

QUY TRÌNH KỸ THUẬT LẤY MÁU XÉT NGHIỆM, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN BỆNH PHẨM

I. Chuẩn bị :

1. Bệnh nhân:

- Nhịn đói trước 12 giờ, nên lấy lúc sáng sớm
- Không dùng chất kích thích, không vận động nặng
- Tránh tối đa việc dùng thuốc nếu có thể
- Nếu BN cần theo dõi một hay nhiều loại XN trong nhiều ngày nên lấy máu vào cùng một giờ với những lần trước.

2. Dụng cụ:

- Chọn dụng cụ thích hợp cho từng loại lấy máu
- Các dụng cụ lấy máu phải theo đúng tiêu chuẩn. Dụng cụ hiện nay đa số là nhựa tổng hợp và sử dụng 1 lần, ống chứa máu có nút kín đúng tiêu chuẩn.

II. Tiến hành:

1. LẤY MÁU:

1.1. Vị trí lấy máu:

* Lấy máu tĩnh mạch:

- Thường lấy ở tĩnh mạch nếp khuỷu, mu bàn tay hay mu bàn chân.
- Đặt dây garô không quá chặt hay quá lỏng
- Chọc kim xong mở garô ngay
- Thời gian từ lúc đặt garô tới lúc chọc kim không quá 02 phút
- Tránh co cơ hoặc xoa bóp khi đang lấy máu
- Có thể dùng bơm tiêm nhưng tốt hơn là dùng ống chân không hay kim lấy trực tiếp vào trong ống đựng máu.

* Lấy máu mao mạch:

- Thường áp dụng cho trẻ em và một số XN làm nhanh
- Vị trí lấy máu thường là: dái tai, đầu ngón tay, gan bàn chân

* *Lấy máu động mạch:*

- Thường dùng để đo khí máu, pH
- Cần kỹ thuật viên kinh nghiệm, kỹ thuật tốt chống đau, làm yên tâm BN.
- Tiêu chuẩn hoá vị trí lấy máu: động mạch quay hoặc đùi

1.2. Số lượng mẫu cần lấy:

- + Xét nghiệm huyết học : 02ml
- + Xét nghiệm huyết học + tốc độ máu lắng: 3,6ml
- + XN sinh hoá máu (tuỳ theo chỉ định về số mẫu phân tích): Từ 02 - 03ml
- + XN HBsAg, HCV, HIV, ASLO, CRP, RF, HP, AFP, Troponin: 02ml
- + Xét nghiệm định nhóm máu: 01 ml
- + Phản ứng chéo: 02ml

1.3 Vận chuyển:

Không vận chuyển máu toàn phần, muốn vận chuyển phải ly tâm tách huyết thanh. Nếu thời gian vận chuyển từ 1- 4 giờ sau khi ly tâm thì vận chuyển trong thùng giữ lạnh, tránh ánh sáng và lay động mạnh. Nếu lâu hơn 04 giờ thì nên đông lạnh (trong nơơ lỏng).

1.4. Bảo quản:

- Nhiệt độ: Có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng, tủ lạnh hoặc đông lạnh.
- Thời gian: Thời gian bảo quản thường đi kèm với điều kiện nhiệt độ. Yêu cầu thời gian bảo quản càng dài thì nhiệt độ phải càng thấp.
- Chất bảo quản thích hợp cho từng loại bệnh phẩm và thời gian bảo quản.
- Làm nóng lại bệnh phẩm tới nhiệt độ làm phản ứng
- Tránh bay hơi hay làm loãng bệnh phẩm.

2. LẤY NƯỚC TIỂU:

1. Nước tiểu bắt chọt : Thường lấy lúc sáng sớm dùng cho các xét nghiệm định tính

2. Nước tiểu 24 giờ: Đến giờ quy định, BN tiểu thật hết và vớt bỏ phần nước tiểu này. Từ đó trở đi BN đi tiểu vào một bình chứa sạch và khô (lấy đầy đủ không bỏ sót kể cả lúc đi ngoài). Ngày hôm sau đến giờ quy định đái thật hết vào bình và gửi đến phòng XN. Những XN định lượng phải làm trên nước tiểu 24 giờ.

3. Bảo quản: Lấy mẫu nước tiểu tốt nhất vào buổi sáng nên XN ngay trong vòng 2 giờ đầu. Không để quá 18 giờ.

3.. LẤY PHÂN:

Cho BN đi ngoài vào bô sạch, không có thuốc sát khuẩn. Dùng que lấy bệnh phẩm khoảng 01 gam vào một cái lọ bằng thủy tinh đường kính khoảng 2cm.

Bệnh phẩm lấy xong cần được XN càng sớm càng tốt.

4. LẤY CÁC LOẠI DỊCH:

Các loại dịch được bác sỹ chuyên khoa hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên nghiệp lấy. Được hứng vào ống nghiệm sạch.

Bảo quản các loại dịch tùy thuộc thời gian (dịch âm đạo đem soi tươi)

- Dưới 01 giờ: Nhiệt độ phòng
- Trên 3 giờ: Ly tâm loại tế bào, đông lạnh -70°C

5. LẤY ĐỜM:

- Áp dụng đối với người lớn. Lấy lúc sáng sớm mới ngủ dậy, khi BN chưa ăn uống, vỗ nhẹ ngực và lưng trước khi lấy. BN súc miệng rồi khạc đờm vào lọ rộng miệng có nắp kín, bệnh phẩm không được lẫn nước bọt.

A. CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH

ĐỊNH LƯỢNG ACID URIC

I. NGUYÊN LÝ

Acid Uric là sản phẩm chuyển hóa cuối cùng của base có nitơ nhân purin

Acid Uric máu được định lượng theo phương pháp enzyme so màu

$\text{Uric Acid} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{Allatoxin} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$

$\text{Peroxidase} + 2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}^{++} + \text{TOOSa} + 4\text{-aminophenazone} \rightarrow \text{hợp chất màu đỏ} + 4\text{H}_2\text{O}$

Sản phẩm màu được đo ở bước sóng 546nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, TOOS ...

R 2: Uricase, POD, 4-AAP...

Bảo quản ở 2-8

0C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý

- Control: 2 mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng,

chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 5 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích.

Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

Nam: 202– 416 $\mu\text{mol/l}$

Nữ: 143 – 399 $\mu\text{mol/l}$

- Acid uric máu tăng trong:

Bệnh Goutte

Suy thận

Nhiễm độc chì, thủy ngân

- Acid uric máu giảm trong:

Bệnh Willson

Con liệt chu kỳ

Xanthin niệu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA	Làm giảm kết quả khoảng 7%.	Không sử dụng loại chất chống đông này

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (11,9 –1487 $\mu\text{mol/L}$)	Sai lệch kết quả.	Rất ít gặp Pha loãng bệnh phẩm.

ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng albumin trong máu của người bệnh theo phương pháp so màu pH= 4.1 Albumin + BCG => Albumin BCG complex (BCG: Bromocresol green) Phức hợp albumin BCG có màu xanh tỷ lệ thuận với nồng độ albumin trong mẫu thử được đo ở bước sóng 570 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh .

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, U 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm albumin, chất chuẩn albumin, chất kiểm tra chất lượng albumin.

3. Người bệnh :

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH.

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA , không sử dụng chất chống đông Fluorid. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 5 tháng ở 2-8°C, 2.5 tháng ở 15 - 25°C. 4 tháng ở - 15 đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm albumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm - Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 34 – 48 g/l.
- lbumin máu tăng trong: Mất nước (nôn nhiều, tiêu chảy nặng).
- Albumin máu giảm trong: Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận). Bệnh không có albumin huyết bẩm sinh. Giảm tổng hợp (viêm gan nặng, xơ gan), kém hấp thu, kém dinh dưỡng, Mất albumin (bong, tổn thương rỉ dịch, bệnh đường ruột mất protein). Ung thư, nhiễm trùng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.
- Huyết thanh đục: Triglyceride.

ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

I. NGUYÊN LÝ:

α amylase là enzyme thủy phân tinh bột, có nguồn gốc từ tụy và tuyến nước bọt. Xét nghiệm amylase thường được chỉ định trong bệnh lý tuyến tụy hoặc tuyến nước bọt... Hoạt độ của enzym α amylase trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym. α -amylase 5 ethylidene-G7PNP + 5 H₂O \rightleftharpoons 2 ethylidene-G5 + 2 G2PNP + 2 ethylideneG4 + 2 G3PNP + ethylidene-G3 + G4PNP
 α -glucosidase 2 G2PNP + 2 G3PNP + G4PNP + 14 H₂O \rightleftharpoons 5 PNP + 14 G
Đậm độ màu sắc của PNP hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ amylase huyết thanh và có thể đo được ở bước sóng 415 nm

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 01 đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, U 640, MODUL R P, Hitachi 902, 912....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm α amylase, chất chuẩn α amylase, chất kiểm tra chất lượng α Amylase.

3. Người bệnh

- Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 7 ngày ở 20°C đến 25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm α mylase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm α mylase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm α mylase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: < 100 U/L

+ mylase máu tăng trong: Bệnh tụy (viêm tụy cấp và mạn), Bệnh đường mật, Bệnh ổ bụng không phải bệnh tụy (loét thủng dạ dày, tắc ruột...), Quai bị, tắc tuyến nước bọt, Tăng mylase ở người bình thường (tăng Macro mylase)

+ mylase giảm khi tụy bị hoại tử lan rộng, ngoài ra nó còn giảm trong một số bệnh lý như: Viêm tụy mạn tính. Viêm tụy mạn tính tiến triển. Xơ hoá ống dẫn tụy tiến triển.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- Huyết thanh đục: Triglyceride

ĐO HOẠT ĐỘ ALT(Alanin transaminase)

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ của enzym ALT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme dựa trên phản ứng:

L.Alanin + α -cetoglutarat ALT

L.Glutamat + Pyruvat

LDH

Pyruvat + NADH +H⁺ L- lactate+ NAD⁺

Hoạt độ ALP được đo bằng sự giảm nồng độ N DH ở bước sóng 340 nm theo thời gian.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODUL R, COB S 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.

- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.

- Bông, cùn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.

- Bàn lấy máu.

- Găng tay

2.2. Hoá chất

- Hoá chất làm xét nghiệm ALP

- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch cho vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA , hoặc ống không chống đông

- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh

- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C.

3. Người bệnh:

Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhìn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm:

Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm ALT trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay

đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay

cồng phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ ALT được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động BM 6010 hoặc TYB40 theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

□ Nam: < 41 U/L.

Nữ: <31 U/L.

2. ALT máu tăng trong

Các bệnh gan: viêm gan cấp (tăng nhiều, gấp 50-150 lần bình thường) và mạn (tăng gấp 5- 6 lần bình thường), xơ gan, ung thư gan.

Các bệnh về tim: suy tim xung huyết, viêm màng ngoài tim, nhồi máu cơ tim

Viêm túi mật.

Nhễm độc rượu cấp.

Tai biến mạch máu não.

Viêm tụy cấp hoại tử.

Hại tử thận, cơ.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

+ Khi thấy kết quả ALT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu máu vỡ hồng cầu có thể thay đổi kết quả.

+ Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ ALT như: thuốc ức chế men chuyển

angiotensin, acetaminophen, thuốc chống co giật, một số loại kháng sinh, thuốc điều trị tâm thần, benzodiazepin, estrogen, sulfat sắt, heparin, interferon, thuốc làm giảm mỡ máu, thuốc chống viêm không phải steroid, salicylat, thuốc lợi tiểu loại thiazid.

ĐO HOẠT ĐỘ AST (Aspatat transaminase)

AST còn được gọi là GOT (Glutamat oxaloacetat transaminase)

I. NGUYÊN LÝ

Đo hoạt độ AST thường được làm cùng với ALT để xác định bệnh lý và theo dõi tiến triển của gan hay tim mạch,. Ngoài ra AST cũng được phối hợp với một số xét nghiệm khác như GGT để theo dõi người bệnh nghiện rượu.

Hoạt độ của enzym AST trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme, theo phản ứng:

L-aspartat + α -ketoglutarat $\xrightarrow{\text{AST}}$

Glutamat + Oxaloacetat

GOT

MDH

Oxaloacetat + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ L-malate + NAD⁺

Hoạt độ ST được đo bằng sự giảm nồng độ NADH theo thời gian ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 bác sĩ và 01 kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODUL R, COB S 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.

- Găng tay

2.2. Hoá chất

+ Hoá chất làm xét nghiệm AST

+ Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

+ Chuẩn của AST.

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA , hoặc ống không chống đông

- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh

- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8 °C.

3. Người bệnh:

Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm:

Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm AST trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ AST được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động BM6010 và TYB40 theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số bình thường:

Nam: < 37 U/L.

Nữ: < 31 U/L .

- AST máu tăng trong các nguyên nhân:

Các bệnh gan (tỉ sốAST/ALT <1): viêm gan do virus cấp, viêm gan do thuốc (rifampicin, INH, salicylat, heparin),Viêm gan nhiễm độc (CCl4, amanitphalloid), tắc mật do các nguyên nhân không phải ung thư, apxe gan.

Các bệnh gan (tỉ sốAST/A LT >1): Xơ gan, Viêm gan do rượu, Xâm nhiễm gan (do di căn ung thư, nhiễm sarcoid, lao, u lympho, luput ban đỏ).

Các bệnh về tim: suy tim mất bù (gan xung huyết), viêm cơ tim, nhồi máu cơ tim , bóp tim ngoài lồng ngực, phẫu thuật tim, sau thông tim (tỉ số AST/ALT>1).

Viêm túi mật.

Nhiễm độc rượu cấp.

Viêm tụy cấp hoại tử.

Viêm đa cơ, viêm da và cơ,

Hội chứng vùi lấp.

- Hoạt độ AST có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:

Bệnh Beriberi.

Nhiễm toan ceton do đái tháo đường.

Lọc máu.

Có thai

Hội chứng ure máu cao.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả AST bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đo cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu máu bị vỡ hồng cầu

+ Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ AST là: cetaminophen, allopurinol, một số loại kháng sinh, acid ascorbic, chlpropamid, cholestyramin, cholinergic, clofibrat, codein, statin, hydralazin, isoniazid, meperidin, methyldopa, morphin, thuốc ngừa thai uống, phenothiazin, procainamid, pyridoxin, salicylat, sulfonamid, verapamil, vitamin A.

+ Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ AST là; metronidazol, trifluoperazin.

ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TRỰC TIẾP (BIL. D)

Bilirubin trực tiếp (Bil D) là bilirubin liên hợp (liên hợp với acid Glucuronic), ít độc, tan được trong nước, nó lên màu trực tiếp với thuốc thử Diazo nên gọi là Bilirubin trực tiếp.

I. NGUYÊN LÝ

BIL.D trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu.

Bilirubin + diazonium ion => Azobilirubin

Trong môi trường nước, Bilirubin trực tiếp tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ Bilirubin trực tiếp có trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 546 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như BM6010, TYB40

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL.D, chất chuẩn BIL.D, chất kiểm tra chất lượng BIL.D.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 2 ngày ở 15-25°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi

phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BIL.D. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BIL.D. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BIL.D đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $< 5.1 \mu\text{mol/l}$
- BIL.D máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm cần điều chỉnh $\pm 10\%$ khi huyết thanh vàng. Huyết thanh đục do tăng lipid máu hay tán huyết đều ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm .

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN (BIL. T)

I. NGUYÊN LÝ

Bilirubin là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin. Xét nghiệm bilirubin thường được chỉ định trong bệnh về gan, máu, tắc mật, vàng da... BIL.T trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu, theo phản ứng:

Acid Bilirubin + diazonium ion => azobilirubin

Trong môi trường acid Bilirubin tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ BIL.T có trong mẫu thử được đo ở bước sóng 546 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như BM6010, TYB40

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL.T, chất chuẩn BIL.T, chất kiểm tra chất lượng BIL.T.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hay EDT . Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng và cần phân tích sớm.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BIL T. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BIL.T.

Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BIL.T đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $<17.1 \mu\text{mol/l}$
- BIL.T máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to. Vàng da tiêu huyết: thiếu máu tan huyết, sốt rét... Vàng da sơ sinh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin $< 70 \text{ mg/dL}$ hay $1197 \mu\text{mol/L}$.
- + Tán huyết: Hemoglobin $< 1000 \text{ mg/dL}$.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride $< 1000 \text{ mg/dL}$.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

ĐỊNH LƯỢNG CALCI TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Calcium là nguyên tố khoáng chiếm tỷ lệ cao nhất trong cơ thể. 90% calcium ở xương. Phần còn lại phân bố ở các mô khác nhau và dịch ngoại bào. Calcium có vai trò quan trọng trong quá trình đông máu, duy trì tính thấm của màng tế bào, dẫn truyền thần kinh cơ ... Calcium máu được định lượng theo phương pháp so màu pH kiềm Ca^{2+} + o-cresolphtalein complexone phức hợp calcium - CPC

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: CAPS, NaOH ...

R 2: o-CPC...

Bảo quản ở 15-25⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh:

Được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm:

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-

heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 3 tuần, ở - 20⁰C được 8 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích.

Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 2.15-2.55 mmol/l

- *Ca máu tăng trong:*

- Cường cận giáp.
- Dùng nhiều Vitamin D.
- Đa u tủy xương.
- Bệnh Addison.
- Ung thư (xương, vú, phế quản...).

- *Ca máu giảm trong:*

- Nhược cận giáp.
- Thiếu Vitamin D.
- Viêm thận, thận hư.
- Viêm tụy
- Còi xương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm chống đông bằng EDTA	Làm giảm kết quả	Không sử dụng mẫu này
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (0,1-5mmol/L)	Sai lệch kết quả. Rất ít gặp	Pha loãng bệnh phẩm

ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Cholesterol toàn phần được tổng hợp ở nhiều mô khác nhau nhưng chủ yếu là ở gan và tế bào thành ruột. Nó được sử dụng để phát hiện nguy cơ vữa xơ động mạch và để chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh có liên quan đến nồng độ cholesterol cũng như các rối loạn chuyển hóa lipid hay lipoprotein

Cholesterol toàn phần trong máu được định lượng theo phương pháp enzym so

Màu Cholesterol ester + H₂O CE cholesterol + RCOOH Cholesterol + O₂ CHOD
cholest-4-en-3-one + H₂O₂ 2H₂O₂ +4-aminophenazone POD hợp chất màu đỏ +
4H₂OCE: Cholesterolesterase CHOD: Cholesterol oxidase POP: Peroxidas

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, 4AAP, cholesterolester, POD, cholesterol oxydase ...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 4 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn

- Control: 2 mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh:

Được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm:

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Không sử dụng citrate, oxalate, fluorid. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích.

Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 3.9 - 5.2 mmol/l

- *Cholesterol máu tăng trong:*

- Vàng da ố mật
- Rối loạn chuyển hoá lipid
- Tiểu đường, tăng huyết áp.
- Viêm thận, hội chứng thận hư
- Nhược giáp

- *Cholesterol máu giảm trong:*

- Cường giáp
- Hội chứng Cushing
- Nhễm trùng cấp
- Thiếu máu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (0,1-20,7 mmol/L)	Sai lệch kết quả.	Pha loãng bệnh phẩm

--	--	--

ĐO HOẠT ĐỘ ISOENZYM CK-MB

I. NGUYÊN LÝ

CK được cấu tạo bởi 2 tiểu đơn vị là B (Brain - não) và M (Cơ - Muscle) tùy theo sự tổ hợp của 2 loại B và M mà tạo nên 3 dạng isozyme của CK là CK-MM, CKMB và CK-BB tức CK não. CK-BB do không qua được hàng rào máu não nên trong huyết thanh nó chỉ ở dạng vết. CK-MB có nhiều ở tim, trong huyết thanh chiếm tỷ lệ <6%. Xét nghiệm CK-MB thường chỉ định trong bệnh tim mạch đặc biệt là nhồi máu cơ tim.

Hoạt độ của enzym CK-MB trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp ức chế miễn dịch và động học enzym. CK-MB bao gồm 2 tiểu phần là CK-M và CK-B. Trường hợp này để xác định hoạt độ

CK-MB, tiểu phần CK-M bị ức chế bằng kháng thể kháng CK-M. Lúc này chỉ xác định hoạt độ của tiểu phần CK-B theo phản ứng như xác định hoạt độ CPK toàn phần. Hoạt độ của CK-MB là hoạt độ của của CK-B được nhân 2.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như BM6010, TYB40,...

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CK-MB, chất chuẩn CK-MB, chất kiểm tra chất lượng CK-MB.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-Heparin hoặc EDT. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm là huyết thanh ổn định 8 giờ ở 2-8°C, 8 ngày ở 15°C đến 25°C, 4 tuần ở -

15°C đến - 25°C . Bệnh phẩm là huyết tương Heparin ổn định 8 giờ ở 2–8°C, 5 ngày ở 15°C đến 25°C, 8 tuần ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CK-MB. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CK-MB. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CK-MB đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 24 U/L
- CK-MB máu tăng trong: Nhồi máu cơ tim cấp. Người ta thường tính tỷ lệ CKMB/CK toàn phần, nếu >6% thì ủng hộ cho chẩn đoán nhồi máu cơ tim.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- + Tán huyết: Hemoglobin < 20 mg/dL
- + Huyết thanh đục: Triglyceride <600 mg/dL .

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

ĐỊNH LƯỢNG hs-CRP

(High sensitive C-reactive protein)

C-reactive protein (CRP) là một protein pha cấp được gan sản xuất ra và phóng thích vào máu sau một vài giờ khi mô bị tổn thương, do bị nhiễm trùng, hoặc nguyên nhân khác gây ra viêm. Xét nghiệm CRP thường chỉ định trong các bệnh như các nhiễm trùng do vi khuẩn, nhồi máu cơ tim, bệnh tự miễn...

I. NGUYÊN LÝ

hs-CRP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng CRP trong thuốc thử kết hợp với CRP trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ CRP có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như BM6010, TYB40, ...

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm hs-CRP, chất chuẩn hs-CRP, chất kiểm tra chất lượng hs-CRP.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na-/K3-EDTA, hay citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định: 11 ngày ở 15–25°C, 2 tháng ở 2–8°C, 3 năm ở (-15)–(-25) °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm hs-CRP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm hs-CRP.

Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm hs-CRP đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 0.5 mg/dl.
- CRP máu tăng trong: Thấp khớp dạng thấp, sốt thấp khớp, Nhồi máu cơ tim, Nhiễm khuẩn, Phế viêm do phế cầu...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 µmol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621 µmol/L.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
 - + Yếu tố dạng thấp < 1200 IU/mL.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CRP tới 1000 mg/L.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

I. NGUYÊN LÝ

Creatinin là sản phẩm của quá trình thoái hóa creatin phosphate và creatin ở cơ.

Creatinin được đào thải chủ yếu qua thận. Creatinin máu được định lượng theo phương pháp Jaffe (đo điểm đầu và cuối). Creatinin + acid pyric alkaline pH phức hợp vàng cam

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: Potassium hydroxide, phosphat ...

R 2: acid pyric.

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý

- Control: 2 mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh:

Được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và

lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm:

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA, heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-250C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 62- 106 $\mu\text{mol/L}$

Nữ: 44 – 88 $\mu\text{mol/L}$

Trẻ em: 15 – 77 $\mu\text{mol/L}$

- *Tăng trong:*

+Suy thận và các bệnh về thận

+Ngộ độc thủy ngân

+Lupus ban đỏ

+Ung thư (ruột, bàng quang, tinh hoàn, tử cung, tiền liệt tuyến)

+Bệnh bạch cầu

+Bệnh tim mạch: tăng huyết áp vô căn, nhồi máu cơ tim ...

- *Giảm trong:* có thai, sản giật ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 171 $\mu\text{mol/L}$	Có thể làm ảnh hưởng đến phép đo	Định lượng creatinin bằng phương pháp khác hoặc pha loãng bệnh phẩm hoặc điều trị tình trạng tăng bilirubin
Bệnh phẩm huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả có thể bị ảnh hưởng	

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Trẻ sơ sinh, người lớn có HbF > 60 mg/dL		
Nồng độ > dải đo (15-2200 $\mu\text{mol/L}$)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Glucose là carbohydrate quan trọng nhất lưu hành trong máu ngoại vi. Quá trình đốt cháy glucose là nguồn chính cung cấp năng lượng cho tế bào. Glucose máu được định lượng theo phương pháp động học có sự tham gia của enzyme hexokinase:



Đo tốc độ tăng mật độ quang của NADPH ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, NADP ...

R 2: HK, G6PDH...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác:

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh

Được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương. Bệnh phẩm phải được ly tâm tách lấy huyết thanh, huyết tương ngay. Bảo quản ở 15-250C trong vòng 8 giờ, ở 2-8⁰C được 72 giờ. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-250C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

+ Người lớn: 3.9 – 6.4 mmol/l

+ Trẻ em: 3.3 – 5.6 mmol/l

+ Trẻ sơ sinh: 2.2 – 4.4 mmol/l

- *Glucose máu tăng trong:*

+ Đái tháo đường

+ Viêm tụy, ung thư tụy.

+ U tụy thượng thận.

+ Cường giáp.

- *Glucose máu giảm trong:*

+ Suy tuyến yên, suy tuyến giáp.

+ Bệnh Insulinoma.

+ Thiếu dinh dưỡng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm để lâu không ly	Làm giảm kết quả. Sau 1 giờ giảm khoảng 7%	Sử dụng chất chống đông NaF để tránh hủy đường

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
tâm và định lượng ngay gây hiện tượng hủy đường		
Lấy máu sau ăn	Làm tăng kết quả	Làm lại mẫu lúc đói
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (0,11- 41,6 mmol/L)	Sai lệch kết quả. Rất ít gặp	Pha loãng bệnh phẩm

ĐO HOẠT ĐỘ GGT

(Gamma glutamyl transpeptidase)

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ GGT cho phép phát hiện các người bệnh nghiện rượu (GGT tăng cùng với thiếu máu hồng cầu to và tăng acid uric), theo dõi tình trạng ứ mật, theo dõi tình trạng cai rượu ở người bệnh nghiện rượu. GGT được chỉ định phối hợp với phosphatase kiềm để xác định tăng phosphatase kiềm trong bệnh xương hay gan.

Hoạt độ của enzym GGT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym. Theo phương trình phản ứng sau:

\square -GT L- \square -glutamyl -3-carboxy-4-nitroanilide + glycylglycine L- \square -glutamylglycylglycine + 5-amino-2-nitrobenzoate

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh BM6010, TYB40,....
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDT hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cùn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2. Hoá chất

- Hoá chất làm xét nghiệm GGT .
- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.
- Chuẩn của GGT

2.3. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C và 1 năm ở nhiệt độ (-15)-(-25)⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm GGT trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ GGT được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động BM6010, TYB40,...theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- Nam: 8 – 61 U/L
- Nữ: 5 – 36 U/L

2. GGT máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau đây

- Bệnh lý gan, mật (viêm gan cấp và mạn, viêm gan nhiễm trùng, viêm gan do rượu, xơ gan, ung thư gan, vàng da ứ mật, thoái hóa mỡ xơ gan...)
- Các thâm nhiễm gan: tăng lipid máu, u lympho, kén sỏi lá gan, lao, bệnh sarcoidose, áp xe, ung thư di căn gan.
- Bệnh lý ứ mật: xơ gan do mật tiên phát, viêm đường mật xơ hóa, sỏi mật, ung thư biểu mô đường mật.
- Các tổn thương tụy tạng: Viêm tụy cấp, viêm tụy mạn, ung thư tụy, u bóng Vater.
- Các tổn thương thận: Hội chứng thận hư, ung thư biểu mô thận.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

* Khi thấy kết quả GGT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

- Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

* Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

- Máu vỡ hồng cầu

- Các chất có thể làm tăng hoạt độ GGT: Rượu, aminoglycosid, barbiturat, thuốc kháng H₂, thuốc chống viêm không phải steroid, phenytoin, thuốc ngừa thai uống, thuốc chống trầm cảm.

- Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ GGT: Clofibrat.

ĐỊNH LƯỢNG HbA1c (Hemoglobin A1c)

I. NGUYÊN LÝ

Hemoglobin (Hb) là protein có cấu trúc bậc bốn hoàn chỉnh của hồng cầu. Hb có chức năng vận chuyển oxy từ phổi tới tổ chức và CO₂ từ tổ chức tới phổi. Nồng độ glucose của hồng cầu cũng tương đương với nồng độ glucose trong huyết tương của máu. Khi nồng độ glucose máu tăng cao hơn mức bình thường trong một khoảng thời gian đủ dài, glucose sẽ kết hợp với hemoglobin gọi là phản ứng glycosyl hoá (hay Glycosylated Haemoglobin). Nhóm aldehyd tự do của phân tử glucose kết hợp với phân tử Hb của hồng cầu thông qua Valin (một amino acid ở phần cuối của chuỗi beta) tạo ra sản phẩm trung gian là Idimin, sau đó Idimin sẽ được chuyển thành Hb 1c theo sự chuyển madori không đảo ngược. Đường đơn trong máu chủ yếu là glucose do vậy thành phần chủ yếu của Hb 1 là Hb 1c (70%). Do vậy Hb 1c có giá trị chuyên biệt hơn Hb 1a1, Hb 1a2, Hb 1b nói riêng và Hb 1 nói chung. Tình trạng gắn kết này sẽ thể hiện trong suốt đời sống của hồng cầu.

Nguyên lý định lượng HbA1c:

Dựa trên nguyên lý sắc ký lỏng áp lực cao (HPLC) . Gôm- Pha tĩnh: là chất rắn

- Pha động là chất lỏng di chuyển dưới tác động của áp suất cao.
- Mẫu phân tích: Được hòa tan trong pha động

Dựa vào ái lực khác nhau giữa các chất cần xác định với pha tĩnh và pha động mà chúng được tách nhau ra nhờ thay đổi độ phân cực của dung môi pha động cùng với cột tách thích hợp việc định lượng được thực hiện nhờ phương pháp ngoại chuẩn (so sánh mẫu với mẫu thêm chuẩn đã biết hàm lượng trong cùng điều kiện phân tích. Đây là phương pháp hữu hiệu trong định lượng các chất hữu cơ có nhiệt phân hủy thấp)

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Một số máy phân tích HbA1c tự động theo nguyên lý HPLC: BM6010 và một số máy khác.

2.2. Hóa chất

- Gồm: dung dịch 2 ; Dung dịch B; dung dịch pha loãng, dung dịch rửa, peek columHbA1c, fit, 2 micron, 5/pk cho GH,

- Vật liệu cho QC: gồm 2 mức: thấp và cao

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm có chất chống đông EDTA

- Găng tay

- Bông, cồn sát trùng, dây garo

- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Không có quy định nghiêm ngặt về thời điểm lấy máu (lúc no, lúc đói đều được).

- Lấy khoảng 2 mL máu toàn phần vào ống có chất chống đông EDTA .

- Bảo quản máu để làm xét nghiệm đơn giản và được lâu (ở nhiệt độ 2- 8°C có thể bảo quản được một tuần).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt, tiến hành phân tích mẫu.

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu máu toàn phần được trộn đều đặt vào Rack đựng bệnh phẩm. dùng mã vạch (barcode) hoặc đánh số (hoặc ID của người bệnh); vận hành theo protocol của máy và máy sẽ tự động phân tích

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị bình thường của Hb 1C là 4- 6 % (tăng khi > 6,5%).

- Tỷ lệ tương đối giữa trị số Hb 1c, nồng độ glucose và Fructosamine máu HbA1c
Glucose máu Fructosamine % (mmol/L) ($\mu\text{mol/L}$)

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Hb 1c có thể “tăng giả”

PreHb 1c; HbF; Hội chứng ure máu cao (cơ chế: do Hb bị carbamyl hóa);...

- Hb 1c có thể “giảm giả”

Các bệnh làm giảm đời sống HC: huyết tán (tan máu); Thiếu máu mạn hoặc cấp;
Xuất huyết tiêu hoá, sau trích máu điều trị; Nhiễm sắc tố sắt; Hemoglobine bất thường (VD: HbH, HbS, HbD, HbE, HbC)...

ĐỊNH LƯỢNG HDL-C

I. NGUYÊN LÝ:

HDL-C (High Density Lipoprotein cholesterol) là thành phần vận chuyển cholesterol từ máu về gan. Nồng độ HDL-C máu có liên quan đến nguy cơ mắc chứng xơ vữa động mạch. Làm tăng nồng độ HDL là góp phần điều trị bệnh lý tim mạch. HDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu PEG-Cholesterol esterase HDL-C esters + H₂O HDL-C + RCOOH PEG- Cholesterol oxidase HDL-C + O₂ Δ4 -cholestenone + H₂O₂ Peroxidase 2 H₂O₂ + 4amino-antipyrine + HSDA + H⁺ + H₂O hợp chất màu xanh tím PEG: polyethylene glycol HSDA: Sodium N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: dextran sulfate, magnesium nitrat hexahydrate, peroxidase ...

R 2: PEG-C esterase, PEG-C oxidase, 4amino-antipyrine, peroxidase ...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, NaCl 9%

- Control: 2 mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh:

Được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

4. Phiếu xét nghiệm:

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương

chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 60⁰C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: $\geq 0,9$ mmol/L
- HDL-C giảm là một trong những yếu tố dự báo nguy cơ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh tim mạch.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA	Có thể làm giảm kết quả	Không sử dụng loại ống này
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ít bị ảnh hưởng	
Nồng độ > dải đo (0,08-3,12 mmol/L)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng protein toàn phần để đánh giá tình trạng dinh dưỡng của người bệnh, phát hiện một số bệnh như đa u tủy xương, rối loạn protein, tình trạng nhiễm trùng, bệnh tự miễn, các bệnh lý gây mất protein.

Protein toàn phần trong máu của người bệnh được định lượng theo phương pháp so màu dựa trên nguyên tắc phản ứng Biure. Trong môi trường kiềm, những phân tử có từ 2 liên kết peptid trở lên sẽ tạo phức chất với ion Cu^{++} . Protein trong huyết thanh tác dụng với ion Cu^{++} trong môi trường kiềm tạo phức chất càng của màu xanh tím. Độ đậm của màu tỷ lệ thuận với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích sinh hóa

- Máy ly tâm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.

- Pipét tự động các loại 1000 μl , 500 μl , 100 μl , 50 μl và 10 μl .

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.

- Bông, cồn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.

- Bàn lấy máu.

- Găng tay

- Hoá chất

- + Hoá chất làm xét nghiệm Protein.T

- + Chuẩn của Protein

- + Huyết thanh kiểm tra

2.3. Bệnh phẩm

+ Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông.

+ Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh.

+ Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 1 tháng ở nhiệt độ 2-8⁰C và 6 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm định lượng protein toàn phần trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Mẫu bệnh phẩm được dán barcode cùng số với tờ phiếu chỉ định xét nghiệm (nơi không có barcode sẽ được đánh số trên ống nghiệm và phiếu chỉ định).

- Mẫu bệnh phẩm được ly tâm, phân phối vào các máy phân tích.

- Phiếu chỉ định được nhập chỉ định bằng hệ thống phần mềm quản lý dữ liệu (nơi không có phần mềm sẽ được quản lý bằng sổ sách).

- Trước khi phân tích, máy phải được thực hiện các bước bảo dưỡng hàng ngày theo quy định của mỗi máy.

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng protein toàn phần được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động BM6010 và TYB40,... theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Duyệt kết quả: người phân tích có trách nhiệm kiểm soát kết quả trên máy phân tích trước khi in qua hệ thống máy tính hoặc điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào

sổ lưu ở nơi không có phần mềm quản lý số liệu

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

4.1. Trị số bình thường: 66 – 87 g/l

4.2. Protein máu toàn phần có thể tăng trong:

- Mất nước (nôn, tả, mất mồ hôi, sốt cao kéo dài).
- Bệnh Đa u tuỷ xương.
- Bệnh Waldstrom.
- Bệnh Sarcoidose.
- Các nhiễm khuẩn mạn tính và các bệnh tự miễn gây tăng gamma globulin máu.

4.3. Protein máu toàn phần có thể giảm trong:

- Hòa loãng máu.
- Giảm khẩu phần protein: Suy dinh dưỡng, nuôi dưỡng bằng dịch truyền tĩnh mạch không có protein.
- Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận).
- Mất protein qua da (bỏng).
- Mất protein qua đường tiêu hóa: Hội chứng giảm hấp thu, cắt ruột non, rò ruột, bệnh lý của ruột gây mất protein.
- Tăng huỷ protein (đái tháo đường, nhiễm độc tuyền giáp, suy kiệt do ung thư)
- Bệnh gan (viêm gan, xơ gan).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả protein toàn phần bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đo cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

+ Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Máu bị hòa loãng hoặc cô đặc sẽ làm thay đổi nồng độ protein toàn phần.

- + Các thuốc có thể làm thay đổi kết quả xét nghiệm là: aspirin, corticosteroid, estrogen, penicillin, phenytoin, procainamid, thuốc ngừa thai uống, progestin.
- + Tiêm vaccin gây miễn dịch trong vòng 6 tháng trước có thể gây tăng nồng độ globulin gây tăng nồng độ protein toàn phần trong máu.

ĐỊNH LƯỢNG URE

I. NGUYÊN LÝ

Ure là sản phẩm của quá trình chuyển hóa $-\text{NH}_2$ từ chu trình ure ở gan. Ure được đào thải chủ yếu qua thận. Nồng độ ure phụ thuộc nhiều vào chế độ ăn Ure máu được định lượng theo phương pháp động học:

Urease $\text{Urea} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{CO}_3^{2-}$
GLDH $\text{NH}_4^+ + 2\text{-}\alpha\text{-cetoglutarat} + \text{NADH}$
L-glutamat + $\text{NAD}^{++} + \text{H}_2\text{O}$

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: NaCl 9% ...

R 2: TRIS buffer, NADH, ADP, urease ...

Bảo quản ở $2-8^{\circ}\text{C}$ đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý

- Control: 2 mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDT, heparin (không dùng ammonium heparin. Bảo quản ở $2-8^{\circ}\text{C}$ trong vòng 7 ngày, ở -20°C được 12 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 1,7- 8,3 mmol/L

- Ure máu tăng:

+ Suy thận và các bệnh về thận

+Sốt, nhiễm trùng

+Các bệnh tim mạch

+Ăn nhiều protid

- Ure máu giảm:

+Suy gan nặng, suy dinh dưỡng ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng Ammonium heparin	Có thể làm tăng kết quả	Không sử dụng loại ống này
Nồng độ > dải đo (0,5-40 mmol/L)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ít bị ảnh hưởng	

ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

I. NGUYÊN LÝ

Mục đích của xét nghiệm: Triglycerid thường được định lượng để giúp đánh giá tình trạng cân bằng giữa trọng lượng lipid đưa vào và chuyển hóa lipid trong cơ thể.

Định lượng Triglycerid trong máu của người bệnh theo phương pháp Enzym so màu theo phương trình phản ứng

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh

2. Phòng tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh tự động.
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDT hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cồn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2 Hoá chất:

- Hoá chất làm xét nghiệm Triglycerid
- Huyết thanh kiểm tra

2.3. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA , hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 5- 7 ngày ở nhiệt độ 2-8 $^{\circ}$ C và 3 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25) $^{\circ}$ C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm định lượng Triglycerid trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng Triglycerid được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 0.46 – 1.88 mmol/l

- Nồng độ Triglycerid máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau:

- Tăng huyết áp
- Đái tháo đường
- Viêm tụy cấp
- Xơ gan do rượu
- Tăng lipoprotein máu có tính chất gia đình.
- Bệnh thận.
- Hội chứng thận hư
- Suy giáp
- Nhồi máu cơ tim
- Bệnh gút.
- Liên quan với chế độ ăn: Tỷ lệ protein thấp, tỷ lệ carbohydrat cao.
- Bệnh lý kho dự trữ glycogen.

- Nồng độ Triglycerid máu có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:

- β -lipoprotein huyết bẩm sinh
- Cường giáp.
- Suy dinh dưỡng.
- Do chế độ ăn: Tỷ lệ mỡ thấp.
- Hội chứng giảm hấp thu.
- Nhồi máu não
- Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả Triglycerid bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông đặc hoặc bất thường gì không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Các chất có thể làm tăng nồng độ triglycerid máu: Rượu, thuốc chẹn beta giao cảm, cholestyramin, corticosteroid, estrogen, thuốc ngừa thai uống, thuốc lợi tiểu thiazid.

+ Các chất có thể làm giảm nồng độ triglycerid máu: acid ascorbic, asparaginase, colestipol, clofibrat, dextronthyroxin, metformin, niacin.

B. CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH HUYẾT HỌC TRUYỀN MÁU

TÌM ẤU TRÙNG GIUN CHỈ (Phương pháp thủ công)

I. NGUYÊN LÝ

- Ấu trùng giun chỉ được truyền từ người này sang người khác qua muỗi đốt và phát triển thành giun chỉ trưởng thành trong hệ bạch huyết, cản trở tuần hoàn bạch huyết, gây phù chân voi.
- Giun chỉ đẻ ra ấu trùng, ấu trùng chui qua ống bạch huyết vào máu.
- Ấu trùng lưu hành trong máu, thường xuất hiện ở máu ngoại vi vào ban đêm (từ 20h đến 4h).

II. CHỈ ĐỊNH

- Những người cần chỉ định làm xét nghiệm bao gồm: có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ nhiễm giun chỉ; những người đã và đang sinh sống ở vùng có giun chỉ lưu hành.
- Lấy máu ngoại vi vào ban đêm; tốt nhất lấy máu vào khoảng thời gian từ 20h đến 2h sáng.
- Có thể lấy máu tìm ấu trùng vào ban ngày khi dùng thuốc kích thích Diethylcarbazine (D.E.C).

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên lấy máu mao mạch trực tiếp cho người bệnh tại phòng xét nghiệm, bệnh phòng hay tại địa phương.

2. Phương tiện - Hóa chất

2.1. Dụng cụ

- Phiếu xét nghiệm;
- Lam kính khô, sạch;
- Giá nhuộm, giá cài tiêu bản;
- Kim chích máu vô khuẩn;

- Bông thấm nước vô khuẩn;
- Khay men (nếu cần);
- Ống đong;
- Pipette nhỏ giọt;
- Đũa thủy tinh;
- Đồng hồ;
- Kính hiển vi.

2.2. Hóa chất

- Cồn sát trùng 70°
- Giemsa mẹ;
- Dung dịch Formalin 2%;
- Nước cất hoặc dung dịch đệm.

3. Người bệnh

- Về mùa lạnh, người bệnh nên nhúng tay vào nước ấm khoảng 5 phút trước khi lấy máu.
- Tốt nhất nên lấy máu vào ban đêm (từ 20h - 2h sáng).
- Nếu lấy máu vào ban ngày: cho người bệnh uống Diethylcarbazine (D.E.C) với liều 2mg/1kg cân nặng (khoảng 0.1g cho 1 người), sau 15- 30 phút lấy máu làm xét nghiệm. Với cách này, mật độ ấu trùng được phát hiện bằng khoảng 20 - 40% so với kỹ thuật lấy máu xét nghiệm ban đêm. Phương pháp này cũng cần cẩn thận khi áp dụng ở những vùng có giun chỉ B.malayi, vì có thể xảy ra phản ứng sốt.

4. Hồ sơ bệnh án

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy máu làm xét nghiệm

- Đánh mã số của người bệnh lên tiêu bản.
- Sát khuẩn đầu ngón tay đeo nhẫn bằng cồn 70°, để khô.
- Dùng kim chích vô khuẩn đâm nhanh vào vị trí sát khuẩn với độ sâu vừa phải.
- Lấy 3 giọt máu cách đều trên lam kính, mỗi giọt khoảng 20mm³
- . Khối lượng máu lấy làm xét nghiệm là 60mm³

- Dùng đĩa thủy tinh đánh tròn các giọt máu sao cho mỗi giọt máu có đường kính 1.5cm, để khô tự nhiên. Tiêu bản nên để khô 24 giờ thì nhuộm, nhưng cũng không nên để lâu quá.

2. Nhuộm tiêu bản

- Pha dung dịch Giemsa với dung dịch đệm hoặc nước cất trung tính (pH = 7), nồng độ 1-5%.

- Phủ kín tiêu bản bằng dung dịch Giemsa trên, nhuộm từ 30 - 60 phút tùy theo nồng độ của dung dịch Giemsa. Trung bình mỗi tiêu bản cần khoảng 2ml dung dịch nhuộm.

- Tráng nhẹ nhàng bằng nước thường cho trôi hết Giemsa.

- hong khô tự nhiên tiêu bản trên giá.

- Tiêu bản sau khi nhuộm đạt yêu cầu khi soi trên kính hiển vi: ấu trùng bắt màu tím trên nền màu hồng nhạt; Các hạt nhiễm sắc và hạch nhân bắt màu rõ.

3. Soi, phát hiện ấu trùng

- Soi phát hiện ấu trùng giun chỉ bằng vật kính x 10.

- Soi định loại bằng vật kính x 40.

- Soi toàn bộ diện tích 3 giọt máu, soi theo hình chữ chi.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Đếm số lượng ấu trùng có trên 3 giọt máu, sơ bộ đánh giá mật độ ấu trùng có trên 60mm³ máu.

Đặc điểm nhận dạng ấu trùng giun chỉ:

Đặc điểm *W. bancrofti* B. malayi

Thời gian xuất hiện ở máu ngoại vi. Từ 20h đến 4h sáng. Từ 20h đến 6h sáng. Kích thước 200 μm 220 μm. Hình thể Đều, mềm mại, xoắn ít. Có thể không đều, xoắn nhiều. Màng áo Dài hơn thân một ít. Dài hơn thân nhiều. Đầu Có một gai. Có 2 gai. Hạt nhiễm sắc Ít và rõ, tròn. Nhiều và không rõ, sát nhau. Hạt nhiễm sắc cuối đuôi Không đi đến cuối đuôi. Đi đến cuối đuôi, có một hạt tách riêng ra, đi đến tận cùng đuôi.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lượng máu lấy không đủ.

- Lấy máu vào thời gian giun chỉ không xuất hiện ở máu ngoại vi, hoặc lấy máu quá sớm hay quá muộn sau khi uống D.E.C

TÌM KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT

(Phương pháp thủ công)

I. ĐẠI CƯƠNG

- Ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) kí sinh ở người, vật chủ trung gian truyền bệnh là muỗi Anopheles.
- KSTSR xuất hiện nhiều nhất ở máu ngoại vi, khi người bệnh bắt đầu lên cơn sốt hay trong khi đang sốt.
- Máu được lấy để tìm KSTSR từ tĩnh mạch, chống đông bằng EDTA hoặc lấy trực tiếp từ mao mạch (bằng cách chích đầu ngón tay, dái tai hay gót chân).
- Ký sinh trùng sốt rét được tìm thấy bằng cách soi giọt máu dày hoặc giọt máu đàn trên kính hiển vi. Giọt máu được nhuộm bằng Giemsa loãng.
- Mật độ KSTSR được tính trên mật độ bạch cầu hoặc được tính bằng thang điểm (+) trên giọt đặc.
- Phân loại KSTSR theo tiêu chuẩn quy định.

II. CHỈ ĐỊNH

- Người bệnh có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ nhiễm KSTSR;
- Người bệnh đã và đang sinh sống ở vùng có sốt rét lưu hành;
- Người bệnh mới từ vùng sốt rét trở về.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Điều dưỡng lấy máu tĩnh mạch.
- Kỹ thuật viên lấy máu mao mạch trực tiếp tại phòng xét nghiệm hay tại địa phương, kết hợp làm kỹ thuật.

2. Phương tiện - Hóa chất

2.1. Dụng cụ

- Phiếu xét nghiệm;
- Lam kính khô, sạch;
- Lam kéo có cạnh nhẵn;

- Kim chích máu vô khuẩn;
- Bông thấm nước vô khuẩn;
- Băng dính cầm máu;
- Khay men;
- Ống đong các loại: 10ml, 20ml...;
- Pipette nhỏ giọt;
- Đũa thủy tinh;
- Giá nhuộm, giá cài tiêu bản;
- Đồng hồ;
- Máy sấy tiêu bản;
- Dầu soi kính;
- Kính hiển vi;
- Bút viết;
- Bút chì kính mềm;
- Găng tay, khẩu trang, trang phục bảo hộ lao động.

2.2. Hóa chất

- Cồn sát trùng 70°
- Cồn tuyệt đối 96°
- Thuốc nhuộm Giemsa mẹ;
- Nước cất hoặc dung dịch đệm;
- Các dung dịch điều chỉnh pH: NaHPO_4 2%, KH_2PO_4 2%.

- Cách pha dung dịch đệm:

- KH_2PO_4 : 0.7g;
- NaHPO_4 : 1.0g.

Lượng muối trên mỗi loại hòa tan trong 150ml nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy đều cho tan hết. Trộn 2 loại dung dịch trên, tiếp tục cho vừa đủ 1000ml. Khuấy đều, kiểm tra, điều chỉnh pH 7.2.

- Cách pha dung dịch Giemsa nhuộm:

- Giemsa mẹ: 0.3 - 0.4ml.
- Dung dịch đệm hoặc nước cất: 9.7ml.

Trộn đều Giemsa mẹ và nước cất ta được dung dịch Giemsa 3 - 4%.

Thời gian nhuộm: 30 - 45 phút.

* Nhuộm nhanh: Pha dung dịch Giemsa 10% (1ml Giemsa mẹ + 9ml dung dịch đệm). Thời gian nhuộm: 15 - 20 phút.

3. Người bệnh

Nên làm xét nghiệm cho người bệnh trước hoặc trong khi lên cơn sốt, lúc này khả năng tìm thấy KSTSR ở máu ngoại vi cao hơn.

4. Hồ sơ bệnh án

Giấy chỉ định xét nghiệm (biểu mẫu số...) ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: Họ tên, năm sinh, địa chỉ khoa/phòng, số giường, nơi cư trú, chẩn đoán, chỉ định xét nghiệm; Ghi rõ ngày, tháng, năm chỉ định, chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Trường hợp máu được lấy từ tĩnh mạch: Khi tiếp nhận ống máu từ y tá bệnh phòng, tiến hành làm tiêu bản từ ống máu được chống đông bằng EDTA, mà không qua lấy máu mao mạch trực tiếp từ người bệnh được trình bày ở phần tiếp sau đây:

- Lấy máu làm tiêu bản trực tiếp (lấy máu mao mạch)

+ Sát khuẩn ngón tay chích máu bằng cồn 70°, chờ khô.

+ Dùng kim vô khuẩn chích vào vị trí sát khuẩn, sâu khoảng 1mm.

+ Lau bỏ giọt máu đầu bằng bông khô, sạch.

+ Vuốt nhẹ nhàng ngón tay vừa chích từ trên xuống dưới.

+ Dùng lam kính sạch áp nhẹ vào giọt máu thứ 2, giọt máu cách đầu lam 2cm.

+ Giọt máu thứ 3 cũng lấy bằng cách áp lam tương tự như giọt máu thứ 2, cách giọt máu thứ 2 khoảng 1.5cm.

+ Dùng lam kính sạch khác đặt vào trung tâm giọt máu thứ 2 đánh theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài từ 5 - 6 vòng để được giọt máu đặc có đường kính 0.9 - 1.0cm.

+ Tiếp theo, lấy lam kính kéo đặt lên phía trước giọt máu còn lại tạo thành góc 30° - 45°, lùi lam kéo về phía sau một chút để giọt máu được lan đều trên cạnh của lam kéo; đẩy từ từ lam kéo về phía trước, ta được giọt đàn.

+ Sát khuẩn tay cho người bệnh.

+ Để lam khô tự nhiên.

+ Đánh dấu tiêu bản bằng tên, mã số...theo quy định, tránh sai sót, nhầm lẫn.

+ Cố định giọt đàn bằng cồn tuyệt đối: nghiêng tiêu bản khoảng 30° , dùng pipette nhỏ giọt lấy cồn phủ lên giọt đàn, cài lên giá, để khô.

+ Giọt đặc thì không cố định. Nhưng đối với những trường hợp giọt đặc quá dày hay bản mốc thì phải dung giải bằng cách nhỏ nước cất hay Giemsa 1% trong 1- 2 phút, đổ nước, cắm lên giá, hong khô.

* Tiến hành nhuộm:

- Xếp tiêu bản lên giá nhuộm, nhỏ dung dịch Giemsa phủ kín lên lam

(Nồng độ Giemsa và thời gian nhuộm theo quy định).

- Rửa tiêu bản bằng nước sạch. Lưu ý đổ nước nhẹ nhàng vào góc lam để nước sạch dần thay thế Giemsa, tránh rửa mạnh làm trôi bệnh phẩm.

- hong lam khô tự nhiên.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

* Đọc kết quả: Tìm KSTSR dưới KHV độ phóng đại 10 x 40 (để kiểm tra tiêu bản), sau đó đọc dưới độ phóng đại 10 x 100 tìm KSTSR theo chiều ngang tiêu bản, tuần tự tránh bỏ sót, hoặc theo chiều dọc, tránh trùng lên nhau. Đánh giá như sau:

- Soi 100 vi trường, thấy 1 KSTSR: (+);

- Soi 100 vi trường, thấy 10 KSTSR: (++);

- Soi 1 vi trường, thấy 1 KSTSR: (+++);

- Soi 1 vi trường, thấy 10 KSTSR: (++++).

* Xác định loại KSTSR dựa trên hình thái và tiêu chuẩn chẩn đoán theo quy định.

VII. THEO DÕI

- Theo dõi chặt chẽ người bệnh đi từ vùng có sốt rét lưu hành ra;

- Theo dõi những người bệnh nghi ngờ bị sốt rét, nên lấy máu tìm KSTSR trước hoặc trong khi người bệnh có cơn sốt;

- Cần theo dõi việc tái phát cho người có tiền sử sốt rét.

VIII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Chích đầu ngón tay không bỏ giọt máu đầu;

- Quá trình chích máu nặn bóp nhiều;

- Nhầm bệnh phẩm của người này sang người khác;

- Quá trình cố định, nhuộm không tốt gây bong tróc, trôi mất bệnh phẩm;

XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI

(Bảng kỹ thuật nhuộm xanh sáng Cresyl)

I. NGUYÊN LÝ

Hồng cầu lưới là giai đoạn trung gian giữa hồng cầu có nhân và hồng cầu trưởng thành. Hình ảnh mạng lưới là tàn dư của ARN riboxom được bắt màu bởi thuốc nhuộm đặc biệt xanh cresyl.

II. CHỈ ĐỊNH

Các trường hợp thiếu máu và đang điều trị bệnh máu.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên tế bào.

