

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

GIÁO TRÌNH

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: /QĐ - CĐYTHN ngày tháng
năm của trường Cao đẳng Y tế Hà Nội)*

**MÔN HỌC/MÔ ĐUN: HUYẾT HỌC 1
NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM Y
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG**

Hà Nội, năm.....

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

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

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

LỜI GIỚI THIỆU

Huyết học 1 là một ngành khoa học nghiên cứu về lĩnh vực chuyên sâu của huyết học tế bào diễn ra trong điều kiện sinh lý bình thường cũng như bệnh lý. Đây là lĩnh vực khoa học có mối quan hệ chặt chẽ với nhiều ngành khoa học khác như Y học lâm sàng, sinh lý học, mô phôi học, dinh dưỡng....

Giáo trình được biên soạn theo chương trình khung đã được phê duyệt cho sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học. Trong đó, nội dung bao gồm: Quá trình sinh lý bình thường và một số trường hợp bệnh lý thường gặp huyết học tế bào và các ứng dụng của huyết học trong lâm sàng. Các xét nghiệm chẩn đoán, theo dõi và tiên lượng bệnh. Sách dùng để đào tạo sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học đồng thời cũng là tài liệu tham khảo tốt cho sinh viên các chuyên ngành khác quan tâm đến công tác xét nghiệm.

Các tác giả là những người có kinh nghiệm lâm sàng lâu năm cũng như kinh nghiệm giảng dạy, hy vọng rằng cuốn sách sẽ cung cấp những thông tin giá trị cho sinh viên nhằm giúp sinh viên có nền tảng kiến thức, kỹ năng cần thiết cho việc đánh giá về chất lượng xét nghiệm.

Các tác giả đã biên soạn cuốn giáo trình này với tinh thần trách nhiệm cao, song cũng không tránh khỏi những thiếu sót và cần bổ sung. Chúng tôi mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp của độc giả và đồng nghiệp để cuốn giáo trình này càng hoàn thiện hơn.

Xin trân trọng cảm ơn!

NHÓM TÁC GIẢ

THAM GIA BIÊN SOẠN

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

MỤC LỤC

LỜI GIỚI THIỆU	3
LÝ THUYẾT.....	9
BÀI 1: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DÒNG HỒNG CẦU	9
BÀI 2. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DÒNG BẠCH CẦU.....	52
BÀI 3. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DÒNG TIỂU CẦU.....	84
BÀI 4. KỸ THUẬT NHẬN ĐỊNH	101
BÀI 5. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC TIÊU VÀ CÁC DỊCH	117
BÀI 6. PHÂN TÍCH HUYẾT ĐỒ.....	125
THỰC HÀNH	133
BÀI 7: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU	133
BÀI 8: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG BẠCH CẦU	140
BÀI 9: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG TIỂU CẦU	146
BÀI 10: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU LƯỚI.....	153
BÀI 11: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG HUYẾT SẮC TỐ.....	159
Bài 12: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐO THỂ TÍCH KHỐI HỒNG CẦU	163
BÀI 13: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐO TỐC ĐỘ MÁU LẮNG.....	167
BÀI 14: THỰC HÀNH KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN VÀ NHẬN ĐỊNH HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG MÁU NGOẠI VI	171
BÀI 15: THỰC HÀNH KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN VÀ NHẬN ĐỊNH HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG TỦY XƯƠNG.....	178
BÀI 16: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH CÔNG THỨC BẠCH CẦU PHỔ THÔNG	184
BÀI 17: THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC TIÊU	188
BÀI 18: THỰC HÀNH PHÂN TÍCH HUYẾT ĐỒ.....	196
HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG GIÁO TRÌNH	200
TÀI LIỆU THAM KHẢO	201

MÔ ĐƠN SỐ 19: HUYẾT HỌC 1

Mã mô đun: XN03

Thời gian thực hiện: 75 giờ

- Lý thuyết: 14 giờ

- Thực hành: 58 giờ

- Kiểm tra: 3 giờ

I. VỊ TRÍ, TÍNH CHẤT MÔ ĐƠN

- Vị trí: Thực hiện vào học kỳ I, năm thứ 2 của sinh viên cao đẳng xét nghiệm.

