phản ứng với periodic quá dài hoặc quá ngắn.
- Thời gian phản ứng với schiff quá dài hoặc quá ngắn.
- Dung dịch schiff hoặc hematoxylin đã nhạt (do để lâu ngày).

## NHUỘM ESTERASE KHÔNG ĐẶC HIỆU

### I. NGUYÊN LÝ

Trong điều kiện pH và nhiệt độ thích hợp, naphthol tự do được giải phóng từ cơ chất (ví dụ  $\alpha$  Naphthol ASD acetate) dưới tác dụng của men esterase của bạch cầu hạt và mono sẽ kết hợp với muối diazo (tan, không màu) để tạo thành một chất tủa và có màu (azo).

Diazo

Cơ chất  $\rightarrow$  Naphthol tự do  $\rightarrow$   $\downarrow$  Oxy hoá (men esterase)

Azo (màu, tủa)

Tuy nhiên, có sự khác nhau giữa hoạt tính men esterase trong bạch cầu mono và bạch cầu hạt khi thêm NaF vào dung dịch nhuộm: men esterase trong bạch cầu mono bị mất hoạt tính (ức chế) gần như hoàn toàn, ngược lại, hoạt tính men esterase trong bạch cầu hạt hầu như không thay đổi. Chính vì đặc điểm này mà người ta sử dụng hai phương pháp nhuộm esterase không đặc hiệu là ức chế và không ức chế để phân định dòng hạt và mono.

*Chú ý:* Tiêu bản phải được cố định ngay, càng sớm càng tốt kể từ khi lấy bệnh phẩm ra khỏi cơ thể.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản
- Kính hiển vi quang học
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 01 chiếc
- Bainmarie hoặc bình nước cách thủy 37°C
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 05 chiếc
- Ống đong 5ml: 02 chiếc
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính:



- Formandehyt 40%
- Đệm Tris pH=8
- Naphtol acetate 0,3%
- Dimethyl phomamid
- Muối Fast blue RR salr
- Dầu soi kính hiển vi.

***Pha dung dịch Tris pH=8:***

- Tris: 2,43g
- Nước cất: 25ml
- Acid HCl 1N:18,5ml
- Nước cất vừa đủ 100ml

***Pha dung dịch  $\alpha$  Naphtol - AS acetate:***

- $\alpha$  Naphtol - AS acetate:10 mg
- Dimethyl formamide: 0,3ml

***Cách pha dung dịch Nuclear fas red:***

- Nuclear fas red (C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>NNaO<sub>7</sub>S): 200mg
- Al<sub>2</sub>NH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>: 5g
- Nước cất (H<sub>2</sub>O): 100ml

Cho 100ml nước cất vào cốc → cho Al<sub>2</sub>NH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> vào đun sôi cho tan hết, cho tiếp Nuclear fas red vào để sôi 1 phút bắc ra để nguội và cho thêm vài hạt thymol vào để bảo quản ở nhiệt độ phòng, khi dùng phải lọc để trong tủ ẩm.

### **3. Người bệnh**

- Tiêu bản máu hoặc tủy xương theo chỉ định; đã ghi thông tin (tên, tuổi...), ký hiệu, đã khô.
- Số lượng: 02 lam/1 người bệnh gồm: 01 lam ký hiệu (Es), 01 lam ký hiệu (Es-NaF).

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Nhỏ 01 giọt ( $\approx$  30 $\mu$ l) vào bể nhuộm 100ml khô sạch.
- Cố định tiêu bản bằng hơi formol trong bể nhuộm: 10 phút.

- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ và nhanh (10 giây) → để khô tự nhiên.
- Pha dung dịch nhuộm.
  - + Hút 4,95ml đệm Tris vào ống 1.
  - + Hút 100 $\mu$ l => lắc cho tan thành dung dịch.
  - + Cho một lượng rất ít muối Fast blue RR salt để cho dung dịch ủ có màu vàng chanh.
  - + Chia 1/2 số dung dịch nhuộm vào ống 2 và cho thêm  $\approx 30$ mg NaF → lắc cho tan hết.
- Phủ dung dịch nhuộm:
  - + Ống 1 vào lam ký hiệu Es.
  - + Ống 2 (có NaF) vào lam ký hiệu Es - NaF.
- Ủ tiêu bản trong Bainmarie 37°: 60 phút
- Rửa nước chảy mạnh 30 giây → để khô tự nhiên.
- Nhuộm dung dịch nuclear fast red: 15 phút.
- Rửa nước chảy mạnh 30 giây → để khô tự nhiên, đọc kết quả.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Các tế bào dương tính có hạt màu xanh thẫm trong bào tương bắt màu hồng.