2. Phương tiện - Hóa chất

2.1. Dụng cụ

- Máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA;
- Ống nghiệm khô sạch có nút;
- Tiêu bản kính, tiêu bản kéo khô, sạch;
- Pipette Pasteur;
- Tủ ấm hoặc Bain marrie;
- Kính hiển vi quang học.

2.2. Hoá chất

Thuốc nhuộm xanh cresyl bão hoà.

3. Bệnh phẩm

Là mẫu bệnh phẩm được gửi đến từ các phòng xét nghiệm hoặc các khoa lâm sàng.

4. Phiếu xét nghiệm

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Dùng pipette nhỏ 2 giọt máu vào ống nghiệm.
- Dùng pipette khác nhỏ 2 giọt thuốc nhuộm xanh cresyl bão hoà vào ống nghiệm.

- Lắc đều ống nghiệm, để ống nghiệm vào Bain marrie 37°C trong 20 phút.
- Lắc đều ống nghiệm, dùng pipette nhỏ 1 giọt máu trên lam kính, làm tiêu bản máu đàn mỏng, để tiêu bản khô tự nhiên trong khoảng 15 đến 20 phút.
- Đặt tiêu bản lên kính hiển vi quang học, dưới vật kính dầu 100, hồng cầu lưới bắt màu thuốc nhuộm xanh cresyl có dạng lưới mỏng màu xanh ngọc.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Tính tỷ lệ hồng cầu lưới trên 100 hồng cầu trưởng thành.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lắc không đều ống nghiệm khi ủ và khi làm tiêu bản.
- Thuốc nhuộm kém chất lượng.
- Đọc nhầm thể vùi.

THỜI GIAN MÁU CHẢY (Bleeding Time)

(phương pháp Ivy)

I. NGUYÊN LÝ

Là thời gian từ lúc tạo vết thương chuẩn ở vùng mặt trước cẳng tay đến khi máu ngừng chảy dưới áp suất 40mmHg trong suốt quá trình làm xét nghiệm;

Đây là xét nghiệm được sử dụng để đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp nghi ngờ có bất thường giai đoạn cầm máu ban đầu: các bệnh lý về thành mạch (thiếu vitamin C...) bệnh lý về số lượng, chất lượng tiểu cầu (xuất huyết giảm tiểu cầu, von Willebrand, Glanzmann...).

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

1 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy đo huyết áp;
- Kim chích chuyên dụng;
- Đồng hồ bấm giây;
- Giấy thấm;
- Bông thấm, dung dịch sát trùng (ether, cồn).

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Người bệnh ở tư thế nằm hoặc ngồi, thoải mái;
- Dùng máy đo huyết áp bơm và giữ ổn định áp lực ở mức 40mmHg;

- Chọn ở mặt trước trong cẳng tay vùng không có lông, không có mạch máu, tiến hành sát trùng nhẹ nhàng bằng cồn hoặc ether;
- Đợi 1- 2 phút cho dung dịch sát trùng bay hơi hết, sử dụng kim đặc chủng tạo 3 vết cắt cách nhau 2cm, có kích thước tương tự, có độ sâu khoảng 3mm. Khởi động đồng hồ bấm giây ngay khi mỗi vết thương được tạo thành;
- Cứ 30 giây 1 lần, dùng giấy thấm, thấm máu chảy ra từ vết cắt cho đến khi máu ngừng chảy; Bấm đồng hồ dừng lại, ghi thời gian máu chảy của từng vết thương.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kích thước vết chích không đạt tiêu chuẩn: quá nông hoặc quá sâu;
- Động tác thấm máu từ vết chích quá mạnh gây bong nút tiểu cầu vừa mới hình thành.

NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT (Tournique Test)

(phương pháp tăng áp)

I. NGUYÊN LÝ

Đánh giá sức bền của mao mạch qua các nốt xuất huyết dưới da sau khi tăng áp lực của máu bằng cách tạo ra một sự ứ đọng tĩnh mạch. Đây là một trong những xét nghiệm được sử dụng để đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp nghi ngờ suy giảm sức bền mao mạch.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

1 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy đo huyết áp;

- Đồng hồ.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Kiểm tra nốt xuất huyết trên tay người bệnh (Nếu có, cần ghi rõ để phân biệt với nốt xuất huyết mới xuất hiện sau khi tiến hành kỹ thuật);

- Đo huyết áp người bệnh;

- Duy trì áp lực bằng máy đo huyết áp ở trị số trung bình giữa huyết áp tối đa và tối thiểu trong 10 phút;

- Tháo nhanh máy đo huyết áp, giơ cao tay người bệnh để máu lưu thông bình thường.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Đọc kết quả bằng cách đếm các nốt xuất huyết mới ở vùng phía dưới dải quần đo huyết áp;
- Ghi kết quả: bình thường không có nốt xuất huyết mới. Khi có >10 nốt xuất huyết mới trên diện tích 10cm² dấu hiệu dây thắt được gọi là dương tính và tùy theo số nốt xuất huyết xuất hiện mà kết quả được biểu thị (+), (++) , (+++);
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhầm với nốt xuất huyết cũ, do không kiểm tra hoặc kiểm tra không kỹ;
- Tạo áp lực quá cao hoặc quá thấp;
- Không đảm bảo thời gian tăng áp lực.

ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÁN TIẾP BẰNG MÁY BÁN TỰ ĐỘNG/TỰ ĐỘNG

I. NGUYÊN LÝ

Tiến hành xét nghiệm PT mẫu máu cần kiểm tra, nồng độ fibrinogen sẽ được suy ra từ mức độ thay đổi mật độ quang so với đường cong chuẩn; Đường cong chuẩn được thành lập dựa vào mức độ thay đổi mật độ quang học khi tiến hành xét nghiệm PT ở các nồng độ pha loãng khác nhau của mẫu huyết tương chuẩn đã biết trước nồng độ fibrinogen.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp định lượng fibrinogen nhằm mục đích sàng lọc bất thường đông cầm máu.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Máy đông máu bán tự động/tự động;
- Pipette 100 μ l, 1000 μ l;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Thromboplastin canxi;
- Nước cất.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bật máy đông máu, chờ đủ nhiệt độ;
- Garo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh;
- Trộn máu và chất chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh thu huyết tương nghèo tiểu cầu;
- Tách lấy huyết tương cho vào cup đựng mẫu hoặc đặt trực tiếp ống máu đã ly tâm vào khay mẫu của máy (tùy theo loại máy);
- Chọn chương trình PT - Fib. trên máy đông máu;
- Chuẩn bị thromboplastin canxi theo hướng dẫn của nhà sản xuất;
- Đặt hóa chất đã chuẩn bị vào đúng vị trí ở khay hóa chất của máy;
- Tiến hành kỹ thuật theo đúng các bước được hướng dẫn trên màn hình của từng loại máy.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu máu bị đông, vỡ hồng cầu;
- Thromboplastin canxi không đảm bảo chất lượng.

XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH PHÁT MÁU Ở 22°C

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu ở 22°C có nguyên lý của phản ứng ngưng kết và được sử dụng để phát hiện các kháng thể có trong huyết thanh của người nhận hoặc người cho mà các kháng thể này có khả năng gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của người cho hoặc người nhận trong môi trường nước muối ở 22°C và gây tan máu trong lòng mạch [1], [2], [3].

II. CHỈ ĐỊNH

Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu ở 22°C được chỉ định trong những trường hợp sau:

- Truyền máu toàn phần, khối hồng cầu còn nhiều huyết tương, khối bạch cầu;
- Truyền khối hồng cầu còn ít hoặc không còn huyết tương;
- Truyền chế phẩm tiểu cầu, huyết tương.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

2. Phương tiện – Hóa chất

2.1. Trang thiết bị

Máy ủ gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm ống thẳng có số vòng và thời gian chính xác để ly tâm ống máu; Tủ lạnh đựng sinh phẩm...

2.2. Dụng cụ

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Bút marker; Pipet nhựa; Pipet tự động; Đầu côn các loại; Hộp đựng đầu côn; Giá đỡ gelcard.

2.3. Thuốc thử và hoá chất

- Dung dịch Liss; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

□ Tấm gelcard nước muối.

2.4. Mẫu máu để làm phản ứng hòa hợp

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

2.5. Vật tư tiêu hao

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu truyền máu, chế phẩm, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu và phiếu yêu cầu truyền máu. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

2. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị trước khi làm xét nghiệm.

3. Tiến hành kỹ thuật [4]

- Bước 1: Mang dung dịch LISS được bảo quản trong tủ lạnh về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng;

- Bước 2: Chuẩn bị hồng cầu người cho và/hoặc người nhận 0,8% (10 µl hồng cầu khối và 1ml dung dịch LISS), dịch treo hồng cầu sau khi pha phải được sử dụng để làm xét nghiệm ngay; Ly tâm ống máu không chống đông để tách huyết thanh;

- Bước 3: Ghi nhãn vào vị trí từng cột gel trên tấm gelcard họ và tên người nhận, mã số (nếu có), số giường, khoa, phòng... và mã số, thành phần của đơn vị máu, chế phẩm.

- Bước 4: Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel theo đúng quy định;

- Bước 5: Nhỏ 50 µl dung dịch hồng cầu 0,8% của người cho đã được chuẩn bị ở trên vào các cột gel thích hợp đã được ghi nhãn;

- Bước 6: Thêm 25 µl huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh và người cho vào các cột gel tương ứng;

- Bước 7: Ủ tấm gelcard trên 15 phút ở nhiệt độ phòng;

- Bước 8: Sau ủ, ly tâm 10 phút ở máy ly tâm gelcard chuyên dụng;
- Bước 9: Lấy gelcard ra khỏi máy ly tâm;
- Bước 10: Đọc kết quả trên máy đọc gelcard và lưu giữ kết quả bằng phần mềm máy tính;

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Kết quả xét nghiệm hòa hợp phát máu ở 22°C âm tính

Máu của người cho và người bệnh là hòa hợp; Kết hợp với kết quả xác định nhóm hệ ABO, Rh D và kết quả xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu có sử dụng kháng globulin người để quyết định phát máu và chế phẩm cho các khoa lâm sàng để truyền cho người bệnh.

2. Kết quả xét nghiệm hòa hợp phát máu ở 22°C dương tính

Máu của người cho và người bệnh là không hòa hợp; Lặp lại xét nghiệm với một đơn vị máu khác và kết hợp với kết quả xác định nhóm hệ ABO, Rh D và kết quả xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu có sử dụng kháng globulin người để quyết định có hoặc không phát máu và chế phẩm cho các khoa lâm sàng để truyền cho người bệnh.

Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [5].
- Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm mà hiện đơn vị đang sử dụng;

ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh (D) yếu

(Phương pháp ống nghiệm)

I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết và sử dụng thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể D loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu [1].

II. CHỈ ĐỊNH

Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh được chỉ định trong những trường hợp sau:

- Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh cho người bệnh;
- Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh cho người hiến máu;

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Nơi thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

2. Phương tiện – Hóa chất

2.1. Trang thiết bị

Máy ly tâm thường có số vòng chính xác; Kính hiển vi; Bình cách thủy; Tủ lạnh.

2.2. Dụng cụ

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipet nhựa.

2.3. Thuốc thử và hoá chất

Thuốc thử Anti D loại IgG, Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

2.4. Mẫu máu để xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh

Một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

2.5. Vật tư tiêu hao

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm trước khi tiến hành xét nghiệm.
2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên D yếu của hệ nhóm máu Rh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm xem đã phù hợp chưa?
3. Chuẩn bị hồng cầu cần xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh 3% (1giọt hồng cầu khối và 29 giọt nước muối sinh lý 0,9%).
4. Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô ghi nhãn bao gồm các thông tin của người cần xác định kháng nguyên D yếu lên ống nghiệm.
5. Tiến hành xác định kháng nguyên D yếu của hệ nhóm máu Rh [2]:
 - Bước 1: Nhỏ 1 giọt dung dịch hồng cầu 3% của người cần xác định kháng nguyên D yếu vào ống nghiệm đã ghi nhãn ở trên;
 - Bước 2: Thêm 2 giọt thuốc thử anti D loại IgG vào ống nghiệm trên, trộn đều;
 - Bước 3: Ủ ống nghiệm trên 30 phút ở 37°C (Nếu thêm 2 giọt dung dịch LISS vào ống nghiệm trên trước khi ủ thì chỉ cần ủ 15 phút).
 - Bước 4: Quan sát hiện tượng tan máu và ngưng kết, ghi lại mức độ ngưng kết.
 - Bước 5: Nếu không ngưng kết, rửa 4 lần bằng nước muối sinh lý 0,9%;
 - Bước 6: Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin vào ống nghiệm trên và trộn đều. Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.
 - Bước 7: Quan sát hiện tượng tan máu và ngưng kết, ghi lại kết quả.
 - Bước 8: Nếu phản ứng ngưng kết, thực hiện thêm nghiệm pháp Coombs trực tiếp; nếu nghiệm pháp Coombs trực tiếp âm tính thì kết luận là hồng cầu mang kháng nguyên D yếu.
 - Bước 9: Nếu phản ứng không ngưng kết thì thêm 1 giọt hồng cầu chứng, trộn đều, ly tâm 1000 vòng trong 20 giây. Kết quả phải ngưng kết với mức độ từ 1+ đến 2+ thì xét nghiệm mới có giá trị.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nếu phản ứng ngưng kết ở giai đoạn 37°C và/ hoặc kháng globulin: Kết luận hồng cầu mang kháng nguyên D yếu.
- Nếu phản ứng không ngưng kết cả ở giai đoạn 37°C và/ hoặc kháng globulin người: Kết luận người bệnh hoặc người hiến máu có nhóm máu Rh D âm.

Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BHYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].
- Hướng dẫn sử dụng anti DVI loại IgG để xác định D yếu.

TỔNG PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG MÁY LASER

(Complete blood count by laser hematology analyzers)

I. NGUYÊN LÝ

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, có khả năng cung cấp những bằng chứng sớm nhất về các thay đổi tình trạng sức khỏe và tiên tri bệnh lý.

II. CHỈ ĐỊNH: xét nghiệm cơ bản

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH: Không có

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên (làm bằng máy).

2. Phương tiện, hóa chất

2.1 Dụng cụ

- Máy đếm tế bào tự động theo nguyên lý trở kháng và laser;
- Máy in kèm theo;
- 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;
- Mã vạch, giấy in kết quả, sổ nhật ký máy, sổ lưu kết quả;
- Ống nghiệm có chất chống đông;
- Lam kính, lam kéo;
- Bút chì đánh dấu, bút dạ ghi số, bút bi vào sổ;
- Dầu soi kính, gạc;
- Găng tay.

2.2 Hóa chất

- Máu chuẩn máy;
- Dung dịch chạy máy, rửa máy;
- Cồn tuyệt đối cố định tiêu bản;
- Dung dịch Giemsa nguyên chất và Giem sa pha loãng 1/5;

3. Mẫu bệnh phẩm:

2ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

4. Phiếu xét nghiệm

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

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Nhận bệnh phẩm

- Kiểm tra mẫu máu: đủ số lượng và chất lượng, trên ống phải ghi đầy đủ thông tin phù hợp với giấy xét nghiệm;
- Điều dưỡng ghi và ký nhận vào sổ nhận bệnh phẩm;
- Dán mã vạch vào giấy xét nghiệm và ống máu (cùng một mã số);
- Nhập thông tin người bệnh vào phần mềm Medisoft và Labcom.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra hóa chất và đồ tiêu hao: hóa chất còn hay hết, hạn sử dụng;
- Bật máy tính và bật máy xét nghiệm;
- Chuẩn máy (QC): để mẫu chuẩn lên máy lắc khoảng 10 phút. Khi máy đủ nhiệt độ thì tiến hành chuẩn tất cả các chỉ số theo từng lô. Sau khi đạt chuẩn thì tiến hành chạy mẫu.
- Kiểm tra mẫu trước khi chạy: thông tin hành chính, chất lượng mẫu.
- Chọn chế độ và chương trình làm việc tương ứng với chỉ định.
- Xếp mẫu bệnh phẩm lên rack bệnh phẩm, theo thứ tự từ trái sang phải, mặt mã vạch hướng về phía khe đọc. Đặt rack vào khay chuyển mẫu tự động.
- Chạy máy: khởi động chế độ chạy tự động, vừa chạy máy vừa theo dõi máy.
- Xem và in kết quả.
- Trường hợp có bất thường: kéo tiêu bản và nhuộm Giemsa. Sau đó, đọc trên kính hiển vi và đối chiếu tiêu bản với kết quả chạy máy.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nếu kết quả chạy máy phù hợp với tiêu bản, nhân viên xét nghiệm ký, ghi ngày tháng xét nghiệm và trả.
- Nếu kết quả chạy máy không phù hợp, phải kiểm tra lại và báo cáo bác sĩ.

Lưu ý: Thời gian từ khi lấy máu ra khỏi thành mạch đến khi làm xét nghiệm không quá 6 giờ.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

- 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.

2. Xử trí

- Báo lại lâm sàng trường hợp nhầm bệnh phẩm và giấy xét nghiệm.
- Chạy lại mẫu trường hợp nhầm kết quả.
- Yêu cầu lấy lại mẫu trong trường hợp mẫu không đạt chất lượng.

KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU ABO, Rh

I. Nguyên tắc:

- Trên bề mặt hồng cầu có chứa các kháng nguyên tương ứng với các nhóm máu. Trong huyết thanh có kháng thể chống lại kháng nguyên mà không có trên bề mặt hồng cầu.

Nhóm máu	Kháng nguyên hồng cầu	Kháng thể trong huyết thanh
A	A	Anti B
B	B	Anti A
O	Không có A và B	Anti A và anti B
AB	A và B	Không có anti A và anti B

- Dựa trên hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể dùng huyết thanh mẫu (HTM) chứa kháng thể đặc hiệu đã biết phản ứng với kháng nguyên hồng cầu.

- Hệ nhóm máu Rh là hệ nhóm máu quan trọng thứ 2 sau hệ ABO. Hệ nhóm máu này có rất nhiều kháng nguyên, nhưng quan trọng nhất là kháng nguyên D. Người có kháng nguyên D được gọi là Rh dương, ngược lại người không có kháng nguyên D được gọi là Rh âm. Ở Việt Nam 99,9% dân số là Rh dương.

II. Chuẩn bị :

1/ Dụng cụ:

- Lam kính hoặc gạch men khô sạch
- Micropipet, đầu col vàng
- Đầu khuấy

- Bút viết trên kính

2/ Hóa chất:

- Bộ huyết thanh mẫu: Anti A, Anti B, Anti AB, Anti Rh

3/ Mẫu thử: Máu còn mới không bị tiêu huyết hay nhiễm khuẩn. Nên lấy 2 ống (1 ống có chống đông và 1 ống đông) .

III. Tiến hành:

- Bước 01: Trên tấm đá men ghi mã số tên BN chia làm 4 ô đánh dấu HTM A, HTMB, HTM AB, HTM Rh.

- Bước 02: Cho vào mỗi ô HTM 1 giọt nhỏ máu bệnh nhân

- Bước 03: Trộn đều máu và HTM ở mỗi ô theo vòng tròn đường kính 2cm bằng que khuấy hoặc dùng đáy tròn của ống nghiệm.

- Bước 04: Lắc nghiêng tròn tấm gạch

IV. Đọc kết quả:

- **Ngưng kết (+):** Thấy những cụm hồng cầu đứng tách rời nhau rõ rệt trên nền dung dịch trong.

- **Ngưng kết (-):** Hỗn dịch vẫn đỏ đều và đục.

Nhóm máu	HTM A	HTMB	HTM AB	HTM Rh	
A	+	-	+	Có ngưng kết	Rh dương
B	-	+	+		
O	-	-	-	Không ngưng kết	Rh âm
AB	+	+	+		

* Lưu ý: Sau mỗi lần thao tác định nhóm máu, cần súc rửa Pipet bằng cách hút rửa 2 -3 lần bằng nước cất sau đó rửa bằng dung dịch NaCl 0,9% để loại bỏ hồng cầu và huyết thanh bám trên thành ống, tránh sai lệch kết quả xét nghiệm sau.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG MÁU TRONG HUYẾT HỌC

I. Nguyên lý:

Thời gian máu đông là khoảng thời gian từ khi máu tiếp xúc với 1 bề mặt lạ cho đến khi đông thành cục, phản ánh hiệu lực của cơ chế đông máu. Thời gian máu đông rất nhạy với tất cả các điều kiện bên ngoài như nhiệt độ, bề mặt tiếp xúc, lẫn lộn dịch tổ chức, nổi bọt...

Phương pháp Lee -White nhằm loại bỏ ảnh hưởng của mọi yếu tố ngoại lai có thể gây sai lầm trong kết quả bằng cách ấn định các tiêu chuẩn nghiêm ngặt.

II. Chuẩn bị:

1. Dụng cụ:

- Bơm tiêm 5ml
- Hai ống nghiệm thủy tinh
- Nồi chưng cách thủy 37⁰C
- Đồng hồ bấm dây

2. Bệnh nhân:

Chọn vị trí lấy máu.

Cho BN lại gần nồi chưng cách thủy.

III. Tiến hành:

- Chưng sẵn 2 ống nghiệm trong nồi chưng cách thủy. Đưa BN đến gần nồi chưng hoặc mang nồi chưng đến gần giường bệnh để ngay sau khi lấy, máu được chưng cách thủy ngay ở 37⁰C.

- Lấy 02 ml máu tĩnh mạch đúng cách (chọc dứt khoát 1 lần, không gây tổn thương mô xung quanh...). Khởi động đồng hồ bấm dây ngay khi máu lọt vào bơm tiêm.

- Lấy kim khỏi bơm tiêm cho vào mỗi ống nghiệm 01 ml máu. Để máu chảy dọc thành ống nghiệm, tránh làm nổi bọt hoặc dao động nhiều khiến tốc độ đông máu bị gia tăng.

- Nút kín 02 ống nghiệm bằng bông không thấm nước. Để yên ống trong thùng chưng cách thủy.

- Sau 03 phút, lấy ống nghiệm thứ nhất ra khỏi giá và nghiêng ống 45^0 , cẩn thận để mặt thoáng của máu (bề mặt bên trên) không bị vỡ ra, cứ 30 giây 01 lần cho đến khi nào có thể nghiêng ống 90^0 mà máu phân chảy loang ra, nghĩa là máu đã đông.
- Sau khi máu trong ống nghiệm thứ nhất đã đông, quan sát ngay ống nghiệm thứ 2 theo cách trên cho đến khi máu trong ống này đông. Bấm đồng hồ ngay sau khi máu trong ống thứ 2 đông.
- Thời gian đông của bệnh nhân chính là thời gian đông của ống nghiệm thứ hai.

IV. Đọc kết quả:

Thời gian máu đông bình thường : 05 -12 phút.

Sở dĩ phải dùng hai ống nghiệm vì máu trong ống nghiệm thứ nhất bị dao động nhiều nên máu đông nhanh hơn. Ống nghiệm thứ 2 được để yên trong một thời gian dài nên thời gian đông chính xác hơn.

V. Nguyên nhân sai lầm:

- Các ống nghiệm phải tuyệt đối sạch, đường kính các ống nghiệm phải hoàn toàn giống nhau vì máu đông nhanh hơn trong các ống nghiệm có đường kính nhỏ và ngược lại.
- Phải lấy máu đúng cách, chọc kim 1 lần dứt khoát, không gây thương tổn mô xung quanh.
- Không làm nổi bọt khí khi cho máu từ bơm tiêm vào ống nghiệm.
- Phải tôn trọng nhiệt độ chuẩn. Dưới 20^0C , các kết quả đều không có ý nghĩa.
- Khởi động đồng hồ bấm giây ngay khi máu chảy vào bơm tiêm chứ không phải khi cho máu vào ống nghiệm hoặc khi cho ống nghiệm vào nồi chưng cách thủy.
- Số lượng hồng cầu cũng có thể ảnh hưởng đến thời gian đông máu: Thời gian ngắn lại khi HCT giảm và kéo dài khi HCT tăng.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TỐC ĐỘ MÁU LẮNG

I. Chuẩn bị:

Dụng cụ :

- Máy đo tốc độ máu lắng tự động
- Giá và ống Westergreen có 200 vạch từ 0 -200.
- Phương tiện lấy máu tĩnh mạch.
- Đồng hồ và ống nghiệm đường kính 1cm.
- Dung dịch chống đông Natri citrat 3.8%.

Bệnh phẩm:

Máu đã được chống đông theo tỷ lệ, chất chống đông : máu = 1:4.

II. Tiến hành: Có 02 phương pháp

1. Lên giá VSS:

- Lấy 0,4ml dung dịch chống đông cho vào ống nghiệm.
- Lấy máu tĩnh mạch 1,6ml cho vào ống nghiệm, lắc nhẹ nhàng cho đều.
- Dùng ống hút Westergreen hút máu đến vạch 0.
- Lau máu dính ngoài thành ống.
- Gài ống vào giá, theo dõi sau 1 giờ, 2 giờ.

Sau 1 giờ : Đọc cột huyết tương ở trên (từ vạch 0 đến vạch hồng cầu lắng).

Sau 2 giờ: Đọc tiếp cột huyết tương (kể từ vạch 0 đến vạch hồng cầu lắng).

- Ghi kết quả sau 1 giờ, 2 giờ.

2. Đo tốc độ máu lắng bằng máy tự động:

- Máu được lấy vào ống chuyên dụng
- Khởi động máy, màn hình xuất hiện:

Ready 1Ps ***** 8Ps

9 Ps*****16Ps

- Đảo nhẹ ống máu chuyên dụng trong 05 phút rồi cho ống máu lần lượt vào các vị trí đo trên máy.
- Trên màn hình tại vị trí tương ứng hiển thị RUN thể hiện vị trí đó đang được thực hiện đo.
- Đến thời gian kết thúc đo trên màn hình hiển thị kết quả.

III. Đọc kết quả:

* Bình thường: Sau 1h: Nam: 3-5mm Sau 2h : Nam: 7-10mm.

Nữ: 4-7mm

Nữ :12-16mm.

* Thay đổi sinh lý: Tốc độ máu lắng tăng trong các trường hợp:

- Trẻ mới đẻ.
- Ở người có tuổi, giờ đầu có thể đến 20 - 30 mm
- Sau ăn no, vận động mạnh
- Phụ nữ đang có kinh nguyệt
- Trong thời kỳ có thai từ tháng thứ 4 đến 3 - 4 tuần sau đẻ.

* Thay đổi bệnh lý:

- Tốc độ máu lắng tăng trong nhiều bệnh:
- Nhiễm khuẩn cấp tính

- Nhiễm khuẩn mãn tính: lao,...
- Bệnh thấp: thấp khớp, viêm đa khớp dạng thấp.
- Bệnh hệ thống: lupus ban đỏ hệ thống,...
- Bệnh ác tính: đau tủy xương, u lympho,...
- Tốc độ máu lắng giảm nhẹ ở BN đa hồng cầu.

Đo tốc độ máu lắng ít có giá trị chẩn đoán, nhưng có giá trị để theo dõi tiến triển bệnh trong quá trình điều trị.

IV. Những yếu tố gây sai kết quả:

- Ống không khô, không sạch.
- Không để đứng thẳng ống, ống nghiêng 3^0 có thể sai số 30%
- Lấy máu xong nhưng để yên quá lâu và không đặt lên máy.
- Kỹ thuật lấy máu không tốt làm máu bị đông thành dây.
- Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời tiết. (Nhiệt độ $\geq +30^0\text{C}$ làm máu lắng tăng)
- Có bọt khí trong ống
- Lấy không đủ tới vạch quy định.

C. CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH VI SINH VÀ CÁC KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM KHÁC

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐỊNH TÍNH PHẢN ỨNG CRP

I. Nguyên tắc:

Xét nghiệm phản ứng CRP (C-Reactive Protein) sử dụng 1 kháng thể đơn dòng CRP kết hợp với chất keo vàng và 1 kháng thể đơn dòng CRP khác được phủ trên vạch kết quả xét nghiệm. Sau khi mẫu (huyết thanh, huyết tương kể cả máu toàn phần) được bơm vào vùng thử xét nghiệm, kháng thể đơn dòng CRP được đánh dấu chất vàng keo kết hợp với CRP trong mẫu sẽ tạo thành phức hợp kháng thể kháng nguyên.

II. Chuẩn bị:

1. Dụng cụ:

- Tấm lắc màu đen có từng ô thử, được đánh số thứ tự
- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kit thử chứa phân tử kháng thể kháng CRP và kháng nguyên bắt giữ trên màng.

3. Mẫu thử: Sử dụng máu toàn phần, huyết thanh, huyết tương.

III. Tiến hành:

- Bước 01: Lấy hóa chất để nhiệt độ phòng trước khi sử dụng 20 phút.
- Bước 02: Lần lượt nhỏ 40 μ l control dương vào giếng 01 của tấm lắc, 40 μ l control âm vào giếng 02, 40 μ l mẫu thử huyết thanh vào giếng 03.
- Bước 03: Sau đó thêm vào mỗi giếng nói trên 01 giọt CRP late reagent 40 μ l (lưu ý lắc đều lọ trước khi nhỏ).
- Bước 04: Trộn đều các giếng thử bằng các que nhỏ (mỗi que cho 1 giếng thử)
- Bước 05: Lắc tấm lắc trong vòng 2 phút rồi đọc kết quả.

IV. Đọc và nhận định kết quả:

1. Âm tính : Không xuất hiện các hạt ngưng kết .
2. Dương tính: Xuất hiện các hạt ngưng kết trong giếng thử (so sánh với giếng control dương)
3. Đánh giá kết quả: Dương tính trong các bệnh về viêm cấp, sốt thấp khớp, Scarlatin (tình hồng nhiệt), bệnh Hodgkin nhiễm khuẩn, viêm amydan cấp.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐỊNH TÍNH RF

I. Nguyên tắc:

Thuốc thử RF (Rheumatoid Factor) là một hỗn dịch các tiểu phân Polystyren latex được làm nhạy cảm với IgG người để tránh đông tụ không đặc hiệu. Độ nhạy cảm của thuốc thử RF latex được điều chỉnh để phát hiện tối thiểu 8IU/ml các yếu tố viêm khớp mà không cần phải pha loãng mẫu trước.

II. Chuẩn bị:

1. Dụng cụ:

- Tấm lắc màu đen có từng ô thử, được đánh số thứ tự
- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất : Bộ kit thử chứa :

- R1: Các tiểu phân latex được bao bởi chất bảo quản anti-RF.
- R2: DD chứa Protein với chất bảo quản các yếu tố viêm khớp nồng độ > 8 IU/ml.
- R3: DD chứa Protein với chất bảo quản các yếu tố viêm khớp nồng độ < 8 IU/ml.

3. Mẫu thử: Sử dụng máu toàn phần, huyết thanh, huyết tương.

III. Tiến hành:

- Bước 01 : Đưa thuốc thử và mẫu thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

- Bước 02 : Lần lượt nhỏ 01 giọt (40 μ l) đối chứng dương tính R2 vào giếng 01 của tấm lắc, nhỏ 01 giọt (40 μ l) đối chứng âm tính R3 vào giếng 02 của tấm lắc, nhỏ 01 giọt (40 μ l) mẫu thử huyết thanh vào giếng 03 và các mẫu thử khác vào giếng 04, giếng 05 ...(nếu có nhiều mẫu thử) của tấm lắc.
- Bước 03: Lắc đều R1 RF latex, lần lượt nhỏ 01 giọt (40 μ l) R1 vào mỗi giếng nói trên.
- Bước 04: Sử dụng que phân tán để trải hỗn hợp phản ứng ra toàn bộ bề mặt thử (mỗi que cho 01 giếng thử).
- Bước 05: Lắc tấm lắc trong vòng 02 phút rồi đọc kết quả ngay dưới ánh sáng thường.

IV. Đọc và nhận định kết quả:

- Âm tính : Phản ứng chỉ ra bởi một hỗn dịch đục đồng nhất, không có các hạt nhưng kết khi quan sát cùng với đối chứng âm tính.
 - Dương tính : Phản ứng chỉ ra khi có bất cứ ngưng kết nào quan sát được trong hỗn hợp, phản ứng phải được so sánh với đối chứng dương tính.
- * Lưu ý: Nên đọc kết quả đúng 02 phút sau phản ứng nếu kéo dài thời gian phản ứng hơn 03 phút có thể gây ngưng kết dương tính giả.
- **Đánh giá kết quả:** Dương tính trong các bệnh viêm khớp dạng thấp.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TROPONIN

I. Nguyên tắc:

Kít thử chuẩn đoán cơn đau thắt ngực là dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch, định tính phát hiện sự có mặt của Troponin trong máu toàn phần (huyết thanh hoặc huyết tương). Màng được phủ trước kháng nguyên bắt giữ trên vùng kết quả. Trong quá trình xét nghiệm máu toàn phần (huyết thanh hoặc huyết tương) sẽ phản ứng với phân tử phủ kháng thể Troponin. Hỗn hợp này sẽ di chuyển mang theo nguyên tắc sắc ký nhờ lực mao dẫn để phản ứng với kháng nguyên bắt giữ trên màng và hình thành nên vạch màu. Sự hiện diện của vạch màu này cho biết kết quả dương tính, trong khi đó kết quả âm tính nếu không có xuất hiện vạch màu, và nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm. 01 vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. Chuẩn bị:

1. Dụng cụ:

- Tấm lắc màu đen có từng ô thử, được đánh số thứ tự.
- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kít thử chứa phân tử kháng thể kháng Troponin và kháng nguyên bắt giữ trên màng.

3. Mẫu thử: Sử dụng máu toàn phần, huyết thanh, huyết tương.

III. Tiến hành:

Đề kít thử, mẫu thử ở nhiệt độ phòng trước khi làm xét nghiệm.

- Bước 01: Lấy kít thuốc thử ra khỏi túi đựng sản phẩm và sử dụng kít càng nhanh càng tốt, để đạt kết quả tốt nhất toàn bộ quá trình xét nghiệm phải được hoàn thành trong vòng 01 giờ kể từ khi mở túi đựng sản phẩm.

- Bước 02 : Đặt kít thử trên mặt phẳng sạch nằm ngang.

+ Đối với huyết thanh huyết tương, giữ ống nhỏ giọt thẳng đứng chuyển 2 giọt huyết thanh hoặc huyết tương (50 μ l) vào giếng S trên kít thử và bắt đầu tính thời gian.

+ Đối với máu toàn phần nhỏ 75 μ l vào giếng S và nhỏ thêm 40 μ l buffer và tính thời gian.

+ Đợi vạch đỏ xuất hiện kết quả nên đọc trong vòng 20 phút, không đọc kết quả sau 20 phút.

IV. Đọc và nhận định kết quả:

- Dương tính: Trên kít thử xuất hiện 2 vết đỏ rõ rệt ở vùng chứng và vùng thử

- Âm tính : Trên kít thử xuất hiện 1 vạch đỏ .

- Đánh giá kết quả: Dương tính trong các bệnh: cơn đau thắt ngực, nhồi máu cơ tim, hội chứng mạch vành.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM HP (HELICOBACTER PYLORY)

I. Nguyên tắc:

Kit thử chẩn đoán HP (Helicobacter Pylory) là dụng cụ XN miễn dịch màng định tính phát hiện kháng thể kháng HP trong huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần. Trong quá trình Xn, anti human IgG đã được bất động ở vùng vạch kết quả trên kit thử. Sau khi mẫu huyết thanh hoặc huyết tương được nhỏ vào giếng mẫu, nó sẽ phản ứng với phần tử phủ kháng nguyên trên kit. Hỗn hợp này di chuyển theo nguyên tắc sắc ký dọc theo chiều dài của kit và phản ứng với anti human IgG .Nếu mẫu chứa kháng thể HP một vạch màu sẽ xuất hiện ở vùng kết quả cho biết kết quả dương tính. Kết quả âm tính nếu không có xuất hiện vạch màu ở ở vùng kết quả. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác XN một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. Chuẩn bị :

1. Dụng cụ:

- Tấm lắc màu đen có từng ô thử, được đánh số thứ tự.
- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất : Bộ kit thử chẩn đoán HP (Helicobacter Pylory).

3. Mẫu thử : Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần để làm xét nghiệm (không sử dụng ống EDTA để chứa mẫu, chỉ sử dụng ống nghiệm chứa sodium heparin hoặc lithium heparin để chứa mẫu).

Không được để mẫu bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng trong thời gian dài. Mẫu huyết thanh, huyết tương có thể bảo quản ở nhiệt độ 2-8⁰C trong vòng 03 ngày.

III. Tiến hành:

- Bước 01: Lấy kit thử và mẫu thử ở nhiệt độ phòng trước khi làm xét nghiệm.

Lấy kit thử ra khỏi túi đựng sản phẩm và sử dụng kit thử càng nhanh càng tốt. để đạt kết quả tốt nhất quá trình XN phải được hoàn thành trong vòng 01 giờ.

- Bước 02: Bóc miếng giấy dính khỏi thẻ xét nghiệm. đặt kit thử cho dính vào chính giữa thẻ XN sao cho chiều mũi tên chỉ xuống phía dưới thẻ.

- Bước 03 : Nhỏ 04 giọt ($\geq 100\mu\text{L}$) mẫu thử theo phương thẳng đứng vào vùng nhỏ mẫu (S) của kit thử và bắt đầu tính thời gian.

- Bước 04 : Đợi vạch đỏ xuất hiện đọc kết quả trong vòng 10 - 20 phút. Không đọc kết quả sau 20 phút.

IV. Đọc và nhận định kết quả:

- Dương tính : Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của kháng thể kháng HP có trong mẫu bệnh phẩm. Tuy nhiên bất kỳ vạch mờ nào ở vùng kết quả cũng đều được coi là dương tính.

- Âm tính: Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng (C). Không thấy xuất hiện vạch thử (T).

- Đánh giá kết quả: Dương tính trong các bệnh viêm loét dạ dày tá tràng khi có mặt của kháng thể HP trong huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần người, xác định bị nhiễm HP (Helicobacter Pylory).

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH HIV

I. Nguyên tắc:

Là một thử nghiệm sắc ký miễn dịch (nhanh) để phát hiện định tính các kháng thể (IgG, IgM, IgA) đặc hiệu đối với HIV-1 và HIV-2 trong huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần người.

Dụng cụ xét nghiệm có chứa thanh màng được gắn trước với kháng nguyên bắt giữ tái tổ hợp của HIV-1(gp41, p24) trên vùng vạch thử 1(gp36) trên vùng vạch thử 2. Cộng hợp keo vàng-kháng nguyên HIV-1/2 tái tổ hợp (gp41,p24, gp36) và mẫu dịch chuyển sắc ký trên màng đến vùng thử (T) và tạo thành vạch nhìn thấy do tạo thành các phức hợp kháng nguyên, kháng thể hạt vàng gắn kháng nguyên với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Trên bề mặt của dụng cụ xét nghiệm có đánh vạch chứng và vạch thử. Cả hai vạch này trong cửa sổ đọc kết quả đều không nhìn thấy được trước khi nhỏ mẫu. Vạch chứng để kiểm tra quy trình xét nghiệm, vạch chứng luôn xuất hiện chứng tỏ quy trình xét nghiệm thực hiện đúng và các thuốc thử trên vạch chứng phản ứng tốt.

II. Chuẩn bị :

1. Dụng cụ:

- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kit thử chẩn đoán nhanh virus HIV

3. Mẫu thử: Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần. Không được để mẫu bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng trong thời gian dài. Mẫu huyết thanh, huyết tương có thể bảo quản ở nhiệt độ 2-8⁰C trong vòng 03 ngày.

III. Tiến hành:

- Bước 01: Lấy kit thử và mẫu thử ở nhiệt độ phòng trước khi làm xét nghiệm.

Lấy kit thử ra khỏi túi đựng sản phẩm, đặt lên mặt phẳng khô và sử dụng kit thử càng nhanh càng tốt.

- Bước 02: Nhỏ mẫu thử (nhỏ thêm dung môi nếu có) theo phương thẳng đứng vào vùng nhỏ mẫu (S) của kit thử và bắt đầu tính thời gian.

- Bước 03: Đợi vạch đỏ xuất hiện đọc kết quả trong vòng 05 - 20 phút. Không đọc kết quả quá muộn có thể cho kết quả sai.

* Các loại test XN HIV nhanh được dùng tại khoa:

TT	Tên test	Huyết thanh/ h.tương	Máu TP	Dung môi	Thời gian đọc kết quả (phút)
1	Bio Tracer HIV1/2 Rapid card	10µl	20µl	4 giọt	05 - 20'
2	Determine HIV-1/2	50µl			15 - 60'

IV. Đọc kết quả:

- **Dương tính:** Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của kháng thể kháng HIV có trong mẫu bệnh phẩm. Tuy nhiên bất kỳ vạch mờ nào ở vùng kết quả cũng đều được coi là dương tính.

- **Âm tính:** Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng. Không thấy xuất hiện vạch thử.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH HBsAg

I. Nguyên tắc:

Xét nghiệm nhanh HBsAG là xét nghiệm sắc ký miễn dịch in vitro một bước để định tính HBsAg trong huyết tương hoặc huyết thanh.

II. Chuẩn bị :

1. Dụng cụ:

- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kit thử chẩn đoán nhanh virus HBsAg

3. Mẫu thử: Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.

III. Tiến hành:

- Bước 01: Lấy dụng cụ xét nghiệm ra khỏi túi đựng và đặt lên mặt phẳng khô
- Bước 02: Nhỏ 100 µl mẫu thử theo phương thẳng đứng vào vùng nhỏ mẫu (S) của kit thử và bắt đầu tính thời gian.
- Bước 03: Sau khi nhỏ mẫu thử, sẽ thấy màu tím di chuyển đến cửa sổ đọc kết quả. Đợi vạch đỏ xuất hiện đọc kết quả trong vòng 20 phút. Không đọc kết quả sau 30 phút, vì có thể cho kết quả sai.

IV. Đọc kết quả:

- **Dương tính:** Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).
- **Âm tính:** Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng. Không thấy xuất hiện vạch thử.

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của kháng thể kháng HBsAg có trong mẫu bệnh phẩm.

Thời gian đọc kết quả ở trên dựa vào việc đọc kết quả xét nghiệm ở nhiệt độ phòng 15 - 30⁰C. Nếu nhiệt độ phòng thấp hơn nhiều so với 15⁰C thì thời gian đọc nên kéo dài đến 30 phút.

- Kết quả không có giá trị:

Nếu không xuất hiện vạch màu tím (C) ở cửa đọc kết quả sau khi tiến hành xong quá trình xét nghiệm thì kết quả được coi là không có giá trị. Nguyên nhân có thể do không thực hiện đúng theo hướng dẫn, hoặc dụng cụ xét nghiệm bị hỏng do quá hạn dùng. Mẫu thử cần được xét nghiệm lại.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH HCV

I. Nguyên tắc:

Xét nghiệm HCV là xét nghiệm định tính, miễn dịch theo nguyên lý dòng chảy một chiều được dùng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng HCV trong huyết thanh hoặc huyết tương. Xét nghiệm HCV chẩn đoán viêm gan C.

II. Chuẩn bị :

1. Dụng cụ:

- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kit thử chẩn đoán nhanh virus HCV

3. Mẫu thử: Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.

III. Tiến hành:

- Bước 01: Lấy kit thử ra khỏi túi kín đựng sản phẩm và sử dụng kit thử càng nhanh càng tốt.

Lưu ý: Để đạt kết quả tốt nhất, toàn bộ quá trình xét nghiệm phải được hoàn thành trong vòng 1 giờ kể từ khi mở túi đựng sản phẩm.

- Bước 02: Cầm kit thử sao cho mũi tên trên kit thử hướng chỉ xuống: nhúng kit thử theo phương thẳng đứng vào mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, hoặc huyết tương) đựng trong ống nghiệm và ngâm ít nhất 10-15 giây. Tiếp theo đặt kit thử trên mặt phẳng nằm ngang không hút nước và bắt đầu tính thời gian.

Chú ý : Không nhúng kit thử sâu quá vạch tối đa (MAX line – đầu mũi tên) trên kit thử.

- Bước 03: Chờ cho đến khi các vạch đỏ xuất hiện trên kit thử. Đọc kết quả trong vòng 10 phút.

Lưu ý: Nồng độ kháng thể kháng HCV thấp có thể cho kết quả là một vạch mờ ở vùng kết quả (T) sau khi đã kéo thêm thời gian chờ kết quả. Tuy nhiên không sử dụng kết quả sau 20 phút.

IV. Đọc kết quả:

- **Dương tính:** Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).

- **Âm tính:** Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng. Không thấy xuất hiện vạch thử.

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của kháng thể kháng HCV có trong mẫu bệnh phẩm.

- Kết quả không có giá trị:

Nếu không xuất hiện vạch màu tím (C) ở cửa đọc kết quả sau khi tiến hành xong quá trình xét nghiệm thì kết quả được coi là không có giá trị.

Nguyên nhân có thể do không thực hiện đúng theo hướng dẫn, hoặc dụng cụ xét nghiệm bị hỏng do quá hạn dùng. Mẫu thử cần được xét nghiệm lại.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH AFP

I. Nguyên tắc:

Xét nghiệm AFP (Alpha Feto Protein) là xét nghiệm định tính, miễn dịch theo nguyên lý dòng chảy một chiều được dùng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng AFP (Alpha Feto Protein) trong huyết thanh hoặc huyết tương. Xét nghiệm AFP (Alpha Feto Protein) chẩn đoán nhanh ung thư gan.

II. Chuẩn bị :

1. Dụng cụ: Micropipet, Đầu col vàng, Bút viết trên kính.
2. Hóa chất: Bộ kit thử chẩn đoán nhanh AFP
3. Mẫu thử: Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.

III. Tiến hành:

- Bước 01: Lấy kit thử ra khỏi túi kín đựng sản phẩm và sử dụng kit thử càng nhanh càng tốt.

- Bước 02: Cầm kit thử sao cho mũi tên trên kit thử hướng chỉ xuống: nhúng kit thử theo phương thẳng đứng vào mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, hoặc huyết tương) đựng trong ống nghiệm và ngâm ít nhất 10-15 giây. Tiếp theo đặt kit thử trên mặt phẳng nằm ngang không hút nước và bắt đầu tính thời gian.

Chú ý : Không nhúng kit thử sâu quá vạch tối đa (MAX line – đầu mũi tên) trên kit thử.

- Bước 03: Chờ cho đến khi các vạch đỏ xuất hiện trên kit thử. Đọc kết quả trong vòng 10 phút. Không sử dụng kết quả sau 30 phút.

IV. Đọc kết quả:

- **Dương tính:** Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).

- **Âm tính:** Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng. Không thấy xuất hiện vạch thử.

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của AFP có trong mẫu bệnh phẩm.

- Kết quả không có giá trị:

Nếu không xuất hiện vạch màu tím (C) ở cửa đọc kết quả sau khi tiến hành xong quá trình xét nghiệm thì kết quả được coi là không có giá trị.

Nguyên nhân có thể do không thực hiện đúng theo hướng dẫn, hoặc dụng cụ xét nghiệm bị hỏng do quá hạn dùng. Mẫu thử cần được xét nghiệm lại.

XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG CÁC LOẠI DỊCH

(phương pháp thủ công)

I. NGUYÊN LÝ

Các loại dịch thường gặp gồm: Dịch màng tim, dịch màng phổi, dịch màng bụng và dịch khớp. Xét nghiệm tế bào trong các dịch là xác định về sự có mặt, tỷ lệ và phân tích hình thái các tế bào có trong dịch nhằm hỗ trợ công tác chẩn đoán, theo dõi và điều trị bệnh.

II. CHỈ ĐỊNH

Nghi ngờ viêm hoặc thâm nhiễm tế bào ác tính các màng: màng phổi, màng tim, màng bụng, dịch khớp.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

2. Phương tiện – Hóa chất

2.1. Dụng cụ

- Kính hiển vi quang học;
- Máy ly tâm;
- Lam kính khô, sạch;
- Đũa thủy tinh dẹt một đầu;
- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản;
- Pipette Pasteur và quả bóp ;
- Ống nghiệm nhỏ khô sạch;
- khay inox quả đậu;
- Gạc sạch;
- Băng dính vải hoặc băng dính giấy;
- Dụng cụ lập công thức bạch cầu (bàn bấm hoặc đá xây dựng).

2.2. Hóa chất

- Cồn tuyệt đối;
- Dung dịch Giemsa mẹ;
- Nước cất;
- Dầu soi kính hiển vi.

3. Bệnh phẩm

Là mẫu dịch đựng trong ống nghiệm sạch đảm bảo các điều kiện:

- Miệng ống nghiệm được đậy nắp kín.
- Ống nghiệm có đầy đủ thông tin hành chính về tên, tuổi, giường, khoa của người bệnh phù hợp với giấy xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Trước khi đếm, xác định số lượng và màu sắc dịch. Tiến hành kỹ thuật với các trường hợp dưới đây:

1. Trường hợp dịch lỏng (màng bụng, màng tim, màng phổi,...)

- Bước 1. Để lắng tự nhiên hoặc ly tâm nhẹ (1000 vòng/phút trong 10 phút)
- Bước 2. Lấy cặn nhỏ một giọt lên tiêu bản kính sạch.
- Bước 3. Dùng que thủy tinh đầu nhọn dẹt di giọt bệnh phẩm theo hình tròn đồng tâm, đường kính 1,5 - 2 cm.
- Bước 4. Để khô tự nhiên, cố định bằng cồn tuyệt đối, nhuộm Giemsa với tỷ lệ 1/5 trong 5-7 phút.
- Bước 5. Làm khô tiêu bản và nhận định kết quả.

2. Trường hợp dịch đặc và quánh

- Bước 1. Nếu dịch có độ nhớt tương đương với máu thì làm tiêu bản giọt đàn như tiêu bản máu. Cố định và nhuộm như tiêu bản máu.
- Bước 2. Nếu dịch quánh, đặc: Dùng tăm bông lấy chất dịch cho lên tiêu lam kính. Dùng lam kéo dàn tiêu bản như làm tiêu bản máu đàn hoặc dùng tăm bông di nhẹ như làm tiêu bản giọt đặc.
- Bước 3. Để khô, đánh dấu, cố định và nhuộm.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Sau khi có tiêu bản, việc nhận định kết quả được tập trung vào các tiêu chí nhận xét.

- Màu sắc của dịch.
- Đánh giá về sự có mặt của tế bào trên tiêu bản nhuộm Giemsa (giàu hay nghèo tế bào).
- Phân tích đặc điểm hình thái của các loại tế bào có trong dịch.
- Kết luận sau khi phân tích hình thái tế bào (nếu đủ điều kiện).

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhầm bệnh phẩm, nhầm giấy xét nghiệm hoặc sai lệch thông tin giữa bệnh phẩm và giấy xét nghiệm.
- Bệnh phẩm không được gửi đến phòng xét nghiệm ngay sau khi lấy.
- Không lắc đều bệnh phẩm trước khi tiến hành kỹ thuật.
- Tiêu bản không đạt tiêu chuẩn.
- Thời gian nhuộm và nồng độ thuốc nhuộm không phù hợp.

XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU

(phương pháp thủ công)

I. NGUYÊN LÝ

Bình thường nước tiểu chỉ có một số tế bào biểu mô và cặn theo biểu hiện sinh lý của cơ thể. Khi có dấu hiệu bệnh lý ở hệ tiết niệu sẽ có biểu hiện có nhiều tế bào hoặc tinh thể trong nước tiểu. Xét nghiệm tế bào trong nước tiểu theo phương pháp thủ công là xác định định tính các tế bào hoặc cặn, tinh thể có trong nước tiểu. Xét nghiệm này góp phần quan trọng trong công tác chẩn đoán, theo dõi và điều trị bệnh.

II. CHỈ ĐỊNH

Xét nghiệm cơ bản.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

2. Phương tiện- Hóa chất

2.1. Dụng cụ

- Kính hiển vi quang học;
- Khay hạt đậu;
- Lam kính khô sạch;
- Pipette Pasteur;
- Gạc hút;
- Giá cắm ống nước tiểu.

2.2. Hóa chất

Không có

3. Bệnh phẩm

Là mẫu nước tiểu được gửi đến phòng xét nghiệm từ bệnh phòng hoặc lấy trực tiếp tại nơi khám bệnh.

Bệnh phẩm phải đạt yêu cầu:

- Phù hợp thông tin của giấy xét nghiệm và ống nghiệm.
- Không có dị vật khác trong ống nghiệm.
- Bệnh phẩm nước tiểu mới bài tiết thường trong và có màu vàng nhạt do có sắc tố urobilin, để lắng một thời gian sẽ có màu vẩn đục do tế bào thượng bì và chất nhầy mucin tạo nên, ngoài ra còn do một số cặn uric, urat, phosphat., hoặc do protein, do mỡ, hoặc màu đỏ do lẫn máu, màu nâu do đá nhiều urobilin, màu vàng xám khi có nhiều bilirubin.

4. Phiếu xét nghiệm

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Để lắng 1–2 giờ kể từ khi nhận bệnh phẩm từ bệnh phòng. Trường hợp bệnh phẩm mới lấy, cần làm xét nghiệm ngay → đảo đều bệnh phẩm bằng Pipette paster → hút 5ml vào ống nghiệm sạch → ly tâm 2000 vòng/phút x 10 phút.
- Đổ phần trên (thao tác đổ dứt khoát), hút một giọt cặn, nhỏ lên phiến kính (hoặc lắc kỹ phần cặn → đổ trực tiếp từ ống nghiệm vào lam kính và kéo dài miệng ống nghiệm tạo thành tiêu bản nước dịch) và di đều lên lam kính → chờ 1–2 phút cho bệnh phẩm ổn định → đặt lên kính hiển vi đọc bằng vật kính x10.
- Kiểm tra tối thiểu 10 vi trường theo đường rích rắc để đánh giá trung cho cả cặn và tế bào.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Tế bào

- Hồng cầu:

Ít : dưới 5 hc / vi trường

(+) : 5- 10 hc/ vi trường

(++) : 10 - 20 hc /vi trường

(+++): trên 20 hc /vi trường

- Bạch cầu:

Ít : dưới 10 bc / vi trường

(+) : 10 - 20 bc/ vi trường

(++) : trên 20 bc/ vi trường

(+++): trên 50 bc/ vi trường

- Tinh trùng: đánh giá định tính dựa trên mật độ tinh trùng có trong nước tiểu từ mức độ rải rác, (+) → (++++) và dày đặc.

- Tế bào biểu mô niệu đạo: Tế bào to hình đa diện, nhân rõ.
- Tế bào biểu mô bàng quang: Tế bào to hình vọt, nhân rõ.
- Tế bào biểu mô thận: Tế bào to trung bình, hình bầu dục, nhân tròn rõ.