- Tính chất: Môn huyết học I nhằm trang bị cho sinh viên những kiến thức về lý thuyết và thực hành huyết học tế bào. Các kiến thức này giúp cho sinh viên hiểu và giải thích, ứng dụng được xét nghiệm về huyết học tế bào vào việc chẩn đoán, phòng và hỗ trợ điều trị bệnh.

II. MỤC TIÊU MÔ ĐƠN

* Kiến thức

- Mô tả được đặc điểm hình thái các dòng tế bào máu trong tủy xương và máu ngoại vi.

- Giải thích nguyên tắc của một số xét nghiệm huyết học tế bào.

* Kỹ năng

- Thực hiện được lấy và bảo quản được các bệnh phẩm dùng trong xét nghiệm huyết học tế bào.

- Thực hiện được các quy trình xét nghiệm huyết học tế bào.

- Giải thích được những thay đổi kết quả của xét nghiệm huyết học tế bào trong một số tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ, trách nhiệm

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

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

- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm

III. NỘI DUNG MÔ ĐƠN

1. Nội dung tổng quát và phân bổ thời gian mô đun

TT	Tên bài	Số tiết			
		TS	LT	TH	KT
1	Kỹ thuật xét nghiệm dòng hồng cầu	3	3		

2	Kỹ thuật xét nghiệm dòng bạch cầu	3	3		
3	Kỹ thuật xét nghiệm dòng tiểu cầu	2	2		
	Kiểm tra	1			1
4	Kỹ thuật nhận định hình thái tế bào máu trong tủy xương	2	2		
5	Kỹ thuật xét nghiệm tế bào trong nước tiểu và các dịch	2	2		
6	Phân tích huyết đồ	2	2		
7	Thực hành kỹ thuật đếm số lượng hồng cầu	5		5	
8	Thực hành kỹ thuật đếm số lượng bạch cầu	5		5	
9	Thực hành kỹ thuật đếm số lượng tiểu cầu	5		5	
10	Thực hành kỹ thuật đếm số lượng hồng cầu lưới	5		5	
11	Thực hành kỹ thuật định lượng huyết sắc tố	5		5	
12	Thực hành kỹ thuật đo thể tích khối hồng cầu	5		5	
13	Thực hành kỹ thuật đo tốc độ máu lắng	5		5	
14	Thực hành kỹ thuật làm tiêu bản và nhận định hình thái tế bào máu trong máu ngoại vi	5		5	
15	Thực hành kỹ thuật làm tiêu bản và nhận định hình thái tế bào máu trong tủy xương	5		5	
16	Thực hành kỹ thuật định công thức bạch cầu phổ thông	4		4	
	Kiểm tra	1			1
17	Thực hành kỹ thuật xét nghiệm tế bào trong nước tiểu	5		5	
18	Thực hành phân tích huyết đồ	4		4	
	Kiểm tra	1			1
	Tổng	75	14	58	3

2. Phương pháp đánh giá mô đun

- Kiến thức: Kiểm tra nội dung đã học bằng bộ công cụ lượng giá.
- Kỹ năng: Kiểm tra thực hành tại phòng thực hành chuyên dụng, sử dụng thang điểm
- Năng lực tự chủ, trách nhiệm (thái độ): Đánh giá thái độ thông qua việc sinh viên

thực hiện kỹ năng.

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

LÝ THUYẾT

BÀI 1: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DÒNG HỒNG CẦU

MỤC TIÊU CỦA BÀI

* Kiến thức

- Kể tên được 1 số xét nghiệm đánh giá dòng hồng cầu.
- Trình bày nguyên tắc, quy trình, giới hạn tham chiếu và nhận định kết quả của các kỹ thuật xét nghiệm dòng hồng cầu.

* Kỹ năng

- Nhận định và phân tích được sự thay đổi các xét nghiệm dòng hồng cầu trong một số tình huống dạy học.