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Cố định không tốt.
- Tiêu bản chưa khô hẳn trước khi nhuộm các thì khác
- Thời gian ngâm tiêu bản trong dung dịch nhuộm quá ngắn.
- Dung dịch nuclear fast red đã nhạt.

## NHUỘM HỒNG CẦU SẮT

### I. NGUYÊN LÝ

Trong môi trường acid, ion sắt của ferritin ( $\text{Fe}^{+++}$ ) sẽ tác dụng với ferrocyanid tạo ra ferric ferrocyanid có màu xanh phổ (xanh coban đậm).

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản.
- Kính hiển vi quang học
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 01 chiếc
- Bainmarie hoặc bình cách thủy  $37^{\circ}\text{C}$ .
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 02 chiếc
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc
- Cồn tuyệt đối etylic
- Dung dịch ferocyanua kali 2%: 4,95ml

Lưu ý: Dung dịch ferocyanua kali 2% trước khi làm phải được để trong bình cách thủy  $37^{\circ}\text{C}$ .

- Acid HCl 1N: 0,5ml
- Nước cất 2 lần: 5ml

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Tiêu bản máu, tuỷ cố định bằng cồn etylic: 10 phút
- Rửa tiêu bản → để khô.
- Nhuộm dung dịch nhuộm ủ trong bình cách thủy  $37^{\circ}\text{C}$ : 60 phút

- Rửa tiêu bản, nước chảy càng mạnh càng tốt → tráng lại bằng nước cất → để khô tự nhiên.
- Nhuộm nhân bằng dung dịch nuclear fast red: 15 phút.
- Rửa tiêu bản thật sạch, tráng lại nước cất, để khô và đọc kết quả.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Tiêu bản đẹp khi xem trên kính thấy nhân có màu hồng đỏ, nguyên sinh chất màu hồng nhạt hơn. Các tế bào dương tính trên nguyên sinh chất có hạt hoặc cục màu xanh phổ Berlin.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Cố định không tốt.
- Tiêu bản chưa khô hẳn trước khi nhuộm các thì khác.
- Thời gian ngâm tiêu bản trong dung dịch nhuộm quá ngắn.
- Dung dịch nuclear fast red đã nhạt.
- Dung dịch ferocyanua kali không đúng nồng độ.

## **CHẨN ĐOÁN TẾ BÀO HỌC HẠCH, LÁCH** (Kỹ thuật làm và nhuộm tiêu bản Giemsa)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Là là kỹ thuật làm tiêu bản và phương pháp nhuộm để phát hiện các bất thường của tổ chức hạch, lách giúp chẩn đoán các bệnh lý liên quan.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### **2. Phương tiện - hóa chất**

- Kính hiển vi quang học
- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản
- Bơm tiêm 10 ml: 1 chiếc /1 trường hợp.
- Kim tiêm G20: 1 chiếc /1 trường hợp.
- Lam kính khô sạch: 05 cái / 1 chiếc /1 trường hợp.
- Bộ bể nhuộm 20ml: 02 bộ
- Gạc thấm nước.
- Cồn tuyệt đối: 100ml
- Nước cất 2 lần: 100ml
- Giemsa mẹ: 1ml/1 tiêu bản.
- Giemsa 1/5: 1ml/1 tiêu bản.
- Dầu soi

#### **3. Người bệnh**

Là các tiêu bản chọc hút tế bào hạch, lách của người bệnh đã làm và để khô.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Nhận bơm tiêm có bệnh phẩm từ nhân viên làm thủ thuật → bơm mỗi lam kính 01 giọt ( $\approx 10\mu\text{l}$ ) → làm thành tiêu bản giọt đặc hoặc tiêu bản giọt dàn.
- Làm khô tiêu bản → ghi ký hiệu, tên tiêu bản → Cố định bằng cồn tuyệt đối.
- Nhuộm thì 1 bằng Giemsa mẹ: 7-10 giây.

- Rửa nước (nhúng trong bể nước sạch hoặc nước cất 2 lần): 10 giây.
- Nhuộm thì 2 bằng Giemsa 1/5: 7-10 phút.
- Rửa nước (nhúng trong bể nước sạch hoặc nước cất 2 lần): 15 giây.
- Cài tiêu bản lên giá → sấy khô → đọc kết quả.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

– Trên tiêu bản đẹp thấy được hình ảnh đầy đủ nhân, nguyên sinh chất, tính chất, đặc điểm của tế bào và các dấu hiệu bất thường (nếu có).

– Nhân viên có kiến thức về tế bào - tổ chức học nhận định hình thái cũng như kết luận xét nghiệm này.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Cố định tiêu bản chưa tốt.
- Nồng độ Giemsa, thời gian nhuộm chưa phù hợp.
- Tiêu bản quá dày, không phù hợp với quy trình.