2. Trụ niệu: cấu tạo bởi chất nhày, tế bào của máu khi qua ống thận, đọng lại và mang khuôn của ống thận. Dựa vào thành phần cấu tạo người ta chia 2 loại trụ:

2.1. Trụ không có tế bào gồm

- Trụ trong: Còn gọi là trụ thấu quang, hình dài, bờ nhẵn, trong suốt. nước tiểu bình thường thải ra 3000 trụ trong vòng 12 giờ, trụ này tăng khi lao động nặng, sốt, sau gây mê bằng ether; gặp nhiều có thể nghĩ do viêm thận.
- Trụ sáp (trụ keo): Ngắn và to hơn trụ trong, óng ánh do chiết quang nhiều, màu xám, thường có vết nứt; người ta cho rằng do nằm lâu trong ống thận nên bị khô và tạo thành trụ sáp.
- Trụ xơ: Màu vàng nhạt, trông như có nhiều sợi ghép lại và kéo dài, thường gặp trong viêm thận cấp.
- Trụ mỡ: Do bào tương tế bào thoái hóa, hoặc do mỡ trong máu bài tiết ra tạo thành; các hạt mỡ hiện rõ trên thân trụ, thường gặp trong thận nhiễm mỡ.

2.2. Trụ có tế bào

Thường gặp trong viêm cầu thận.

- Trụ hạt: Giống như trụ trong nhưng trên mặt có những hạt to nhỏ bám lên, do các tế bào hoặc các hạt cholesterol của các tế bào thoái hóa tạo thành, thường gặp trong viêm thận cấp.
- Trụ biểu mô: Còn gọi là trụ liên bào gồm những tế bào ở ống thận tạo thành.
- Trụ mũ hay trụ bạch cầu: Do bạch cầu hạt thoái hóa tạo thành, thường đứt thành đoạn ngắn.
- Trụ hồng cầu còn gọi là trụ máu: Do hồng cầu kết tụ, bờ trụ thường lờ mờ không đều.
- Trụ vi khuẩn (ít gặp): Do vi khuẩn tạo nên. khi đọc bằng vật kính x 10, trụ được đánh giá như sau:

(-) : không có trụ

(+) : 1 trụ / 100 vi trường

(++) : 1 trụ / 1 vi trường

(+++): 10 trụ / 1 vi trường

(++++) : 100 trụ / 1 vi trường

3. Cận tinh thể

Đánh giá định tính dựa trên sự có mặt các loại cận, tinh thể có trong bệnh phẩm, từ rải rác, (+) → (++++) và dày đặc, thường gặp các loại sau:

- Sulfatcalci: hình kim dài, hoa thị, không màu.
- Oxalatcalci: hình phong bì, bánh qui, kích thước 10 - 20 μm , hình củ lạc khoảng 50 μm , rất chiết quang.
- Cacbonatcalci: hình cầu, tan trong acid.
- Cận phosphat: hình chữ nhật, lá dương xỉ, hình sao. kích thước 30 – 150 μm , không màu, chiết quang.
- Aciduric: hình thoi, mũi giáo, hoa thị cánh nhọn, hình ngôi sao, màu vàng hay nâu đỏ.
- Amoniurat: hình cầu gai, xương rồng, hình bó kim, kích thước 20 μm , màu vàng, chiết quang.
- Phosphatricalci: hạt nhỏ, không có hình thù nhất định, tan trong acid.
- Sunfadiazin : hình bó mạ, hình chổi.
- Sunfathiazon: hình lục lăng.
- Sunfa pyridin: hình lá đu đủ.
- Cholesterol: là những bản mỏng, không màu trong suốt, chồng lên nhau.
- Phosphatdicalci: hình tam giác, góc nhọn, chụm thành hình hoa thị.

Có thể tham khảo, đối chiếu với các hình ảnh dưới đây để kết luận khi thực hiện xét nghiệm:

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Trong xét nghiệm này, ngoài các tiêu chí nhận định kết quả của các loại tế bào thì việc nhận định kết quả các loại cận, tinh thể có mặt trên các vi trường quan sát cũng rất quan trọng. Vì vậy, kinh nghiệm của người làm kỹ thuật góp phần tích cực đến kết quả xét nghiệm. Các ảnh hưởng không tốt tới kết quả xét nghiệm được ghi nhận thường gặp ở các trường hợp:

- Bệnh phẩm để quá lâu mới mang tới phòng xét nghiệm (>3 giờ) và khi đó thường có biểu hiện nhiễm khuẩn.
- Sự trung thực của người lấy mẫu (có thể lẫn nước hoặc nguyên nước khi không muốn đi tiêu).

XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU

(Bảng máy tự động)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm tế bào nước tiểu bằng máy tự động là kỹ thuật xét nghiệm hiện đại thể hiện sự tiến bộ khoa học và đồng bộ kỹ thuật chuyên môn. Mẫu nước tiểu sẽ được phân tích hoàn toàn nhờ khả năng hút mẫu – chụp ảnh và phân tích tế bào hoàn toàn tự động, dựa vào ngân hàng dữ liệu được cài đặt sẵn trong ổ cứng máy tính.

II. CHỈ ĐỊNH

Xét nghiệm cơ bản.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật y học.

2. Phương tiện, dụng cụ

2.1. Dụng cụ

- Giá cắm ống bệnh phẩm
- Ống nghiệm đựng nước tiểu có kích thước phù hợp với máy xét nghiệm.
- Cuvette phù hợp với máy xét nghiệm
- Dụng cụ vệ sinh vị trí xét nghiệm (gạc, nước sát khuẩn, cồn 70°).

2.2. Hóa chất

Dung dịch rửa phù hợp với máy.

2.3. Máy và trang thiết bị

- Kiểm tra an toàn nguồn điện.

b. Bật máy

- Bật lần lượt theo thứ tự sau.
- Mở cổng kết nối (nếu sử dụng hệ thống LIS)
- Bật nút nguồn của máy xét nghiệm.
- Bật máy tính PC và màn hình.

Phần mềm sẽ tự động kích hoạt sau khi cửa sổ (Windows) khởi động.

Nếu có cửa sổ Login thì nhập tên người dùng (Username) và mật khẩu (Password).

Hệ thống sẽ tự động kết nối và khởi động

Nếu các đèn báo trên màn hình có màu xanh, báo hiệu máy sẵn sàng làm việc.

3. Bệnh phẩm: Mẫu nước tiểu được gửi đến từ bệnh phòng hoặc lấy trực tiếp tại nơi khám bệnh.

Bệnh phẩm đạt yêu cầu:

- Phù hợp thông tin giữa giấy xét nghiệm và ống nghiệm.

- Không có dị vật trong ống nghiệm.

- Bệnh phẩm nước tiểu mới bài tiết thường trong và có màu vàng nhạt do có sắc tố urobilin, để lắng một thời gian sẽ có màu vẩn đục do tế bào thượng bì và chất nhầy mucin tạo nên, ngoài ra còn do một số cặn uric, urat, phosphat hoặc do protein, do mỡ hoặc do lẫn máu, màu nâu do đá nhiều urobilin, màu vàng sẫm khi có nhiều bilirubin.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm có nội dung chỉ định phù hợp và có chữ ký của Bác sĩ ra chỉ định.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chạy thường quy (đo bệnh phẩm)

Đặt khay bệnh phẩm vào máy.

- Cần ít nhất 2ml bệnh phẩm để đo.

- Đổ nước tiểu lên que thử(test)

Nếu chạy theo thứ tự (Worklist) việc nhập đầu vào cho xét nghiệm được tuân thủ theo chương trình cụ thể của máy.

Chọn chế độ phân tích mẫu tự động (Auto Sample) hoặc mẫu chạy bằng tay (Manual Sample) theo chủ trương của Labo xét nghiệm.

Chọn [START] để bắt đầu đo.

Khi có kết quả xét nghiệm, mỗi bệnh phẩm tương ứng với một dòng mới khi được đo. Dòng tương ứng người bệnh này cũng hiển thị ngày giờ đo, số

Kết quả có thể được xem xét và chỉnh sửa theo chương trình của máy xét nghiệm cụ thể.

2. Cuối ngày làm việc: Tắt phần mềm và vệ sinh máy

Tắt máy:

- Tắt máy xét nghiệm

- Tắt máy tính.

- Thực hiện vệ sinh khay

3. Vệ sinh hàng tuần

Vệ sinh khay

- Tháo khay ra khỏi máy.

- Lau sạch bằng gạc hoặc khăn sạch thấm với dung dịch khử khuẩn

- Lắp lại khay.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nhấp đúp vào bất kỳ một dòng kết quả nào đó, ta có thể thấy tập hợp ảnh đo được của bệnh phẩm đó. Thư viện ảnh này cũng có thể mở bằng cách kích chọn dòng kết quả. Sau khi xem xong ấn [CLOSE] để thoát.

- Chỉnh sửa thông tin người bệnh hoặc kết quả xét nghiệm bằng cách nhấp đúp lên hình ảnh đo của bệnh phẩm và thao tác tùy theo giao diện của từng máy. Sau đó nhấp [CLOSE] để đóng lại.

- Để chuyển một kết quả tới LIS (Laboratory Information System – Hệ thống thông tin của phòng thí nghiệm), chọn [OUTPUTS] (xuất), sau đó chọn [TRANSFER](chuyển).

+ Để in một kết quả chọn [OUTPUTS] \ [PRINT] (xuất\in).

+ Để xuất một dữ liệu chọn [OUTPUTS] \ [EXPORT] (xuất dữ liệu).

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nguồn điện không ổn định

- Nạp mẫu không đủ theo quy định hoặc bị sai bệnh phẩm với thông tin người bệnh.

- Dụng cụ không phù hợp với máy mà phòng xét nghiệm có

- Công tác bảo dưỡng không được thực hiện định kỳ (bảo dưỡng hàng ngày, hàng tuần...).

- Có sự sai khác về chương trình của máy xét nghiệm.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT LẤY MẪU MÁU LÀM XÉT NGHIỆM VI SINH

1. Chuẩn bị:

- Dây Garô, bông thấm
- Cồn 70⁰ (hay cồn Iod)
- Kẹp, pince vô trùng
- Găng tay vô trùng
- Bơm kim tiêm, đèn cồn, diêm quẹt.
- Bình canh thang BHI (hoặc cây máu nếu có)
- Hộp đựng dụng cụ thải sau khi lấy mẫu.

2. Tiến hành:

- Lấy máu tĩnh mạch.
- Giải thích, động viên bệnh nhân, hướng dẫn bệnh nhân tư thế ngồi lấy máu.
- Buộc dây Garô, sát khuẩn vùng da nơi lấy máu.
- Đốt đèn cồn .
- Đeo găng tay vô trùng.
- Mở bình canh thang BHI (để trong bán kính từ ngọn lửa đèn cồn 10cm)
- Sát khuẩn lại vùng da tĩnh mạch đã chọn.
- Chọc kim nhanh vào tĩnh mạch, lấy đủ số máu cần thiết (1/10 thể tích canh thang)
- Bơm máu vào bình canh thang trên ngọn lửa đèn cồn. Đậy nắp lắc nhẹ để máu khỏi đông.
- Ghi tên, mã bệnh nhân, khoa phòng, giờ, ngày, tháng lấy mẫu vào nhãn bình.
- Ghi vào số theo dõi (theo thứ tự tiếp theo).
- Ghi số thứ tự của mẫu vào bình BHI đã cấy, để ủ ấm 35⁰ - 37⁰ .

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY DỊCH NÃO TỦY

I. Nguyên lý:

- Dịch não tủy được chọc dò để khảo sát vi sinh lâm sàng trước các bệnh nhân có các triệu chứng nghi ngờ viêm màng não.
- Cây dịch não tủy để tìm vi khuẩn gây viêm màng não.

II. Chuẩn bị:

- Dịch não tủy (DNT) phải được các bác sĩ chuyên khoa chọc dò, phương pháp vô trùng.
- Chọc dò tủy sống là một thủ thuật quan trọng, chỉ được tiến hành ở nơi có đủ điều kiện cần thiết.
- Chọc dò tủy sống ở vị trí lưng 4 - 5, lấy khoảng 2 - 3ml DNT cho vào ống nghiệm vô khuẩn, gửi ngay đến phòng XN.
- Các bước:

- + Sát khuẩn vùng rộng bằng cồn Iod, trải khăn vô khuẩn.
- + Bệnh nhân ngồi trên ván cứng, để hở lưng
- + Dùng kim đặc biệt cỡ 80 - 80/10 có nòng thông.

Cắm kim giữa đốt sống lưng 4 và lưng 5, ấn kim sâu 4 - 5 cm và rút nòng thông ra, dịch não tủy sẽ chảy ra từng giọt.

- + Hứng dịch não tủy vào ống nghiệm vô khuẩn
- Cần nuôi cấy ngay trong vòng 2 giờ đầu sau khi lấy bệnh phẩm.

III. Tiến hành:

1. Quan sát màu sắc:

- Dịch não tủy bình thường: trong suốt và không màu, còn gọi là "nước khe đá".
- Bệnh lý: + Đục: Viêm màng não mủ.

+ Vàng chanh: Lao màng não,...

+ Tuy vậy một số trường hợp viêm màng não mủ thực sự nhưng đã dùng kháng sinh dở dang thì dấu hiệu này không điển hình, nhiều khi không nhìn thấy.

2. Ly tâm:

- Lấy toàn bộ dịch, ly tâm 3.000 vòng/ phút trong 10 phút.
- Lấy cặn, dàn 3 tiêu bản nhuộm đơn, Gram và Ziehl -Neelsen
- Phần cặn còn lại cấy vào các môi trường theo thường quy.

3. Nuôi cấy:

- Môi trường: Thường dùng:

+ Thạch máu

+ Thạch Choccola

+ Thạch Saboureaud (nếu nhuộm thấy có nấm)

- Các môi trường trên đáp ứng cho hầu hết các vi khuẩn gây viêm màng não mủ thường gặp hiện nay.

- Không cần thiết phải dùng môi trường có chất ức chế, vì dịch não tủy ở trong khoang kín, bình thường không có vi khuẩn, khi bị viêm thì thường do một loại vi khuẩn gây ra, có ít khả năng bị bội nhiễm các vi khuẩn từ bên ngoài.

- Lấy cặn đã ly tâm, cấy vào các môi trường kể trên. Cấy theo kỹ thuật 3 chiều để có những khuẩn lạc riêng rẽ.

- Để các môi trường đã cấy vào tủ ấm 37°C có 10%CO₂.

IV. Đọc kết quả:

- Quan sát các đĩa cấy sau 24 giờ

+ Nếu không thấy vi khuẩn mọc thì tiếp tục để vào trong tủ ấm đến 72 giờ

+ Nếu có dấu hiệu lâm sàng hoặc soi thấy hình thể nghi nấm thì phải để đến 7 ngày.

+ Nếu có vi khuẩn mọc, quan sát hình thái khuẩn lạc, tính chất tan máu nhuộm soi hình thể để chọn kỹ thuật xác định phù hợp.

- Xác định vi khuẩn:

+ Tùy thuộc vào từng loại vi khuẩn nghi ngờ mà chọn quy trình kỹ thuật phù hợp.

+ Xác định tính chất sinh vật hóa học.

+ Định danh vi khuẩn

- Những vi khuẩn gây viêm màng não:

+Trẻ sơ sinh: Streptococcus agalactiae (nhóm B), Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Các Enterobacteriaceae khác (Salmonella spp, Citrobacter spp).

+ Trẻ 06 tháng - 05 tuổi: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus* , *Neisseria meningitidis*.

+ Người lớn: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *M. tuberculosis*. Các vi khuẩn kỵ khí cũng có thể gặp. Virut, Ký sinh trùng, Nấm *Candida albicans* v.v...

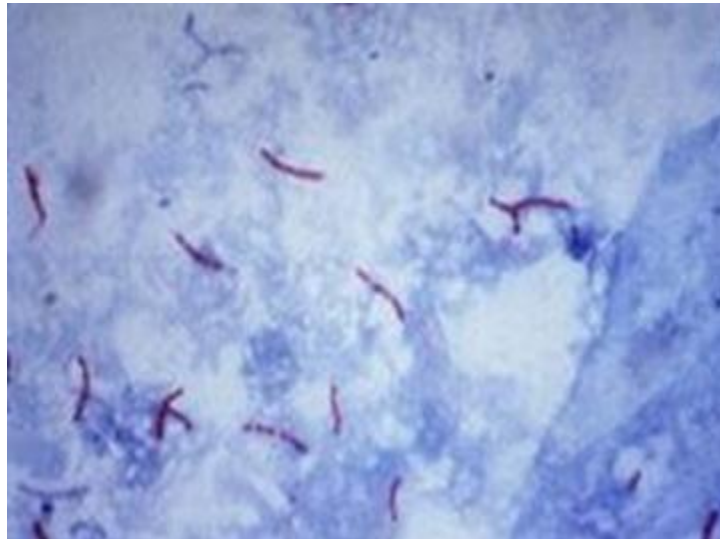
QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM VI KHUẨN LAO (AFB)

I. Nguyên lý:

Nhuộm Ziehl-Neelsen được sử dụng cho nhuộm soi AFB (Acid Fast Bacillus là trực khuẩn kháng axit). Chất nhuộm Tween 80+ DD fuchsin có phenol sẽ gắn hữu cơ với axit mycolic có trong vách tế bào vi khuẩn và không bị mất sau khi tẩy màu và nhuộm với xanh methylene, tạo hình ảnh trực khuẩn bất màu hồng đỏ đặc trưng cho vi khuẩn họ *Mycobacteria* trong vi trường, khi soi đọc kết quả dưới kính hiển vi quang học.

* Hình ảnh soi kính vi khuẩn lao điển hình

Hình ảnh vi khuẩn lao sau khi nhuộm soi dưới kính hiển vi thường, vật kính dầu độ phóng đại 1000 lần.



Hình ảnh: vi khuẩn lao sau khi nhuộm soi dưới kính hiển vi

II. Chuẩn bị:

1. Bệnh phẩm: Đờm

* Cách lấy mẫu bệnh phẩm

- Đưa bệnh nhân cốc đựng đờm đã dán nhãn, ghi đầy đủ thông tin bệnh nhân, hướng dẫn cách đóng nắp đảm bảo bệnh phẩm không rò rỉ và yêu cầu không làm mất, mờ thông tin trên nhãn.
- Hướng dẫn bệnh nhân hít thở sâu 2-3 lần, sau đó ho thật sâu từ trong lồng ngực và khạc đờm vào cốc đựng đờm bằng cách đưa cốc đựng vào sát miệng.
- Đảm bảo lấy được mẫu đờm đủ chất lượng và số lượng: 2-3ml đờm đặc, nhày. Nếu chưa đủ, yêu cầu bệnh nhân lấy thêm một mẫu đờm nữa.

** Cách bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm*

- Nếu bệnh phẩm được lấy tại thực địa và chưa thể thực hiện xét nghiệm ngay, bệnh phẩm phải được chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 3-4 ngày.
- Bệnh phẩm phải được giữ ở nhiệt độ lạnh hoặc mát trong hộp vận chuyển, luôn phải được đặt theo phương thẳng đứng.

2. Thiết bị, dụng cụ:

- Cabin an toàn, Bể nhuộm, Lam kính, Đèn cồn, Que phết bệnh phẩm, Túi đựng rác thải y tế, Hộp đựng bông cồn dùng cho lau khử trùng dụng cụ, Bông, gạc.

3. Hoá chất, thuốc thử:

- Dung dịch nhuộm Đỏ fuchsin có phenol.
- Dung dịch Tween 80
- Dung dịch xanh Methylene 0,3%
- Dung dịch cồn - axit 3% : (Cồn tuyệt đối: 97ml + HCl đđ: 3 ml)

III. Tiến hành

- Bước 1:

Chuẩn bị dung dịch nhuộm bằng cách trộn 02 giọt Dung dịch Tween 80 với 100 ml dung dịch Đỏ fuchsin có phenol để được dung dịch nhuộm.

- Bước 2:

+ Dùng lam kính mới, dán nhãn, ghi mã bệnh phẩm trên nhãn. đánh dấu vị trí phết bệnh phẩm bằng một vòng tròn bằng bút chì kính vào mặt dưới của lam kính.

+ Trong cabin an toàn, mở hộp bệnh phẩm, chọn vị trí đờm đặc, nhày, màu vàng, phết và dàn đều bệnh phẩm vào mặt trên ở vị trí đánh dấu.

- Bước 3:

Đặt lam kính lên giá đỡ của bể nhuộm, phủ đầy bề mặt lam kính với thuốc nhuộm ở bước 1 và cố định lam trong 02 phút.

- Bước 4:

Rửa lam kính với nước

- Bước 5:

Tẩy lam kính với cồn - axit 3% để tẩy màu trong 1- 5 phút cho đến khi các vết nhuộm sạch đi.

- Bước 6:

Rửa lam kính.

Rửa kỹ lam kính với nước và làm sạch các vết nước đọng trên lam.

- Bước 7:

Phủ đầy bề mặt lam kính với dung dịch xanh methylene 0,3%, để trong 1 phút.

- Bước 8:

Rửa kỹ lam kính với nước, để ráo nước

Đem lam kính soi dưới kính hiển vi, vật kính dầu.

Đọc kết quả.

Lưu lam kính xét nghiệm đến khi có yêu cầu hủy.

IV. Đọc kết quả:

Số lượng AFB	Kết quả	Mức độ	Số vi trường cần kiểm tra
0	Âm tính	Âm tính	100
1-9/100 vi trường	Dương tính	Ghi số lượng vi khuẩn	100
10-99/ 100 vi trường	Dương tính	1+	100
1-10/ 1 vi trường	Dương tính	2+	50
>10/ 1 vi trường	Dương tính	3+	20

* Độ tin cậy: Nếu kết quả dương tính, độ tin cậy của xét nghiệm nhuộm soi xác định AFB đạt 99%.

* *Chú ý:* Tiêu bản phải được giữ trong hộp bảo quản sau khi đã đọc kết quả để dùng cho việc đánh giá chất lượng sau này. Tiêu bản chỉ có thể hủy sau khi lưu trữ 6 tháng.

* Các biện pháp tránh dương tính giả:

- Chỉ sử dụng lam kính mới và không bị trầy xước.
- Không để dung dịch Tween + đỏ fuchsin có phenol bị khô trong suốt quá trình nhuộm.
- Tẩy màu thật sạch với dung dịch cồn - axit.
- Đảm bảo không lấy bệnh phẩm có lẫn thức ăn hoặc bất cứ tạp chất dạng sợi nào.
- Không để dụng cụ nhỏ dầu chạm vào lam kính.
- Không để vật kính chạm vào lam kính.
- Đảm bảo dán nhãn và viết thông tin chính xác trên hộp đựng đờm, lam kính và phiếu xét nghiệm.
- Ghi chép và thông báo kết quả chính xác.

* Các biện pháp tránh âm tính giả:

- Đảm bảo bệnh phẩm thu được là đờm, không phải nước bọt.
- Đảm bảo số lượng bệnh phẩm tối thiểu 2ml.
- Chọn phần bệnh phẩm đặc, nhày để phết kính.
- Phết bệnh phẩm đúng cách, không quá dày, không quá mỏng, hoặc quá ít.
- Cố định lam kính đúng thời gian, không quá nhanh, không quá lâu.
- Không tẩy lam kính quá mạnh với dung dịch cồn - axit.
- Soi mỗi lam kính ít nhất 5 phút, quan sát ít nhất 100 vi trường trước khi kết luận bệnh phẩm âm tính.
- Đảm bảo dán nhãn và viết thông tin chính xác trên hộp đựng đờm, lam kính và phiếu xét nghiệm.

* Các yêu cầu về an toàn:

- Phết và cố định bệnh phẩm phải được thực hiện trong cabin an toàn.
- Trong quá trình làm việc không đưa tay ra khỏi cabin an toàn.
- Chỉ đưa tay ra ngoài khi đã tháo bỏ găng tay.
- Bất cứ vật gì muốn đưa từ trong cabin an toàn ra ngoài đều phải lau khử trùng bề mặt với cồn 70⁰.

- Đổ cồn 70⁰ lên bề mặt làm việc và lau sạch bằng bông gạc sau khi làm việc.
- Sau khi được làm sạch, để cabin an toàn hoạt động 15 phút trước khi tắt.
- Bật đèn cực tím khử trùng ít nhất 30 phút.

*** Chất thải phát sinh và phương pháp xử lý:**

- Sau khi hoàn thành thí nghiệm, tất cả các dụng cụ trong cabin an toàn phải được lau khử trùng bề mặt trước khi đưa ra ngoài.
- Ống đựng đờm, và các vật liệu bằng nhựa, hoặc gỗ, bông được cho vào túi rác thải y tế, lau khử trùng sạch bên ngoài túi, buộc kỹ, thay găng tay, cho túi rác thải vào một túi sạch buộc kỹ để đưa đi đốt hoặc hấp tiệt trùng trước khi vứt bỏ.
- Các dụng cụ bằng thủy tinh, kim loại được khử trùng bề mặt bằng cồn 70⁰ và cho vào thùng khử trùng để đem hấp tiệt trùng và ngâm rửa để dùng lại. Trước khi dùng dụng cụ phải được hấp khử trùng một lần nữa ở nồi hấp khử trùng dụng cụ sạch.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY MỦ

I. Mục đích:

- Tìm vi khuẩn gây viêm nhiễm có mủ.
- Tất cả các trường hợp có mủ, chất dịch như:
 - Mủ áp xe.
 - Vết thương nhiễm trùng, bao gồm các vết loét, cắt, lở, mổ hậu phẫu, loét do nằm lâu.
 - Các mạch lươn.
 - Các mạch dẫn từ xoang hay hạch bạch huyết.
 - Các dịch tiết như dịch màng phổi, khớp, màng bụng.
 - Các mẫu nạo mủ xương khi giải phẫu.

II. Chuẩn bị:

1. Mẫu bệnh phẩm: - Cách lấy:

+ Ổ mủ kín: • Sát khuẩn da, chọc hút mủ bằng bơm kim tiêm vô trùng.

• Nếu lấy được nhiều thì đưa mủ vào ống nghiệm vô trùng, nếu được lấy được ít mủ thì cho cả bơm và kim tiêm vào 1 ống nghiệm rồi gửi ngay vào phòng xét nghiệm.

• Nếu ổ mủ mới hình thành, khó hút mủ, thì bơm vào ổ mủ 0,5ml nước muối sinh lý vô trùng rồi hút ra.

+ Ổ mủ đã vỡ, vết thương hở có mủ:

• Rửa qua bằng nước muối sinh lý vô trùng. Lấy mủ bằng que tăm bông vô khuẩn, nếu nhiều mủ thì hút mủ bằng bơm kim tiêm.

2. Dụng cụ:

Bông vô khuẩn, tăm bông, bơm kim tiêm, ống nghiệm, pipet, đầu col vàng, que cấy, lam kính, kính hiển vi quang học.

3. Hóa chất:

- Môi trường: Thường dùng:

+ Canh thang BHI

+ Thạch máu

+ Thạch Chocola

+ Thạch Mac - conkey

III. Tiến hành:

Nuôi cấy trong 6 giờ ở môi trường vận chuyển.

1. Xét nghiệm trực tiếp:

- Quan sát màu sắc, mùi và tính chất của mũ (mũ bã đậu gợi ý bệnh lao, mũ rất thối gợi ý 1 vi khuẩn kỵ khí).

- Dàn tiêu bản:

+ Nhuộm xanh Methylen: Quan sát tế bào bạch cầu.

+ Nhuộm Gram: Quan sát vi khuẩn

+ Nhuộm Zielh-Neelsen: Nghi ngờ lao (mũ có dạng bã đậu)

- Xét nghiệm trực tiếp có giá trị định hướng cho nuôi cấy: Trong một số trường hợp có giá trị chẩn đoán cao (lậu, dịch hạch).

2. Nuôi cấy phân lập vi khuẩn:

- Tùy thuộc vào kết quả nhuộm soi trực tiếp mà chọn môi trường nuôi cấy thích hợp.

- Trong đa số trường hợp, để tìm vi khuẩn hiếu khí thường gặp, người ta cấy vào các môi trường sau: Canh thang BHI, Thạch máu, Thạch Chocola, Thạch Mac - conkey.

- Để các môi trường trên vào tủ ấm 35 - 37⁰C.

- Sau 24 giờ quan sát vi khuẩn mọc trên các đĩa cấy, xem xét hình thái và màu sắc khuẩn lạc.

- Nếu vi khuẩn chỉ mọc trên ống canh thang mà không mọc trên thạch máu và Mac - conkey thì phân lập vi khuẩn từ canh thang bằng những môi trường thích hợp.

- Chọn khuẩn lạc nghi ngờ nhuộm xem hình thể.

- Xác định tính chất sinh vật hóa học thích hợp cho từng loại vi khuẩn.

- Định danh.

- Làm kháng sinh đồ.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY MÁU

I. Mục đích:

- Tìm vi khuẩn gây nhiễm khuẩn huyết trên bệnh nhân nghi nhiễm khuẩn huyết.

II. Chỉ định: Sốt nghi do nhiễm khuẩn huyết, Sốt kéo dài không rõ nguyên nhân, Bệnh tim sau nhũ răng có sốt, Sau phẫu thuật có sốt.

III. Chống Chỉ định:

- Không nên cấy máu khi:

Bệnh nhân đang điều trị kháng sinh.

Bệnh nhân không có sốt

Khi Bệnh nhân vừa truyền dịch, huyết thanh làm cho hàm lượng vi khuẩn trong máu bị pha loãng.

II. Chuẩn bị:

1. Mẫu bệnh phẩm:

- Cách lấy: Thực hiện theo quy trình lấy máu làm XN vi sinh.

- Chú ý: Lấy máu vào lúc đang cơn sốt. Nếu đang dùng kháng sinh phải ngừng ít nhất 24 -48 giờ.

2. Dụng cụ:

Bông vô khuẩn, tăm bông, bơm kim tiêm, ống nghiệm, pipet, đầu col vàng, que cấy, lam kính, kính hiển vi quang học.

3. Hóa chất:

- Môi trường: Thường dùng:

+ Canh thang BHI

+ Thạch máu

+ Thạch Choccola

III. Tiến hành:

- **Bước 1:** Lấy vô trùng 05 ml máu tĩnh mạch cho vào 50 ml canh thang BHI, tỉ lệ máu so với canh thang là 10%.

Đề ủ ấm 37⁰C. Kiểm tra bình máu hàng ngày.

- **Bước 2:** Quan sát vi khuẩn mọc:

Nếu có hiện tượng vi khuẩn mọc: Canh thang đục, có váng, có hạt. Lắc đều bình canh thang, dùng Pipet vô trùng hút khoảng 2 ml chuyển sang 1 đĩa thạch máu (với các trường hợp cần thiết có thể chuyển sang 1 đĩa thạch Choccola)

- **Bước 3:** Ủ ấm 37°C trong 24 giờ

- **Bước 4:** Nuôi cấy

- **Bước 5:** Đọc kết quả:

- Nếu sau 04 ngày theo dõi không thấy vi khuẩn mọc thì trả lời kết quả sơ bộ là âm tính, nhưng vẫn theo dõi tiếp đến ngày thứ 7.

- Nếu sau 07 ngày vẫn không thấy mọc vi khuẩn thì trả lời âm tính chính thức.

- Nếu từ 05 - 07 ngày có vi khuẩn mọc thì cấy chuyển vi khuẩn và trả lời thêm kết quả.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY NƯỚC TIỂU

I. Mục đích:

- Tìm vi khuẩn gây viêm nhiễm đường tiết niệu, niệu quản, bàng quang và viêm thận.

II. Chỉ định:

- Các trường hợp bác sĩ lâm sàng nghi ngờ nhiễm trùng nước tiểu cấp tính, mạn tính, có triệu chứng hay không có triệu chứng.

- Nên cho chỉ định cấy nước tiểu đối với các bệnh nhân có một trong các triệu chứng nghi ngờ bệnh nhân bị nhiễm trùng bàng quang như đái ra mủ, đái khó, đái ra máu, đái đau, đau tức vùng trên xương mu hay bụng dưới, hay nhiễm trùng thận như đau lưng, tức căng vùng góc sống - sườn.

II. Chuẩn bị:

1. Mẫu bệnh phẩm:

- Cách lấy: Lấy vào buổi sáng thực hiện vô khuẩn.

- Có hai cách lấy:

+ Lấy bằng kim tiêm chọc qua xương mu.

+ Lấy bằng ống thông rồi cho vào lọ vô khuẩn.

- Lấy nước tiểu giữa dòng sau khi đã vệ sinh sinh dục bằng xà phòng. Đi tiểu bỏ phần đầu, rồi hứng nước tiểu vào lọ vô khuẩn, gửi ngay tới phòng xét nghiệm.

2. Dụng cụ:

Bơm kim tiêm, ống nghiệm, pipet, đầu col, que cấy, lam kính, kính hiển vi quang học.

3. Hóa chất:

- Môi trường: Thường dùng:

+ Thạch máu

+ Thạch thường

+ Thạch Mac - conkey, thạch Sabaurrou

III. Tiến hành:

- **Bước 1:** Soi trực tiếp

+ Trộn đều nước tiểu rồi nhỏ 1 giọt trực tiếp trên lam. Chờ khô tự nhiên rồi nhuộm gram. Quan sát dưới vật kính dầu

+ Nếu có ít nhất 1 tế bào vi khuẩn và /hay bạch cầu hiện diện trên một quang trường, có thể nghi ngờ bệnh nhân bị nhiễm trùng tiểu. Có thể làm kháng sinh đồ trực tiếp từ mẫu nước tiểu này.

+ Nếu toàn phết nhuộm không hay phát hiện được rất ít tế bào vi khuẩn hay bạch cầu, bệnh nhân chắc chắn không bị nhiễm trùng tiểu.

Bước 2: Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 15 phút. Lấy cặn nước tiểu nhuộm Gram. Soi kính hiển vi nếu không thấy bạch cầu đa nhân thì thường là không viêm đường tiết niệu. Vì vậy không cần nuôi cấy.

+ Nếu nghi ngờ lao đường tiết niệu thì lấy cặn nhuộm Zielh-Neelsen.

- Bước 3: Cấy nước tiểu:

+ Cấy đếm số lượng vi khuẩn:

Cấy từ nước tiểu chưa ly tâm, trong vòng 2 giờ đầu sau khi lấy bệnh phẩm. Nếu để quá thời gian số lượng vi khuẩn sẽ tăng lên.

* Có hai kỹ thuật cấy:

• Dùng que cấy chuẩn:

Có đường kính 3mm, lấy được 1 lượng nước tiểu ổn định 1/1.000ml.

Cấy trên đĩa thạch: Thạch máu hoặc thạch thường. Thạch Mac - conkey.

Đề 37⁰C trong vòng 18 -24 giờ

Đếm số lượng khuẩn lạc, từ đó tính ra số lượng vi khuẩn trong 01 ml nước tiểu.

• Cấy theo độ pha loãng nước tiểu:

Pha loãng nước tiểu với nước muối sinh lý vô khuẩn thành 2 nồng độ 1/10 và 1/100.

Lấy 0,05ml ở mỗi nồng độ nhỏ vào đĩa thạch đàn đều.

Đề 37⁰C trong vòng 18 - 24 giờ.

Đếm số lượng khuẩn lạc trên đĩa cấy x độ pha loãng x 20 (0,05ml = 1/20ml)

ra số lượng vi khuẩn có trong 01 ml nước tiểu.

IV. Đọc kết quả

1. Số lượng vi khuẩn < 10.000/ml: Không có nhiễm khuẩn đường tiết niệu (trừ trường hợp nước tiểu lấy từ bàng quang ra soi).

2. Số lượng vi khuẩn từ 10.000 - 100.000/ml.

- + Nếu không có triệu chứng lâm sàng phải XN lại
- + Nếu có triệu chứng lâm sàng hoặc có Bạch cầu trong tiêu bản nhuộm thì có thể là viêm đường tiết niệu.

3. Số lượng vi khuẩn > 100.000/ml thì kết luận là nhiễm trùng đường tiết niệu (kể cả không có triệu chứng lâm sàng).

Nếu thấy nhiều hơn 02 loại khuẩn lạc thì dù số lượng vi khuẩn > 100.000/ml cũng phải cho làm bội nhiễm và phải lấy nước tiểu cấy lại.

* Xác định vi khuẩn:

Chọn khuẩn lạc nghi ngờ (khuẩn lạc chiếm đa số trên môi trường cấy đếm) nhuộm Gram để kiểm tra hình thể.

Xác định tính chất sinh vật hóa học.

Định danh

Làm kháng sinh đồ.

* Những vi khuẩn gây nhiễm trùng tiết niệu thường gặp:

- Trực khuẩn Gram âm:

+ Trực khuẩn E. coli.

+ Trực khuẩn Klebsiella

+ Trực khuẩn Proteus

+ Trực khuẩn Pseudomonas

- Cầu khuẩn Gram dương:

+ Enterococcus: liên cầu đường ruột

+ Tụ cầu hoại sinh.

+ Liên cầu tan huyết α , β

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY PHÂN

I. Mục đích:

Xét nghiệm phân nhằm phân lập xác định những vi khuẩn gây bệnh đường tiêu hoá: Shigella, Salmonella, E.coli, Vibrio,...

II. Chuẩn bị:

1. Bệnh phẩm:

- Bệnh phẩm cần được lấy sớm ngay từ giai đoạn đầu của bệnh, tốt nhất là lấy trước khi sử dụng kháng sinh.
- Lấy phân sau khi BN đi ngoài ra bờ sạch: chọn chỗ phân có biểu hiện bệnh lý như nhầy mũi, máu, hạt lờn nhón là nơi khả năng có nhiều vi khuẩn.
- Lấy phân từ trực tràng bằng que tăm bông vô khuẩn có thể cho kết quả tốt hơn trong bệnh lý trực khuẩn nếu ta cọ mạnh đầu que tăm bông vào niêm mạc.
- Bệnh phẩm cần được Xn càng sớm càng tốt, chậm nhất không quá 2 giờ.
- nếu gửi bệnh phẩm đi xa phải cho vào môi trường vận chuyển Cary-Blair.
- Bệnh phẩm đã nhận ở phòng XN nếu chưa nuôi cấy ngay phải BQ ở 4 -6⁰C

2. Dụng cụ:

Que cấy, tủ ấm, que tăm bông vô khuẩn

3. Hoá chất:

- Bộ nhuộm Gram, xanh Methylen, NaCl 0,9% vô khuẩn.
- Môi trường: Thạch SS, Thạch MC

III. Tiến hành:

1. Xét nghiệm trực tiếp:

- Khi cấy phân cần phải XN trực tiếp, cho ta những nhận định đầu tiên, hướng dẫn bước cấy tiếp theo.

2. Soi tươi:

- Quan sát tính di động nhanh của phẩy khuẩn tả trong phân của BN tả.
- Tìm ly amíp trong hội chứng ly, để chẩn đoán phân biệt với ly trực khuẩn.

3. Nhuộm xanh Methylen:

* Kỹ thuật nhuộm:

- Nhỏ 2 giọt xanh methylen lên phiến kính sạch. Hoà bệnh phẩm vào thuốc nhuộm thành một huyền dịch, trộn kỹ.
- Dùng lam kính đặt lên huyền dịch để 2 -3 phút.
- Soi kính hiển vi tìm tế bào bạch cầu.

* Nhận định kết quả:

- Rất nhiều bạch cầu (hầu hết là bạch cầu đa nhân) trong bệnh lý trực khuẩn (hơn 30 tế bào/vi trường)
- Nhiều bạch cầu trong bệnh Salmonella và E. coli (loại EIEC)
- Rất ít bạch cầu trong bệnh tả và E. coli (loại ETEC), ít hơn 5 tế bào/ vi trường.

4. Nhuộm Gram:

- Phân bình thường đại đa số là trực khuẩn Gram âm
- Trong loạn khuẩn: trực khuẩn Gram âm chiếm tỉ lệ rất thấp, có thể không thấy, có nhiều cầu khuẩn Gram dương, trực khuẩn Gram dương, nấm men.

5. Phân lập vi khuẩn:

a. Kỹ thuật cấy:

- Dùng que tăm bông vô khuẩn chứa bệnh phẩm phết thành 1 vùng nhỏ trên mặt thạch rồi dùng que cấy vô khuẩn ria cấy theo 3 chiều.
- Hoà thành huyền dịch với 1ml nước muối sinh lý, dùng que cấy để cấy vào môi trường phân lập.

b. Phân lập Shigella, Salmonella, E.coli:

- Cấy vào môi trường SS và MC. Người lành nghi ngờ mang Salmonella thì cấy một lượng lớn bệnh phẩm vào môi trường phong phú Mueller- kaffman. Sau 24 giờ/37⁰C cấy chuyển từ môi trường phong phú sang 2 loại môi trường trên.

c. Chọn và bắt khuẩn lạc:

- Trường hợp bệnh cấp tính, chưa dùng kháng sinh thường thấy vi khuẩn tả phạm có số lượng nhiều hơn các vi khuẩn khác.
- Sau 24 giờ/37⁰C nhận dạng các khuẩn lạc nghi ngờ. Shigella, Salmonella mọc khuẩn lạc trong , không làm thay đổi màu môi trường vì không lên men đường lactoza. E. coli có khuẩn lạc màu hồng cánh sen trên môi trường MC và làm biến đổi màu môi trường thành đỏ, do lên men đường lactoza.

d. Xác định vi khuẩn:

- Nhuộm Gram khuẩn lạc nghi ngờ.
- Xác định tính chất sinh vật hoá học trên các môi trường KIA, MIU.
- Để 37⁰C trong tủ ẩm
- Sau 24 giờ đọc các tính chất sinh vật hoá học.
- Tính chất sinh vật hoá học của Salmonella, Shigella, E.coli:

Vi khuẩn	KIA				Di động	Indol	Ureaza
	Glucoza	Lactoza	H ₂ S	Gaz	M	I	U
Salmonella	+	-	+/-	+/-	+	-	-
Shigella	+	-	-	-/+	-	-/+	-
E.coli	+	+	-	+	+	+	-

- Làm phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh mẫu:

Các huyết thanh mẫu cần có:

+ Kháng huyết thanh Salmonella:

- Kháng huyết thanh O các nhóm : A, B,C, D
- Kháng huyết thanh Vi
- Kháng huyết thanh H: a, b, d và i.

+ Kháng huyết thanh Shigella:

- Kháng huyết thanh đa giá nhóm A (Sh. Dysenteriae)
- Kháng huyết thanh đa giá nhóm B (Sh. Flexneri)
- Kháng huyết thanh đa giá nhóm C (Sh. Boydii)
- Kháng huyết thanh đa giá nhóm D (Sh. sonnei)

+ Kháng huyết thanh E. coli:

- Kháng huyết thanh đa giá
- Kháng huyết thanh các typ thường gặp: O55: B5, O26 : B6, O86 : B7...

Làm phản ứng với kháng huyết thanh các nhóm, nếu vi khuẩn ngưng kết với kháng huyết thanh của nhóm nào thì dựa vào sự ngưng kết đó để kết luận.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM KHÁNG SINH ĐỒ

I. Chuẩn bị:

1. Mẫu bệnh phẩm: Các khuẩn lạc đã được phân lập sau khi nuôi cấy
2. Hóa chất: Bộ khoan giấy kháng sinh để làm kháng sinh đồ, bao gồm các loại kháng sinh như: Ampicillin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Gentamicin, Doxycilin, Erythromycin, v.v...

II. Tiến hành:

- + Vi khuẩn gây bệnh đã thuần nhất, được nuôi cấy qua đêm .
- + Pha loãng hỗn dịch vi khuẩn.
- + Dàn đều hỗn dịch vi khuẩn lên mặt thạch, độ dày thạch là $4 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$
- + Đặt các khoan giấy kháng sinh lên mặt thạch (mỗi khoan cách nhau $\geq 2 \text{ cm}$ và cách thành đĩa $\geq 1 \text{ cm}$), để ở nhiệt độ phòng 20 phút.
- + Ủ ấm ở tủ 37°C qua đêm (16 - 18 giờ).

III. Đọc kết quả:

- Mật độ khuẩn lạc: nơi không có kháng sinh hoặc có với nồng độ quá thấp không đủ ức chế được vi khuẩn, chúng sẽ mọc thành những khuẩn lạc dày sát nhau, nhưng không được mọc thành thảm hoặc cách nhau thưa, vì mật độ vi khuẩn quá dày sẽ làm đường kính vùng ức chế thu nhỏ lại và quá mỏng sẽ làm mở rộng vùng ức chế .
- Đo đường kính vùng ức chế của khoan giấy kháng sinh bằng thước đo milimét .

IV. Đánh giá kết quả và ứng dụng:

+ So sánh vào bảng "giới hạn đường kính vùng ức chế" để phân loại loại nhạy cảm, loại trung gian, loại đề kháng. Mỗi hãng sản xuất khoan giấy kháng sinh có một bảng giới hạn riêng để xếp loại, vì vậy nên chú ý đến các điều kiện thí nghiệm phù hợp, thống nhất với quy định của hãng đó .

+ Kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán ra môi trường xung quanh đĩa thạch. Độ khuếch tán phụ thuộc vào tính chất của từng loại kháng sinh và độ dày của môi trường. Vì vậy càng xa nơi đặt khoan giấy, nồng độ kháng sinh càng thấp và ngược lại, càng gần nơi đặt khoan giấy nồng độ kháng sinh càng cao.

+ Nơi có kháng sinh, vi khuẩn không phát triển được gọi là vùng ức chế . Đường kính vùng ức chế lớn, thì chứng tỏ vi khuẩn nhạy cảm với kháng sinh đó. Ngược lại, đường kính vùng ức chế nhỏ, chứng tỏ vi khuẩn đề kháng kháng sinh này, vì gần khoan giấy nồng độ kháng sinh cao mà vi khuẩn vẫn phát triển được.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM NHUỘM GRAM

I. Nguyên lý:

Dựa trên sự khác nhau về cấu trúc của vách, nên trong quá trình nhuộm Gram, vi khuẩn Gram dương sẽ giữ được phức hợp tím gentians-iod không bị tẩy màu bởi alcohol, trong khi vi khuẩn Gram âm không giữ được phức hợp này. Do vậy, kết quả sau khi nhuộm là vi khuẩn Gram dương vẫn giữ được màu tím của gentians, còn vi khuẩn Gram âm bắt màu hồng của fucshin.

II. Chuẩn bị:

1. Dụng cụ: Kính hiển vi, que cấy đầu tròn, đèn cồn, diêm, lam kính, chậu rửa, bình xịt nước cất.

2. Hoá chất:

- Dung dịch tím gentians
- Dung dịch Lugol
- Dung dịch cồn 95%
- Dung dịch fucshin kiềm

3. Mẫu thử: dịch cơ thể hoặc mẫu sinh thiết bị nghi ngờ nhiễm khuẩn. Bệnh phẩm cần xác định vi khuẩn Gram âm (*E.coli*, *Salmonella*,.. Gram dương (*S. aureus*, *Bacillus cereus*)

III. Tiến hành

- **Bước 1:** Dàn tiêu bản và cố định tiêu bản:

Dùng que cấy vô trùng lấy một ít bệnh phẩm vào 1 giọt nước muối sinh lý ở giữa phiến kính, để khô trong phòng thí nghiệm. Cố định tiêu bản bằng cách hơi nhanh trên ngọn lửa đèn cồn 2-3 lần để gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính. Việc cố định nhằm 3 mục đích: giết chết vi khuẩn, gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính và làm vết bôi bắt màu tốt hơn vì các tế bào chết bắt màu tốt hơn các tế bào sống.

- **Bước 2:** Nhuộm màu:

- Nhỏ dd tím Gentian lên tiêu bản đã cố định, để 01 phút, nghiêng tiêu bản đổ dd tím Gentian, rửa nước nhẹ .

- Nhỏ dd Lugol lên tiêu bản, để 30 giây, nghiêng tiêu bản đổ dd Lugol, rửa nước nhẹ .

- **Bước 3:** Khử màu:

- Nhỏ vài giọt cồn 95⁰ lên tiêu bản, nghiêng phiến kính qua lại để cho cồn chảy từ cạnh phiến kính bên này sang cạnh phiến kính bên kia giữ khoảng 30 giây (cho đến khi vừa thấy mất màu), mắt quan sát màu tím, khi nào thấy màu tím trên đồ phiến vừa phai hết thì rửa nước ngay.

- Nhuộm tiếp dd Fuchsin bằng cách nhỏ dd Fuchsin lên tiêu bản, để 01 phút, nghiêng tiêu bản đổ thuốc nhuộm, rửa nước kỹ .

- Để khô tiêu bản, soi kính hiển vi với vật kính dầu X 100.

IV. Đọc kết quả:

- Các vi khuẩn bắt màu tím là Gram dương,

- Các vi khuẩn bắt màu hồng là Gram âm .

IV. Nguyên nhân sai lầm:

- Có những sai lầm trong phương pháp nhuộm Gram làm cho vi khuẩn Gram dương nhuộm thành màu hồng của vi khuẩn Gram âm, đó là:

+ Phết vi khuẩn ở lứa cây quá già (trên 24h), cấu trúc vách vi khuẩn gram dương không còn bền chặt như ở lứa cây trẻ, do vậy mất khả năng ngăn cản sự tẩy màu của cồn.

+ Dung dịch lugol không còn tốt, do đã pha quá lâu và mất đi iod. Trường hợp này có thể nhận biết khi dung dịch lugol không còn sậm màu.

+ Tẩy màu bằng cồn quá lâu đã làm cho vi khuẩn Gram dương cũng bị tẩy màu.

- Có những sai lầm trong phương pháp nhuộm Gram làm cho vi khuẩn Gram âm nhuộm thành màu tím của vi khuẩn Gram dương, đó là:

+ Phết vi khuẩn quá dày làm cho cồn không thể tẩy màu toàn bộ vi khuẩn trong phết nhuộm.

+ Tẩy màu bằng alcohol quá ngắn hay dung dịch alcohol bị pha quá loãng làm cho màu Gram không được tẩy khỏi tế bào vi khuẩn.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM NHUỘM ZIEHL-NEELSEN

I. Nguyên lý:

- Các trùng bào tử đường ruột (*Cryptosporidium*, *Cyclospora* ...) khó được xác định bằng cách soi phân trực tiếp. Vì vậy, người ta dùng phương pháp nhuộm để tạo sự tương phản giữa màu của KST và nền căn bã phân.
- Kỹ thuật nhuộm Ziehl-neelsen cải tiến được dùng dựa trên đặc điểm kháng acid của các KST này. Nguyên tắc của kỹ thuật này là nhuộm tiêu bản phân bằng carbon fuschin, sau đó tẩy màu và nhuộm nền tiêu bản bằng màu xanh.
- Do có tính kháng acid nên các trùng bào tử giữ lại màu hồng của fuschin.
- Kỹ thuật nhuộm Ziehl-neelsen cải tiến có thể áp dụng cho phân tươi, hoặc phân được cố định trong formon, hoặc các loại bệnh phẩm khác.

II. Chuẩn bị:

1. Dụng cụ: Kính hiển vi, lam kính, giá đựng lam kính, que tăm bông vô khuẩn, găng tay.

2. Hoá chất:

- DD Đỏ-fuchsin
- Cồn acid (HCl đđ:3ml + cồn ethylic 95⁰: 97ml)
- DD Xanh Methylene 3%.

3. Mẫu thử: đờm, các loại bệnh phẩm khác như dịch hút tá tràng, mật,...

III. Tiến hành:

- Bước 1: Dàn tiêu bản :

Trước khi dàn tiêu bản, KTV kiểm tra số XN ở trên thành lọ đờm xem có trùng với số ở phiếu xét nghiệm không .

Dùng que cây lấy mẫu đờm vàng hoặc mũ đặt lên lam, dàn đờm trải ra với kích thước 1 x 2 cm, dàn theo đường xoắn ốc liên tục từ trong ra ngoài .

Chú ý : Dàn tiêu bản :

- Không quá nhỏ
- Không quá lớn
- Không đều
- Không quá dày và quá mỏng

- Bước 2: Để tiêu bản khô tự nhiên .

- **Bước 3: Cố định tiêu bản :** Bằng cách hơi nhanh qua lửa 3-4 lần, không hơi nóng tiêu bản quá lâu . Xếp tiêu bản lên giá nhuộm .

* **Nhuộm lạnh tiêu bản bằng Fucsin kiềm .**

+ Đổ Fucshin lên tiêu bản để 02 phút , rửa nước

+ Ngâm tiêu bản vào hỗn hợp cồn acid cho đến khi phai hết màu đỏ . Rửa nước

+ Nhỏ dd Xanh Methylen 0,3 % để 1 phút rửa nước để khô

+ Soi bằng vật kính dầu

IV. Đọc kết quả:

- Nếu thấy > **10** vi khuẩn trong 1 vi trường là dương tính (+++)
- Nếu thấy từ **1 - 10** vi khuẩn trong 1 vi trường là dương tính vừa (++)
- Nếu thấy từ **10 - 99** vi khuẩn trong 100 vi trường là dương tính (+)

Nếu không tìm thấy vi khuẩn trên 300 vi trường là âm tính .

V. Nguyên nhân sai lầm:

- Nếu làm phết phân quá dày, thuốc nhuộm có thể không ngấm vào tất cả các KST, có thể làm sai lệch kết quả.

- Khi tẩy màu, nếu tẩy kỹ quá (thời gian tẩy kéo dài hoặc nồng độ acid đậm) sẽ làm cho KST không còn bắt màu sau khi nhuộm.

- Nếu nhiễm nhẹ, có thể không tìm thấy KST. Nên xét nghiệm 3 lần, mỗi lần cách nhau vài ngày để không bỏ sót ca bệnh.

D. CÁC KỸ THUẬT GIẢI PHẪU BỆNH TRIỂN KHAI TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA HUYỆN BỐ TRẠCH.

KỸ THUẬT CHỌC HÚT TẾ BÀO BẰNG KIM NHỎ (FNA) NHẪM PHÁT HIỆN CÁC BỆNH LÝ CÁC HẠCH LYMPHO NGOẠI VI

I. ĐẶT VẤN ĐỀ:

Bệnh lý các hạch lympho ngoại vi khá đa dạng. Bao gồm bệnh hạch ác tính (u lympho ác tính), hạch di căn ung thư, bệnh hạch viêm đặc hiệu (hạch viêm lao), hay bệnh viêm hạch không đặc hiệu. Tất cả những bệnh lý này có thể phát hiện được một cách khá đơn giản chỉ bằng một xét nghiệm cơ bản đó là xét nghiệm chọc hút tế bào bằng kim nhỏ (FNA- Fine Needle Aspiration).