## NHUỘM HE TIÊU BẢN SINH THIẾT MÔ MỀM (Tổ chức hạch, lách)

### I. NGUYÊN LÝ

Nhuộm HE (Hematoxylin Erythrosin) là phương pháp nhuộm hóa học mô tế bào làm xuất hiện những đặc điểm trên tế bào của tổ chức; Từ đó đánh giá được đặc điểm hình thái tế bào, tính chất phát triển của tổ chức và phát hiện các dấu hiệu bất thường của tổ chức nhằm hỗ trợ chẩn đoán các bệnh lý liên quan đến mô và tổ chức.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Máy cắt tiêu bản
- Bàn sấy 37°C
- Kính hiển vi quang học
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 06 chiếc
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 200ml: 06 chiếc
- Giá cài tiêu bản vừa bể nhuộm 200ml: 01 chiếc
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 04 chiếc
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc
- Lamen 22 x 24 hoặc 22 x 22
- Toluene 1,2,3: để sẵn trong 3 bể nhuộm 100ml
- Cồn tuyệt đối etylic 1,2,3: để sẵn trong bể nhuộm 100ml.
- Cồn 80°: pha sẵn và để trong bể 100ml.
- Dung dịch hematoxylin (thành phẩm): để sẵn trong bể 200ml.
- Dung dịch erythrosin: để sẵn trong bể nhuộm 200ml.
- Acid HCl %: để trong bể nhuộm 200ml.
- Boom Canada: lấy ra cốc nhỏ, để trong tủ 60°C.

\* Pha hóa chất:

- Dung dịch erythrosin:

Erythrosin B ( $C_{20}H_{14}Na_2O_5$ ): 0,1g

H<sub>2</sub>O cất: 100ml

Khuấy đều ta được dung dịch erythrosin B ( $C_{20}H_{14}Na_2O_5$ ) nồng độ 1‰.

- Dung dịch hematoxylin: là hóa chất thành phẩm có trên thị trường.

### 3. Bệnh phẩm

Là các tiêu bản mảnh sinh thiết đã cắt sẵn, đảm bảo khô: sau khi mảnh sinh thiết được đúc thành khuôn, tiến hành cắt dán trên lam kính và để khô trong tủ ẩm 37°C trong 03 giờ.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Tẩy paraffin bằng cách chuyển mẫu qua Toluen I, II, III → cồn 80°, cồn tuyệt đối I, II: mỗi loại 5 phút.
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút
- Nhuộm trong hematoxylin: 2-5 phút
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút
- Tẩy qua acid HCl 1%: 4-8 giây (nếu cần)
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút
- Nhuộm trong erythrosin: 30-60 giây
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút
- Rửa nước bằng cồn tuyệt đối → ngâm tiêu bản trong Toluen
- Gắn lamén, để khô và nhận định kết quả.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trên tiêu bản đẹp: thấy rõ các tế bào có đủ nhân, nguyên sinh chất và các hạt của các dòng tế bào. Bên cạnh đó thấy được hình thái và tính chất của tổ chức như lớp vỏ, lớp tủy và các đặc điểm của mỗi phần.

Việc nhận xét hình thái tế bào và tổ chức học đòi hỏi nhân viên kỹ thuật phải có kiến thức về tế bào-tổ chức học và giải phẫu bệnh. Vì vậy nhân viên làm kỹ thuật quan tâm nhiều đến việc sau khi nhuộm thì các tế bào và cấu trúc tổ chức có bắt màu tốt hay không cũng như các đặc điểm.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhuộm các thì hóa chất không phù hợp.
- Hóa chất đã bị thay đổi nồng độ.



## NHUỘM HE TIÊU BẢN SINH THIẾT TỦY XƯƠNG

### I. NGUYÊN LÝ

Nhuộm HE (Hemalun dermaye Erythrosin) mảnh sinh thiết tủy xương là phương pháp nhuộm hóa học tế bào làm xuất hiện những đặc điểm trên tế bào trong cấu trúc tủy xương; Từ đó đánh giá được đặc điểm hình thái tế bào, tính chất phát triển của tổ chức và phát hiện các dấu hiệu bất thường của tổ chức tủy xương, đánh giá tình trạng sinh máu và các bệnh lý nhằm hỗ trợ chẩn đoán các bệnh lý liên quan đến cơ quan tạo máu.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

#### 2. Phương tiện - hóa chất

- Máy cắt tiêu bản.
- Bàn sấy 37°C.
- Kính hiển vi quang học.
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 06 chiếc
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 200ml: 06 chiếc
- Giá cài tiêu bản vừa bể nhuộm 200ml: 01 chiếc
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc
- Pipet pasture: 04 chiếc
- Gạc thấm nước: 03 chiếc
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc
- Lamen 22 x 24 hoặc 22 x 22
- Toluen 1,2,3: để sẵn trong 3 bể nhuộm 100ml.
- Cồn tuyệt đối etylic 1,2,3: để sẵn trong bể nhuộm 100ml.
- Cồn 80°: pha sẵn và để trong bể 100ml.
- Dung dịch hemalun demayer: để sẵn trong bể 200ml.
- Dung dịch erythrosin: để sẵn trong bể nhuộm 200ml.
- Dung dịch lugol.

- Dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  5%.
- Dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1%.
- Acid HCl %: để trong bể nhuộm 200ml.
- Boom Canada: lấy ra cốc nhỏ, để trong tủ  $60^\circ\text{C}$ .

\* Pha hóa chất:

- Dung dịch erythrosin:

Erythrosin B ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{Na}_2\text{O}_5$ ): 0,1g

$\text{H}_2\text{O}$  cất: 100ml

Khuấy đều ta được dung dịch erythrosin B ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{Na}_2\text{O}_5$ ) nồng độ 1‰.

- Dung dịch hemalun demayer.

+ Công thức:

Alunde K ( $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ): 5g

Hematin ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ): 300mg

Axit acetic ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ): 5ml

$\text{H}_2\text{O}$  cất: 250ml

+ Cách pha:

Đun sôi nước cho Alunde K. ( $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) vào đun tiếp khoảng 1→2 phút cho tan hết, sau đó cho tiếp Hematin ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ), đun thêm 1 phút và tắt bếp bắc ra để nguội → cho tiếp acid acetic ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) vào ta được dung dịch hemalun demayer.

- Dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  5%:

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ : 5g

$\text{H}_2\text{O}$  cất: 100ml

Lắc đều cho tan hết  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sẽ được dung dịch  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  5%:

- Dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1%:

$\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 1g

$\text{H}_2\text{O}$  cất: 100ml

Trộn dung môi và chất tan lẫn nhau, sau đó lắc đều cho tan hết  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ta được dung dịch cần pha.

- Dung dịch lugol:

+ Công thức:

KI: 2g

Iốt tinh thể: 1g

H<sub>2</sub>O cất: 100ml

+ Cách pha:

Cho KI hòa tan trong nước trước sau đó cho tiếp iốt tinh thể vào, khuấy đều cho đến khi tan hết ta được dung dịch lugol.

### 3. Bệnh phẩm

Là các tiêu bản mảnh sinh thiết đã cắt sẵn, đảm bảo khô: sau khi mảnh sinh thiết được đúc thành khuôn, tiến hành cắt dán trên lam kính và để khô trong tủ ẩm 37°C trong 03 giờ.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Chuyển xylen 1,2,3, cồn 1,2 và cồn 80° mỗi loại 5 phút.
- Rửa nước chảy 10 phút và rửa sạch paraffin.
- Nhuộm lugol: 10 phút
- Rửa nước chảy: 10 phút
- Nhuộm Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: 5 phút
- Rửa nước chảy: 10 phút
- Nhúng vào hemlundemaye: 4 phút
- Rửa nước chảy: 10 phút
- Tẩy cồn HCl 1%: 8 giây
- Rửa nước chảy: 10 phút (nước có sẵn trong cống).
- Làm xanh tiêu bản bằng Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 1 phút
- Rửa nước chảy: 10 phút
- Nhúng nền bằng erythrosin: 2-4 giây
- Rửa nước chảy: 5 phút
- Gắn lamén: rửa sạch tiêu bản, tráng lại bằng nước cất, tẩy nước bằng cồn tuyệt đối, nhúng qua xylen 1,2,3 (đã để trong tủ ẩm) và gắn lamén.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trên tiêu bản đẹp: thấy rõ các tế bào có đủ nhân, nguyên sinh chất và các hạt của các dòng tế bào. Bên cạnh đó thấy được hình thái và tính chất của tổ chức như các khoang sinh máu, các bề xương và các đặc điểm của mỗi phần.

Việc nhận xét hình thái tế bào và tổ chức học đòi hỏi nhân viên phải có kiến thức về tế bào - tổ chức học kiến thức chuyên ngành Huyết học và Giải phẫu bệnh. Vì vậy nhân viên làm kỹ thuật quan tâm nhiều đến việc sau khi nhuộm thì các tế bào và cấu trúc tổ chức có bắt màu tốt hay không cũng như các đặc điểm nếu có.

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Xử lý mảnh sinh thiết không tốt.
- Tiêu bản chưa khô hẳn trước khi nhuộm.
- Thời gian nhuộm các thì hóa chất không phù hợp.
- Hóa chất đã bị thay đổi nồng độ.
- Kỹ năng chuyên môn của người làm chưa ổn định.