II. QUY TRÌNH KỸ THUẬT:

1. NGUYÊN LÝ: Tất cả các hạch sờ nắn được trên bề mặt cơ thể. Dùng bơm tiêm gắn kim đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ mô hạch đi vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của hạch.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01
- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh – tế bào bệnh học: 01

2.2. Phương tiện, hóa chất

- Phòng để thực hiện kỹ thuật từ 15-20 m², đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.
- Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho BN (1), giường BN nằm (1), gô kê gáy bệnh nhân (1).
- Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.
- Kẹp không máu (1), kéo (1).
- Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông còn để sát trùng vùng chọc (1).
- Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.
- Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).
- Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

- Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.
- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số BN.
- Giá để đựng phiến kính đã dãn bệnh phẩm (phiến đồ).
- Bút chì mềm ghi mã số bệnh nhân, vị trí chọc hút trên phiến kính.
- Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷ lệ 1/1).
- Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP...)
- Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút
- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.
- Các dung dịch sát khuẩn.
- Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).
- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên BN, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.
- Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng BN, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.
- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.
- Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

2.3. Chuẩn bị bệnh nhân (với các BN tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc)

- Giải thích cho bệnh nhân (hoặc người nhà BN) về qui trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để BN yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.
- Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.
- Khám bệnh nhân xác định vị trí hạch cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

3. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

3.1. Lấy bệnh phẩm

- + Bộc lộ vị trí hạch cần chọc hút (BN có thể nằm hoặc ngồi tùy vị trí hạch cần bộc lộ để làm thủ thuật cho thuận tiện).
- + Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.
- + Chọc hút để lấy bệnh phẩm: cố định vị trí hạch cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm xuyên qua da vào hạch, hút dưới áp lực âm để dịch chọc vào trong lòng kim. Trước khi rút mũi kim ra khỏi hạch, cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da. Có thể chọc hút nhiều vị trí trên hạch (nếu hạch >1,5) hoặc chọc hút nhiều hạch (cần đánh dấu thứ tự hạch hoặc vị trí hạch được chọc hút trên phiến kính).

+ Sát trùng lại vị trí đã chọc hút hoặc băng lại nếu cần.

3.2. Làm phiến đồ

+ Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

+ Kéo pitông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

+ Lắp kim vào bơm tiêm.

+ Nhanh chóng gạt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số BN.

+ Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

3.3. Cố định phiến đồ: bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

3.4. Nhuộm các phiến đồ: theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grunwald Giemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

3.5. Nhận định kết quả: trên kính hiển vi quang học bởi bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

4. KẾT QUẢ

- Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô hạch, có đủ thành phần của mô tổn thương để chẩn đoán.

- Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

- Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

- Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương.

Hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm hạch di động: cần ấn ngón tay giữ chặt hạch cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối >1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần gạt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

- BN không hợp tác: thuyết phục giải thích.

- Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

- Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc vào trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dãn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dãn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.
- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, khí quản...): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.
- Nên yêu cầu BN không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để BN yên tâm. Nếu BN bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho BN nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

III. KẾT LUẬN:

Quy trình kỹ thuật chọc hút tế bào bằng kim nhỏ (FNA) các hạch lympho ngoại vi là một quy trình đơn giản, tiện ích, có thể thực hiện được ở tất cả các Khoa giải phẫu bệnh, phòng xét nghiệm tế bào học từ trung ương đến địa phương. Chi phí ít, dễ thực hiện, khả năng phát hiện bệnh lý cao.

Đây là một quy trình kỹ thuật nên được áp dụng rộng rãi trong cộng đồng nhằm phát hiện sớm bệnh lý và giảm tối thiểu chi phí khám chữa bệnh.

- Căn cứ kế hoạch của bệnh viện.
- Căn cứ các kỹ thuật đã được đào tạo, nhân lực cán bộ tại khoa xét nghiệm.
- Căn cứ trang thiết bị đã được trang cấp cho phòng giải phẫu bệnh.

Khoa xét nghiệm triển khai các kỹ thuật xét nghiệm giải phẫu bệnh tại bệnh viện Đa Khoa Bồ Trách nhằm đảm bảo việc phân tuyến kỹ thuật đồng thời góp phần cho việc chẩn đoán phát hiện bệnh sớm.

CÁC KỸ THUẬT KHÁC

I. KỸ THUẬT SINH THIẾT TUYẾN VÚ BẰNG CHỌC HÚT KIM NHỎ

1. Định nghĩa:

- Sinh thiết tuyến vú bằng chọc hút kim nhỏ (FNA vú) là chọc hút bằng kim nhỏ để lấy đi một mẫu mô từ một tổn thương nghi ngờ ở vú để chẩn đoán bệnh lý tuyến vú.
- Kim nhỏ là kim G22-26 (đường kính ngoài của kim: 0.6 – 0.9 mm) (thường dùng kim G25).
- Tổn thương nghi ngờ là tổn thương không có chẩn đoán chắc chắn hoặc không rõ ràng.

2. Chỉ định:

Chủ yếu để xác định tổn thương vú là lành hay ác.

3. Chống chỉ định:

Hầu như không có.

4. Biến chứng:

- Xuất huyết, hematoma tại vị trí chọc hút.
- Tràn khí màng phổi (rất hiếm).

5. Ưu điểm:

- Đơn giản, an toàn, nhanh chóng, rẻ tiền, thẩm mỹ nhưng chính xác cao.
- Độ chính xác của FNA vú như sau:
 - Độ nhạy: 92.5%
 - Độ đặc hiệu: 99.8%
 - Giá trị tiên lượng dương: 99.7%
 - Giá trị tiên lượng âm: 94.2%
 - Độ chính xác: 96.5%

- Tỷ lệ kết quả dương tính giả rất ít (0.28%), do đọc sai, chủ yếu liên quan đến các bệnh lý như u sợi tuyến có biến đổi không điển hình, tăng sản biểu mô (như tiết sữa, tăng sản, u nhú, u tuyến lành và phì đại tuyến vú ở nam giới), u diệp thể, tổn

thương viêm (như hoại tử mỡ, nang bị rách và tái tạo), tế bào đỉnh tiết không điển hình, biến đổi tế bào do xạ trị.

- Tỷ lệ kết quả âm tính giả: 5-20%. Nếu chỉ xét những phết đạt yêu cầu thì tỷ lệ âm tính giả # 2% (tương đương với cắt lạnh, thậm chí với cắt thường). Chủ yếu do lấy mẫu không đúng vị trí, hiếm khi o đọc sai. Kích thước và tính chất tổn thương có thể ảnh hưởng đến việc lấy mẫu. Những tổn thương nhỏ, nhất là những tổn thương <1 cm (có thể là ung thư vú còn nhỏ) có thể bị bỏ sót và lấy được ít tế bào, gây ra âm tính giả. Để cảm nhận được các u nhỏ, có thể dùng kim không syringe (còn gọi là kỹ thuật không hút), nhưng phương pháp này ít thành công trong u lạnh. Ngược lại, u lớn (>4 cm) cũng gây dương tính giả. Những tổn thương lành tính có kích thước lớn có thể làm lu mờ một tổn thương ác tính nhỏ. Tính chất u tự nó cũng có thể gây âm tính giả (ví dụ như trong K ống tuyến vú xơ hóa hoặc K tiểu thùy xâm nhập). Khi gặp u xơ hóa mà nghi ngờ K xơ hóa thì nên chọc hút phần ngoại biên của u và dùng kim nhỏ hơn (G25).

Tóm lại, có một số ung thư vú không chẩn đoán được bằng FNA vú. Nhưng u mà FNA cho kết quả âm tính giả thường có kích thước nhỏ, phát triển chậm và có tiên lượng tốt. Cần biết rằng kết quả FNA âm tính không thể loại trừ hoàn toàn tổn thương ác tính.

6. Kỹ thuật chọc hút:

- *Chuẩn bị:* syringe 10 ml, kim G25, súng, lam (có ký hiệu bệnh nhân), lọ đựng dung dịch cố định (cồn 97-1000), cồn sát trùng da. Lắp syringe + kim vào súng. Đeo găng. Giải thích, trấn an bệnh nhân.

- Khám, xác định vùng chọc hút. Đường vào là đường ngắn nhất tới u, tránh vùng nhạy cảm (quầng vú, núm vú). Nếu cần, có thể gây tê. Chọn tiêu điểm điển hình đặc trưng cho chẩn đoán. Sát trùng da trên vùng đó.

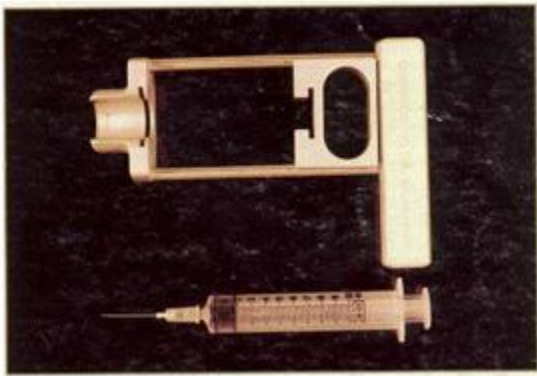
- 1 tay cố định u và căng da.

- 1 tay cầm súng, đâm kim dứt khoát, nhanh (ước lượng độ sâu của kim). Kéo pistol ra # 1ml. Nhấp kim vào-ra nhịp nhàng, tốc độ 3-4 nhịp/giây, mỗi nhát dứt khoát, không xoay kim, mạnh vừa phải. Đổi hướng kim bằng cách rút kim lui (nhưng chưa ra khỏi u), đổi hướng, tiếp tục nhấp kim vào-ra. Hướng thay đổi theo hình nón (từ 1 điểm ra nhiều hướng) hoặc từ 2 điểm khác nhau đi 2 hướng khác nhau. Khi đóc kim xuất hiện chất màu đỏ thì nên ngưng nhấp kim (*lưu ý không để bệnh phẩm lọt vào syringe*). Đẩy pistol trở về vị trí ban đầu. Rút kim ra. Lấy gòn đè mạnh tại vị trí chọc hút để cầm máu. Dán băng keo tại vị trí chọc hút.

- Tháo kim ra khỏi syringe. Kéo pistol ra. Gắn kim trở lại. Đặt mặt vát kim tiếp xúc mặt lam. Đẩy mạnh pistol vào để tống bệnh phẩm trong kim ra. Có thể làm động tác này nhiều lần để lấy được bệnh phẩm nhiều nhất có thể. Lấy bệnh phẩm trong đốc kim bằng cách 1 tay dùng kẹp, kẹp kim, 1 tay búng nhẹ đốc kim nhiều lần. Bệnh phẩm sẽ từ đốc kim rơi vào lam.

- Dùng 1 lam khác đặt úp sát lên lam đó, xoay vòng nhẹ, rồi kéo bệnh phẩm sao cho dàn đều và mỏng trên 2 lam. Làm nhanh, tránh làm khô bệnh phẩm. Cho 2 lam vào lọ đựng dung dịch cố định.

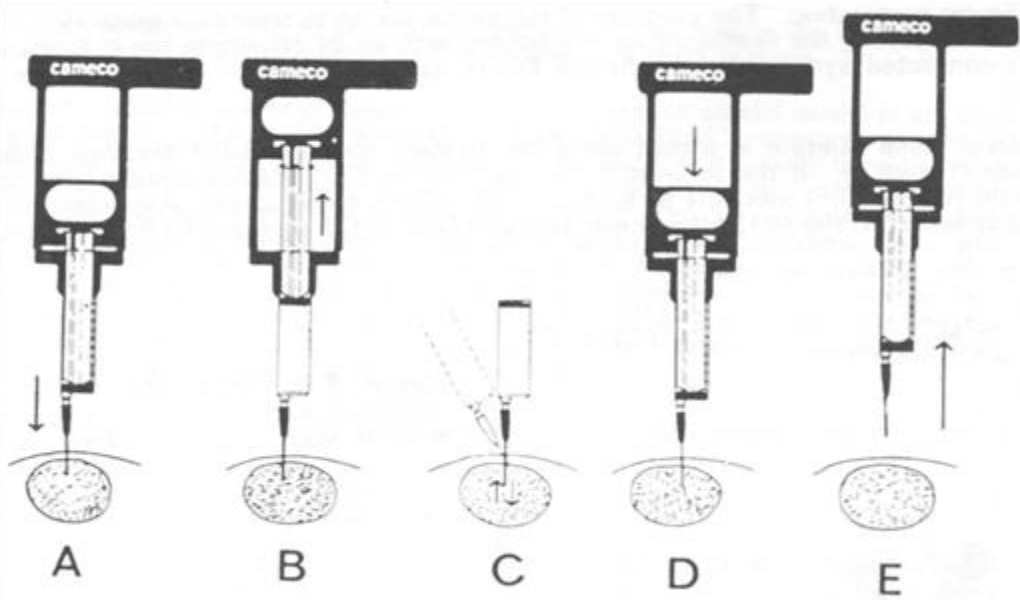
- Bước tiếp theo là nhuộm tế bào bằng phương pháp Papanicolaou, dán lamen và đọc lam dưới kính hiển vi quang học.



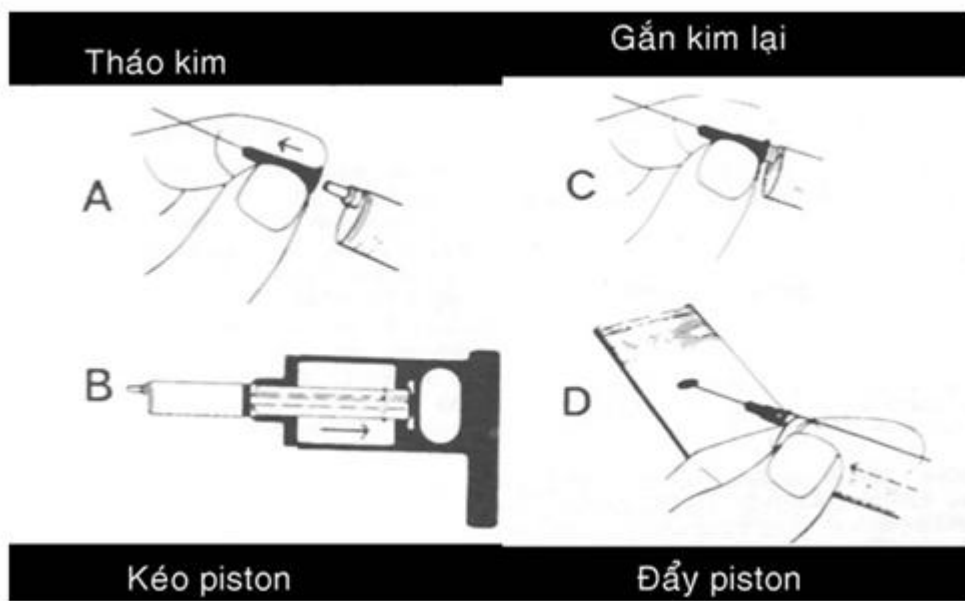
Hình 1. Súng, syringe 10 ml và kim G25



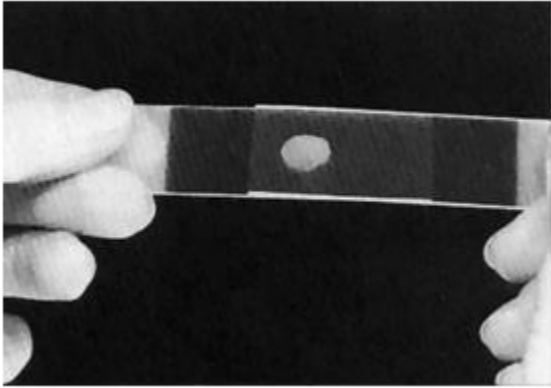
Hình 2. Kỹ thuật cầm kim chọc hút.



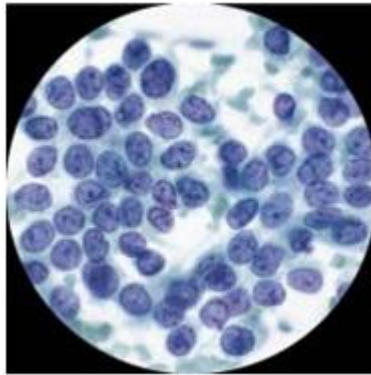
Hình 3. Kỹ thuật lấy mẫu tế bào u.



Hình 4. Kỹ thuật đưa tế bào u từ trong kim lên lam.



Hình 5. Kỹ thuật phết mỏng tế bào u. Hình 6. Đọc lam dưới kính hiển vi quang học.



Hình 7. Hình ảnh vi thể tế bào carcinôm ống tuyến vú. Nhân to gấp 2 lần đường kính 1 hồng cầu. Không có nhân trần 2 cực.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH CÁC TỔN THƯƠNG DẠNG U NANG

I. ĐẠI CƯƠNG

Trong dịch hút chứa các tế bào bong ra từ các tổn thương dạng u nang. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

II. CHỈ ĐỊNH :

Bệnh nhân nam và nữ không kể độ tuổi .

Bệnh lý tổn thương dạng u nang, viêm ở các cơ quan như : mô mềm, xương khớp, hạch.....

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Hầu như không có chống chỉ định, chỉ không nên làm khi:

- Bệnh nhân có cơ địa dễ bị chảy máu, máu lâu đông (đôi với khối u nội tạng)
- Bệnh nhân có trạng thái hoặc cơ địa thần kinh nhạy cảm, dễ bị kích thích.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh: 01
- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

2. Phương tiện, hóa chất

- Găng tay vô trùng, khẩu trang.
- Ống hút tự động.
- Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm
- Máy trộn (khuấy)
- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.
- Giá để đựng phiến kính đã dãn bệnh phẩm.
- Bút chì mềm ghi mã số Người bệnh, vị trí chọc hút.
- Dung dịch cố định bệnh phẩm:
 - + Dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ Cồn etanol 95 độ

Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, ...).

Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

Các dung dịch sát khuẩn.

Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng đặt kính hiển vi và viết.

Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên BN, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

3. Chuẩn bị người bệnh:

Động viên người bệnh yên tâm hợp tác để lấy bệnh phẩm

Hướng dẫn người bệnh nằm yên không cử động trong khi lấy bệnh phẩm

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh – tế bào bệnh học.

* Yêu cầu:

Hút hết dịch trong u nang cho vào các lọ chứa chất chống đông.

Chuyển đến phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh – tế bào bệnh học ngay: không cần cố định và được để trong tủ lạnh, sau đó làm phiến đồ. Nếu để lâu, phải cho vào lọ chứa chất tiền cố định với thể tích tương đương.

Dung dịch tiền cố định: cồn etanol 50% hoặc dung dịch 2% carbowax trong cồn 50% với thể tích tương đương.

2. Kỹ thuật tập trung tế bào

Dịch để trong tủ lạnh cho lắng cặn, gạn bỏ phần trong, lấy phần cặn cho vào ống nghiệm, đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

Gạn bỏ phần trong bên trên, lấy phần lắng cặn tế bào bên dưới (1-2ml)

Lắc trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

3. Cố định phiến đồ

- Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch không bụi.

- Trước khi nhuộm, ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95 độ.

4. Nhuộm các phiến đồ: Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwald Giemsa, Ziehl – Neelsen hoặc HE

5. Nhận định kết quả: trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

6. Kết quả

Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

VI. THEO DÕI

Hướng dẫn NB nghỉ ngơi tại giường sau khi lấy bệnh phẩm

Hướng dẫn những điều cần biết để tránh các tai biến

VII. TAI BIẾN VÀ CÁCH XỬ TRÍ

Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính (albumin)

Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

Tế bào thoái hóa, tan rã, không nhận định được hình thái nhân và bào tương: dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

KỸ THUẬT LẤY MẪU PHẾT TẾ BÀO CỔ TỬ CUNG.

I Đặt vấn đề

II Quy trình kỹ thuật.

1 CHUẨN BỊ

1.1. Người thực hiện

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh – tế bào bệnh học: 01

1.2. Bệnh nhân:

- Lấy mẫu ở nửa chu kỳ sau của kinh nguyệt để tránh mẫu không bị lẫn nhiều máu. Không lấy mẫu phết cổ tử cung khi đang có kinh.

- Hướng dẫn bệnh nhân không thụ rửa âm đạo, không đặt bất kỳ thuốc nào vào âm đạo, không giao hợp trong vòng 48 giờ trước khi lấy mẫu.

- Hướng dẫn bệnh nhân nằm tư thế sản khoa. Dùng mỏ vịt không bôi chất làm trơn (có thể dùng nước muối sinh lý hoặc nước ấm để làm trơn mỏ vịt), bộc lộ cổ tử cung hoàn toàn, sao cho có thể thấy cổ tử cung rõ ràng nhất.

1.2. **Phiếu xét nghiệm:** bắt buộc phải có những thông tin tối thiểu sau:

1. Họ và tên
2. Năm sinh (hoặc Tuổi)
3. PARA
4. Ngày lấy mẫu
5. Vị trí lấy mẫu: cổ trong cổ tử cung, cổ ngoài cổ tử cung, mỏm cát âm đạo, âm đạo
6. Họ và tên người lấy mẫu
7. Thông tin lâm sàng: ngày kinh chót, chẩn đoán, điều trị trước đó.

1.3. Lam và lọ đựng bệnh phẩm:

- Dùng viết chì viết lên phần kính mờ của lam họ và tên bệnh nhân, mã số bệnh

nhân. Nếu dùng 2 lam cho phết cổ tử cung, cần có ký hiệu rõ lam cho cổ ngoài cổ tử cung (C: ectocervix) và lam cho cổ trong cổ tử cung (E: endocervix). Cần lưu ý rằng phòng Tế bào sẽ không nhận mẫu nếu lam không có tên bệnh nhân.

- Lọ đựng lam cũng phải được ghi họ tên bệnh nhân rõ ràng.

1.4. Các dụng cụ cần thiết:

- Mỏ vịt âm đạo.

- Spatula bằng nhựa hoặc gỗ.

- Bàn chải tế bào (Cytobrush®).

- Dung dịch cố định (bình xịt dung dịch cố định hoặc lọ đựng dung dịch ethyl alcohol 95%). Cần lưu ý rằng các loại bình xịt tóc đều không có đủ lượng alcohol cần thiết để cố định tốt tế bào. Thành phần trong bình xịt là polyethylene glycol hòa tan trong alcohol. Khi xịt, 1 lớp bao film sẽ bao quanh tế bào, giúp bảo vệ tế bào, không làm tế bào bị khô. - Lớp bao film này có nguồn gốc từ resin, giúp bảo quản được nhân tế bào. Lớp bao film này hòa tan trong nước và sẽ được tẩy sạch bằng alcohol 95% trước khi bắt đầu chu trình nhuộm. Alcohol trong bình xịt cũng được điều chế để làm cho chất nhuộm sắc không kết hợp với nước, giúp cho thấy rõ màng nhân.

- Lam sạch (có phần kính mờ ở một đầu lam).

- Viết chì đen (loại dành cho phòng xét nghiệm).

- Phiếu xét nghiệm tế bào.

2. CÁC BƯỚC LẤY MẪU

Trước khi lấy mẫu, viết lên lam họ và tên bệnh nhân và vị trí lấy bệnh phẩm. Dùng mỏ vịt không bôi trơn (có thể dùng nước muối sinh lý hoặc nước ấm để làm trơn mỏ vịt). Quan sát cổ tử cung, chú ý vùng chuyển tiếp (transformation zone) và các vùng bất thường ở cổ tử cung. Khi lấy mẫu, phải lấy được mẫu ở vùng chuyển tiếp và các vùng bất thường (nếu thấy được). Vùng chuyển tiếp là vùng nằm giữa 2 giới hạn (squamocolumnar junction): giới hạn ngoài (original squamocolumnar junction) là ở cổ ngoài cổ tử cung, nơi có các cửa tuyến (gland openings) và nang Naboth, giới hạn trong (active squamocolumnar junction) là nơi biểu mô trụ gặp biểu mô lát.

1. **Bước 1: Chùi sạch cổ tử cung** (chỉ thực hiện khi có quá nhiều dịch tiết ở cổ tử cung): Dùng 1 que quần gòn chùi nhẹ nhàng cổ tử cung, chùi bớt chất nhầy ở lỗ cổ tử cung. Lưu ý không được rửa cổ tử cung bằng nước muối sinh lý.

2. **Bước 2: Lấy mẫu**

* Nếu cần xét nghiệm Chlamydia, thì lấy mẫu xét nghiệm Chlamydia trước khi làm phết cổ tử cung.

- *Phết cổ tử cung thường quy:*

Kỹ thuật lấy mẫu 1 lam (dùng 1 spatula và 1 bàn chải tế bào (Cytobrush®)):

- Sau khi quan sát cổ tử cung rõ ràng, dùng spatula đầu to, cào toàn bộ chu vi cổ ngoài cổ tử cung (xoay spatula 360o). Bắt đầu cào ở vị trí 9g, xoay 1 vòng theo chiều kim đồng hồ, kết thúc ở vị trí 9g (có thể xoay vòng ngược chiều kim đồng hồ, từ vị trí 3g đến 3g). Bằng cách này, tế bào sẽ nằm phía trên mặt phẳng ngang khi rút spatula ra. Rút spatula ra. Dùng phết tế bào lên lam. Giữ spatula trong 1 tay, tay kia tiếp tục lấy mẫu cổ trong cổ tử cung. Hoặc có thể để spatula lên lam, đưa phần có bệnh phẩm hướng lên trên, rồi tiếp tục lấy mẫu cổ trong cổ tử cung.

- Đưa bàn chải tế bào vào trong cổ trong cổ tử cung cho đến khi tất cả các lông bàn chải tiếp xúc hoàn toàn với cổ tử cung. Không đưa bàn chải vào quá sâu, chỉ đưa vào bằng chiều dài bàn chải (1.5 – 2 cm) Xoay bàn chải ¼ - ½ vòng, theo 1 chiều. Lưu ý không xoay > ½ vòng. Không nên xoay nhiều vòng vì có thể làm cổ tử cung chảy máu. Rút bàn chải tế bào ra.

- Nhanh chóng phết tế bào trên spatula lên một nửa lam ở kế bên phần kính mờ. Phết theo 1 chiều duy nhất. Phết mỏng đều, sao cho chỉ có 1 lớp tế bào. Dàn mỏng những vùng tế bào bị dồn cục. Tránh thao tác quá mạnh tay làm hủy hoại tế bào.

- Nhanh chóng phết tế bào trên bàn chải lên một nửa lam, phía đối diện với phần kính mờ. Phết tế bào bằng cách xoay vòng bàn chải theo chiều dài của lam, vừa xoay vừa đè nhẹ bàn chải. Sau đó phết lớp thứ hai chồng lên phết thứ nhất.

- Có định mẫu ngay lập tức.

Kỹ thuật lấy mẫu 1 lam (kỹ thuật đang được áp dụng tại BV Từ Dũ – 2007) (dùng 1 spatula):

- Sau khi quan sát cổ tử cung rõ ràng, dùng đầu ngắn của spatula cào toàn bộ chu vi cổ ngoài cổ tử cung (xoay spatula 360o). Bắt đầu cào ở vị trí 9g, xoay 1 vòng theo chiều kim đồng hồ, kết thúc ở vị trí 9g (có thể xoay vòng ngược chiều kim đồng hồ, từ vị trí 3g đến 3g). Rút spatula ra. Dùng phết tế bào lên lam.

- Dùng đầu dài của spatula cào toàn bộ chu vi cổ trong cổ tử cung (xoay spatula 360o). Bắt đầu cào ở vị trí 9g, xoay 1 vòng theo chiều kim đồng hồ, kết thúc ở vị trí 9g.

- Nhanh chóng phết tế bào trên đầu ngắn spatula lên một nửa lam ở kế bên phần kính mờ. Phết theo 1 chiều duy nhất. Phết mỏng đều, sao cho chỉ có 1 lớp tế bào.

- Nhanh chóng phết tế bào trên đầu dài của spatula lên một nửa lam phía đối diện với phần kính mờ. Phết theo 1 chiều duy nhất. Phết mỏng đều, sao cho chỉ có 1 lớp tế bào.

- Cố định mẫu ngay lập tức.

Kỹ thuật lấy mẫu 2 lam (dùng 1 spatula và 1 bàn chải tế bào (Cytobrush®)):

- Sau khi quan sát cổ tử cung rõ ràng, dùng spatula đầu to cào toàn bộ chu vi cổ ngoài cổ tử cung. Rút spatula ra, nhanh chóng phết tế bào lên lam (1) (lam có ký hiệu “C”). Cố định mẫu ngay lập tức.

- Đưa bàn chải tế bào vào trong cổ trong cổ tử cung và xoay nửa vòng. Rút bàn chải tế bào ra, nhanh chóng phết tế bào lên lam (2) (lam có ký hiệu “E”). Cố định mẫu ngay lập tức.

Kỹ thuật lấy mẫu 2 lam (kỹ thuật đang được áp dụng tại BV Từ Dũ – 2007) (dùng 1 spatula):

- Sau khi quan sát cổ tử cung rõ ràng, dùng đầu ngắn của spatula cào toàn bộ chu vi cổ ngoài cổ tử cung (xoay spatula 360o). Bắt đầu cào ở vị trí 9g, xoay 1 vòng theo chiều kim đồng hồ, kết thúc ở vị trí 9g. Rút spatula ra.

- Nhanh chóng phết tế bào trên đầu ngắn spatula lên lam (1) (lam có ký hiệu “C”). Phết theo 1 chiều duy nhất. Phết mỏng đều, sao cho chỉ có 1 lớp tế bào. Cố định

mẫu ngay lập tức.

- Dùng đầu dài của spatula cào toàn bộ chu vi cổ trong cổ tử cung (xoay spatula 360o). Bắt đầu cào ở vị trí 9g, xoay 1 vòng theo chiều kim đồng hồ, kết thúc ở vị trí 9g.

- Nhanh chóng phết tế bào trên đầu dài của spatula lên lam (2) (lam có ký hiệu “E”). Phết theo 1 chiều duy nhất. Phết mỏng đều, sao cho chỉ có 1 lớp tế bào. Cố định mẫu ngay lập tức.

Kỹ thuật lấy mẫu chỉ bằng cây chổi tế bào (Cervix Brush®) (1 lam)

Dùng cây chổi tế bào đưa vào cổ tử cung, với phần lông dài ở giữa nằm ở trong kênh cổ tử cung, phần lông ngắn ở ngoài tựa vào cổ ngoài cổ tử cung. Xoay chổi 2-3 lần quanh bề mặt cổ tử cung, theo cả 2 chiều. Rút cây chổi ra. Phết tế bào lên lam giống như động tác quét sơn. Phết cả 2 mặt của chổi. Phết lớp thứ 2 phủ lên lớp thứ nhất.

- *Phết âm đạo thường quy (4 lam):*

Có thể làm phết âm đạo thường quy đồng thời cùng với làm phết cổ tử cung ở bệnh nhân có tử cung, hoặc có thể chỉ làm phết âm đạo ở bệnh nhân đã cắt tử cung. Lấy mẫu ở thành bên âm đạo hoặc lấy mẫu ở vùng nghi ngờ.

Dụng cụ: mỏ vịt âm đạo, 4 spatula bằng plastic hoặc bằng gỗ (nếu làm phết cổ tử cung thì thêm 1 spatula và 1 bàn chải tế bào), dung dịch cố định (ethyl alcohol 95% hoặc bình xịt dung dịch cố định), 4 lam (có phần kính mờ) (nếu làm phết cổ tử cung thì thêm 1-2 lam), viết chì, phiếu xét nghiệm.

Kỹ thuật:

- Lưu ý cần phải ghi rõ vị trí lấy mẫu lên lam, trước khi lấy mẫu.

- Dùng mỏ vịt không bôi trơn (có thể dùng nước muối sinh lý hoặc nước ấm).

- Dùng spatula cào niêm mạc âm đạo ở vùng muốn lấy mẫu. Thường lấy mẫu 4 vùng: ¼ trên thành bên (P), ¼ dưới thành bên (P), ¼ trên thành bên (T), ¼ dưới thành bên (T). Rút spatula ra, phết lên lam một cách nhanh chóng và đều đặn. Lưu ý lam được ghi vị trí nào thì phết tế bào vị trí đó lên lam. 1 lam tương ứng với 1 vị trí.

- Cố định mẫu ngay lập tức.

- *Phết cổ tử cung nhúng dịch (ThinPrep® Pap test):*

Dùng spatula và bàn chải tế bào:

- Lấy mẫu cổ ngoài cổ tử cung bằng spatula như trên mô tả. Nhúng spatula vào lọ đựng dung dịch cố định tế bào (Preserv Cyt®: là loại dung dịch cố định tế bào, có thành phần chủ yếu là methanol, có thể bảo quản tế bào đến 3 tuần ở nhiệt độ 4oC – 37oC). Quậy mạnh spatula trong lọ 10 lần. Lấy spatula ra.

- Lấy mẫu cổ trong cổ tử cung bằng bàn chải tế bào như trên mô tả. Nhúng bàn chải vào lọ Preserv Cyt®. Vừa xoay, vừa đè bàn chải vào thành lọ, làm 10 lần. Sau đó xoắn mạnh bàn chải để làm tế bào bong ra thêm. Lấy bàn chải ra. Đậy nắp lọ cẩn thận.

Dùng cây chổi tế bào (Cervix Brush®):

Đưa chổi vào cổ tử cung, với phần lông dài ở giữa nằm ở trong kênh cổ tử cung. Xoay chổi 2-3 lần quanh bề mặt cổ tử cung. Rút cây chổi ra, nhúng vào lọ đựng dung dịch cố định tế bào (Preserv Cyt®). Đập chổi vào đáy lọ 10 lần, đè mạnh để các sợi lông chổi rời nhau ra. Cuối cùng xoắn chổi thật mạnh để tế bào bong ra thêm. Lấy cây chổi ra. Đậy nắp lọ cẩn thận. Nhớ ghi tên bệnh nhân lên lọ.

3. Bước 3: Cố định mẫu (đối với phết cổ tử cung thường quy và phết âm đạo thường quy)

- Cố định mẫu ngay lập tức (trong vòng 10 – 15 giây) để tránh khô tế bào.

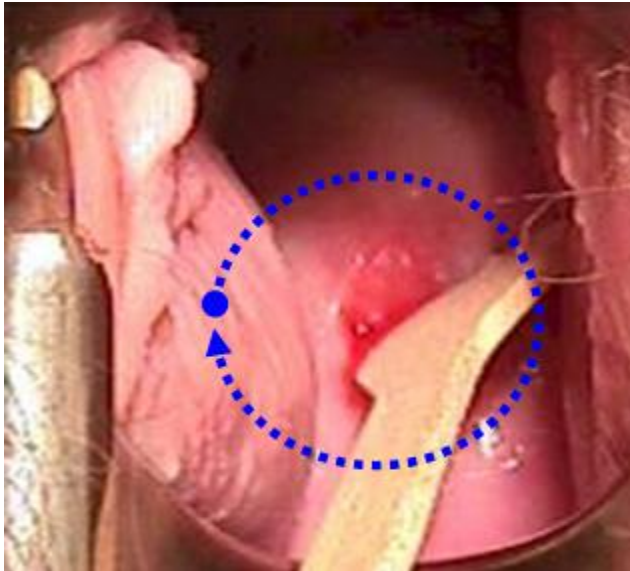
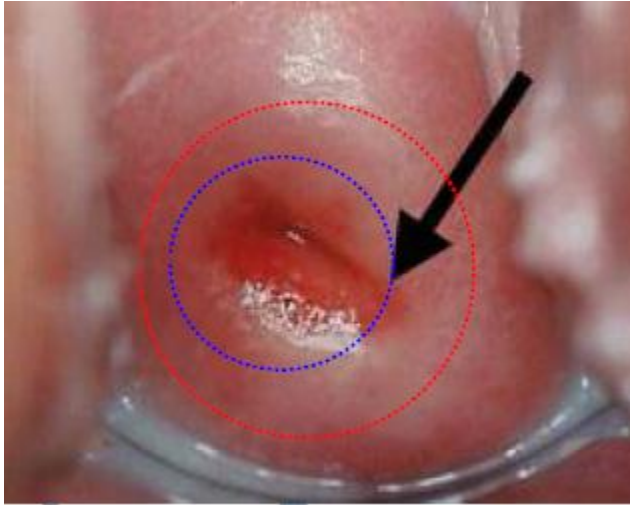
- Để lam trong lọ có ethyl alcohol 95%. Phải bảo đảm phần bệnh phẩm trên lam nằm hoàn toàn trong dung dịch cố định.

- Hoặc xịt dung dịch cố định lên lam. Cầm bình xịt cách lam 20-30 cm.

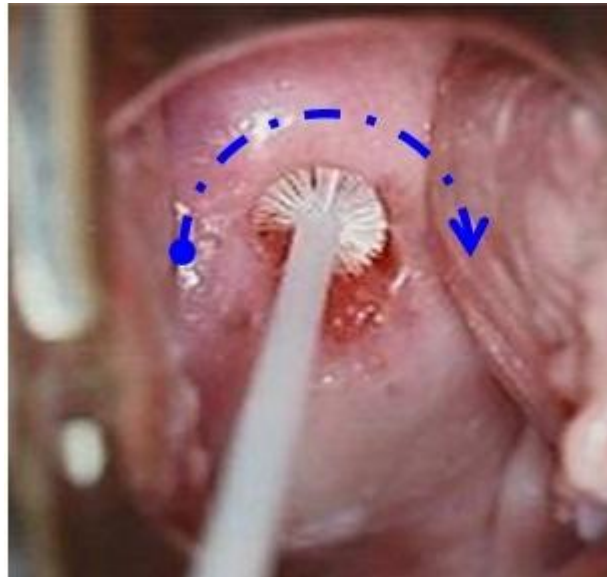
- Gửi mẫu đến phòng Tế bào cùng với phiếu xét nghiệm tế bào.

Tư thế bệnh nhân

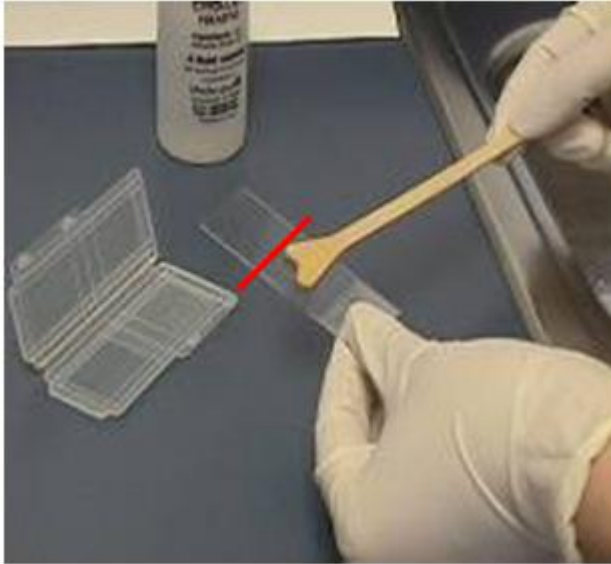
Làm trơn mỏ vịt bằng nước ấm



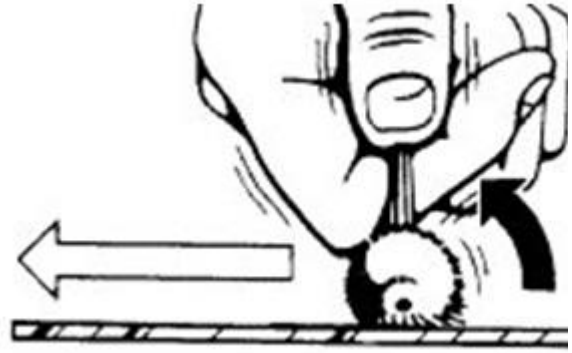
*Xoay spatula theo chiều mũi tên từ 9g
đến 9g*



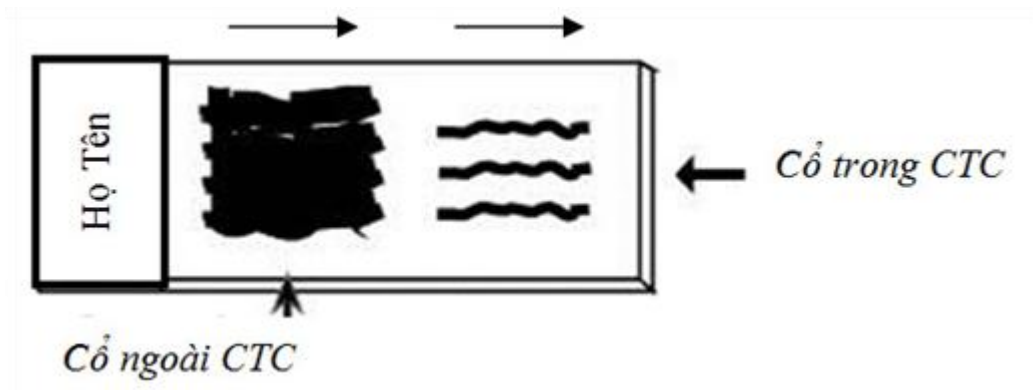
Xoay bàn chải tế bào 1/2 vòng

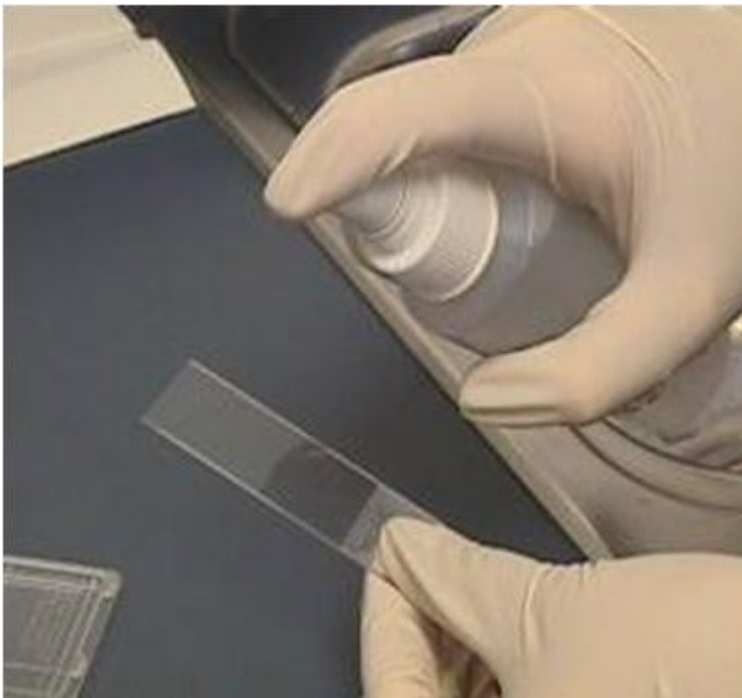


Phết tế bào lên lam 1 lớp mỏng



Xoay bàn chải theo chiều dọc lam

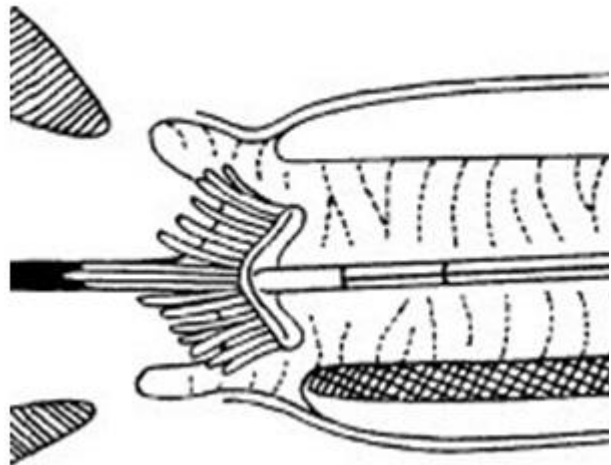




Xịt dung dịch cố định ngay lập tức, cầm bình cách lam # 20 cm

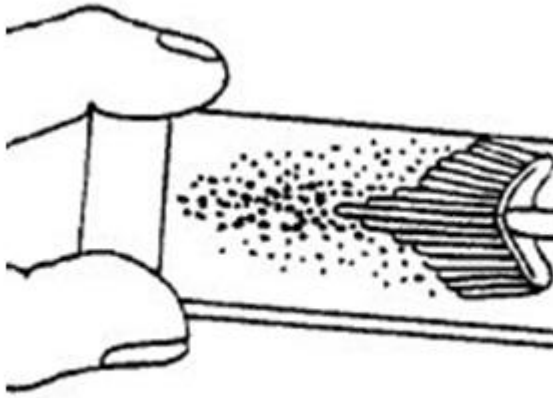


Cây chổi tế bào



Đặt chổi vào CTC, phần trục giữa ở cổ trong,

phần lông ngắn ở cổ ngoài



Phết tế bào từ cây chổi vào lam



*Nhúng cây chổi vào trong
lọ đựng dung dịch cố định*

KỸ THUẬT CHỌC HÚT TUYẾN GIÁP

Tư thế bệnh nhân

Bệnh nhân thường được thực hiện FNA ở tư thế nằm ngửa, gối kê dưới cổ và vai

hoặc ngồi, cổ ngửa ra sau

Dụng cụ

Thường sử dụng kim số 22 đến 25, ống chích 20 cc hoặc 10cc gắn vào một dụng cụ

cầm tay đặc biệt (hình 1). Khi cắt nghe thấy tiếng sừn sựt (mô xơ hoá) hoặc như chạm phải

khối đá cứng (canxi hoá) nên dùng kim lớn hơn. Kỹ thuật chọc hút

+ Không cần vô cảm vì chọc hút rất nhanh, thường không đau trừ khi bệnh nhân bị viêm tuyến giáp De Quervain hoặc viêm tụ mủ cấp.

+ Có thể chọc nhiều vùng khác nhau và nếu chất bệnh phẩm lấy ra không đủ, có thể

làm lại ngay.

+ Các giai đoạn chọc hút:

* Giai đoạn 1

sát trùng da, đâm kim vào giữa tổn thương.

* Giai đoạn 2:

rút nhanh piston của ống chích, tạo áp lực âm, hút bệnh phẩm vào kim.

* Giai đoạn 3

cắt nhanh 3 - 5 lần, thay đổi hướng kim mỗi lần cắt. Ngưng cắt khi bệnh phẩm (dịch mô hoặc máu) xuất hiện ở đốc kim.

* Giai đoạn 4

trả piston lại vị trí ban đầu để cân bằng áp lực và rút kim ra khỏi tổn thương

chọc hút tuyến giáp

Tư thế bệnh nhân

Bệnh nhân thường được thực hiện FNA ở tư thế nằm ngửa, gối kê dưới cổ và vai

hoặc ngồi, cổ ngửa ra sau

Dụng cụ

Thường sử dụng kim số 22 đến 25, ống chích 20 cc hoặc 10cc gắn vào một dụng cụ

cầm tay đặc biệt (hình 1). Khi cắt nghe thấy tiếng sừn sựt (mô xơ hoá) hoặc như chạm phải

khối đá cứng (canxi hoá) nên dùng kim lớn hơn. Kỹ thuật chọc hút

+ Không cần vô cảm vì chọc hút rất nhanh, thường không đau trừ khi bệnh nhân bị

viêm tuyến giáp De Quervain hoặc viêm tụ mủ cấp.

+ Có thể chọc nhiều vùng khác nhau và nếu chất bệnh phẩm lấy ra không đủ, có thể

làm lại ngay.

+ Các giai đoạn chọc hút:

* Giai đoạn 1

sát trùng da, đâm kim vào giữa tổn thương.

* Giai đoạn 2:

rút nhanh piston của ống chích, tạo áp lực âm, hút bệnh phẩm vào kim.

* Giai đoạn 3

cắt nhanh 3 - 5 lần, thay đổi hướng kim mỗi lần cắt. Ngưng cắt khi bệnh phẩm (dịch mô hoặc máu) xuất hiện ở đốc kim.

* Giai đoạn 4

trả piston lại vị trí ban đầu để cân bằng áp lực và rút kim ra khỏi tổn thương

KỸ THUẬT CHỌC DỊCH TUYẾN VÚ

1. Giới thiệu

Hội các bác sỹ xquang Mỹ chuyên về siêu âm đã triệu tập một nhóm các chuyên gia từ nhiều chuyên khoa để thống nhất cách quản lý các nốt tuyến giáp được xác định trên siêu âm. Các thành viên đã tập hợp ở Washington, 26-27 tháng 10, 2004, và họ đã xây dựng nên bản tuyên bố đồng thuận này. Hội thảo đã thống nhất tuyên bố về các nốt tuyến giáp nên chọc hút kim nhỏ FNA (fine needle aspiration) dưới hướng dẫn siêu âm và các nốt tuyến giáp không nên chọc hút.

Chọc chút kim nhỏ với đánh giá tế bào học đã trở thành phương pháp được chấp nhận để sàng lọc nốt ung thư tuyến giáp, và trong tay của các nhà tế bào học có kinh nghiệm, chọc hút kim nhỏ có tỷ lệ chính xác cao. Các mẫu tế bào được phân loại điển hình là âm tính (hay lành tính), nghi ngờ ung thư hay u dạng nang, dương tính (hay chẩn đoán ung thư), hoặc không chẩn đoán.

Dùng siêu âm hướng dẫn đảm bảo mẫu được lấy từ nốt yêu cầu và cho phép hướng kim vào trong phần đặc của các nốt dạng nang bán phần, điều đó sẽ cải thiện kết quả chẩn đoán.

Tỷ lệ của ung thư trong các nốt được cắt bỏ bằng phẫu thuật có kết quả chọc hút kim nhỏ không chẩn đoán là 5% – 9%. Chọc hút kim nhỏ là an toàn, chính xác, và chi phí thấp. Các biến chứng của thủ thuật, như là tụ máu hoặc đau thì hiếm và thường nhẹ.

Tỷ lệ dương tính giả đối với chọc hút kim nhỏ được phân loại thành dương tính đối với ung thư là dưới 1%. Trong các mảnh được đọc là nghi ngờ ung thư, 30% – 65% sẽ chứng minh là ung thư khi phẫu thuật. Các mẫu không nghi ngờ hoặc không chẩn đoán ác tính và có lượng tế bào ít hơn yêu cầu để chẩn đoán của một nốt lành tính phải được coi là không chẩn đoán. Thậm chí ở các trung tâm có kinh nghiệm thực sự, tỷ lệ không chẩn đoán có thể cao tới mức 15% – 20%.

MỤC LỤC

A.CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH

1. ĐỊNH LƯỢNG ACID URIC
2. ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN
3. ĐỊNH LƯỢNG AMYLASE
4. ĐO HOẠT ĐỘ ALT(GPT)
5. ĐO HOẠT ĐỘ AST(GOT)
6. ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN D
7. ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN T
8. ĐỊNH LƯỢNG CALCI TOÀN PHẦN
9. ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN
10. ĐO HOẠT ĐỘ ISOENZYM CK-MB
11. ĐỊNH LƯỢNG CRPhs
12. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ
13. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE
14. ĐỊNH LƯỢNG GGT(gamma GT)
15. ĐỊNH LƯỢNG HBA1C
16. ĐỊNH LƯỢNG HDL-CHOLESTEROL
17. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN
18. ĐỊNH LƯỢNG URE
19. ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

B.CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH HUYẾT HỌC-TRUYỀN MÁU.

1. TÌM ẤU TRÙNG GIUN CHỈ
2. TÌM KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI
3. KỸ THẬT XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI
4. KỸ THẬT MÁU CHẢY
5. KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT
6. ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN

7. PHẢN ỨNG HÒA HỢP
8. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh(D)
9. TỔNG PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU BẰNG LAZE
10. ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO
11. THỜI GIAN MÁU ĐÔNG
12. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO TỐC ĐỘ MÁU LẮNG

C.CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH VI SINH VÀ CÁC KỸ THUẬT KHÁC.

1. ĐỊNH TÍNH CRP
2. ĐỊNH TÍNH RF
3. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST TROPONIN
4. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST HPYLORI
5. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST HIV
6. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST HBSAG
7. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST HCV
8. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST AFP
9. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG CÁC LOẠI DỊCH
10. XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU
11. QUY TRÌNH KỸ THUẬT LẤY MẪU LÀM XÉT NGHIỆM VI SINH
12. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY DỊCH NÃO TỬY
13. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM VI KHUẨN LAO
14. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY MỦ
15. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY MÁU
16. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY NƯỚC TIỂU
17. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CÂY PHÂN
18. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM KHÁNG SINH ĐỒ
19. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM NHUỘM GRAM
20. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM NHUỘM ZIEHL-NEUSEN

D.CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH GIẢI PHẪU BỆNH

1. KỸ THUẬT CHỌC HÚT TẾ BÀO BẰNG KIM NHỎ
2. KỸ THUẬT SINH THIẾT TUYẾN VÚ BẰNG CHỌC HÚT KIM NHỎ
3. KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH CÁC TỔN THƯƠNG DẠNG NANG
- 4 KỸ THUẬT LẤY MẪU PHẾT TẾ BÀO CỔ TỬ CUNG
5. KỸ THUẬT CHỌC HÚT TUYẾN GIÁP
6. KỸ THUẬT CHỌC DỊCH TUYẾN VÚ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn vi sinh vật, Trường Đại học Y Huế(2003), tài liệu dùng cho khóa đào tạo nâng cao kỹ năng xét nghiệm cho cán bộ y tế tuyến huyện.
2. Bộ môn vi sinh vật, Trường Đại học Y Hà Nội(2001), vi sinh y học, Nhà xuất bản Y học hà Nội.
3. Bộ môn vi sinh vật, Trường Đại học Y Hà Nội (1998), thực tập vi sinh vật y học.
4. Bộ Y tế, hướng dẫn quy trình kỹ thuật Bệnh viện chuyên ngành hóa sinh(2014), nhà xuất bản y học.
5. Bộ Y tế, hướng dẫn quy trình kỹ thuật Bệnh viện chuyên ngành huyết học-truyền máu(2014), nhà xuất bản y học.
6. Bộ Y tế, hướng dẫn quy trình kỹ thuật Bệnh viện chuyên ngành vi sinh(2014), nhà xuất bản y học.
7. Bộ Y tế, Giải phẫu bệnh(2010), Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam.
8. Bộ y tế- Vụ khoa học và đào tạo, Kỹ thuật xét nghiệm cơ bản và huyết học,1998.
9. Đỗ Trung Phần, An toàn truyền máu, nhà xuất bản khoa học kỹ thuật,2001.
10. Trần văn Bé, thực hành huyết học và truyền máu, nhà xuất bản y học,2003.