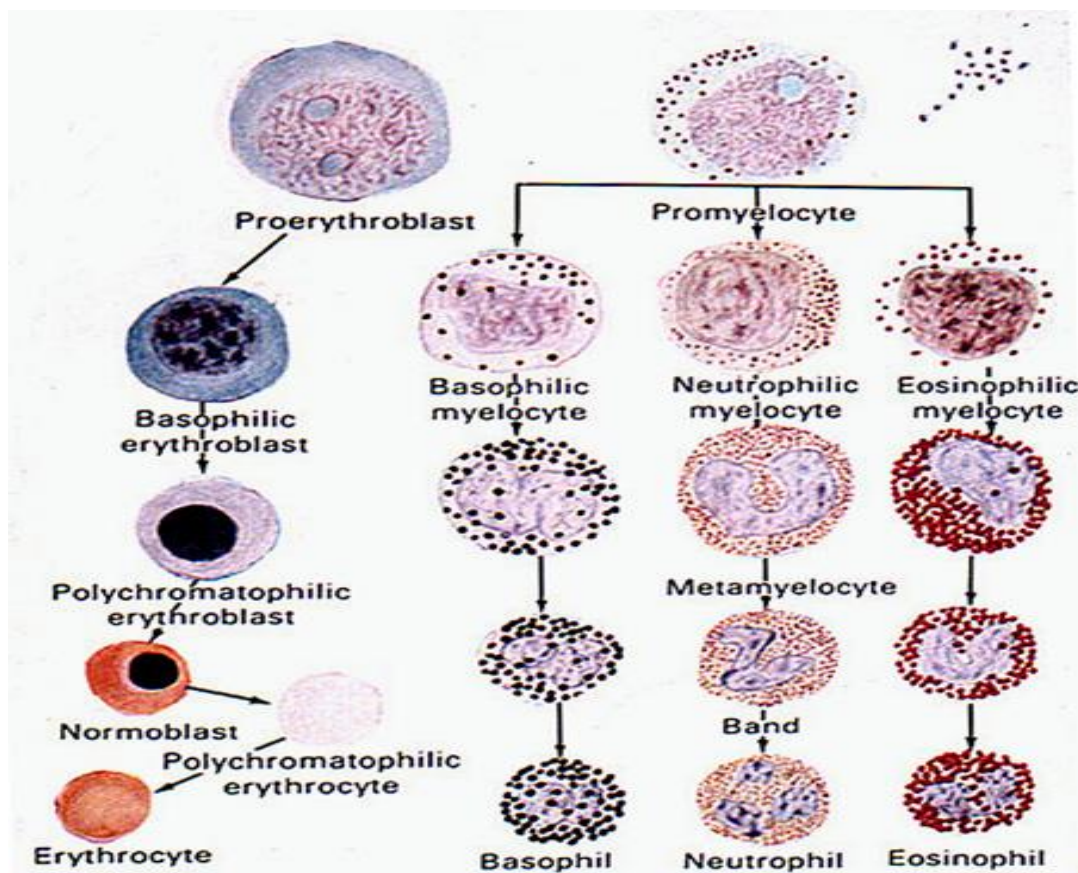
* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

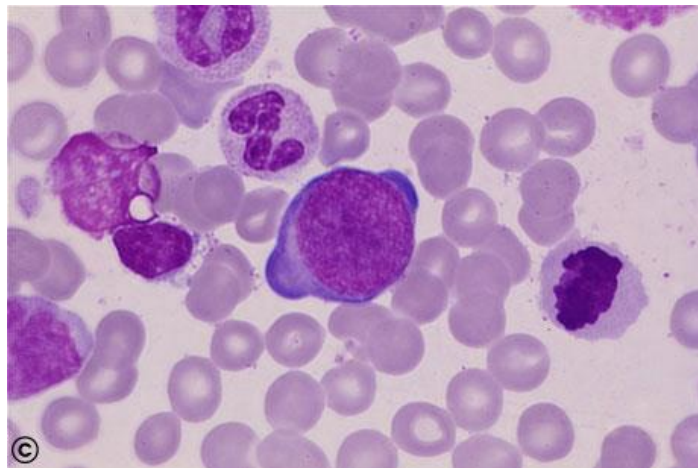
1. Đại cương về dòng hồng cầu

1.1. Các giai đoạn phát triển của dòng hồng cầu:



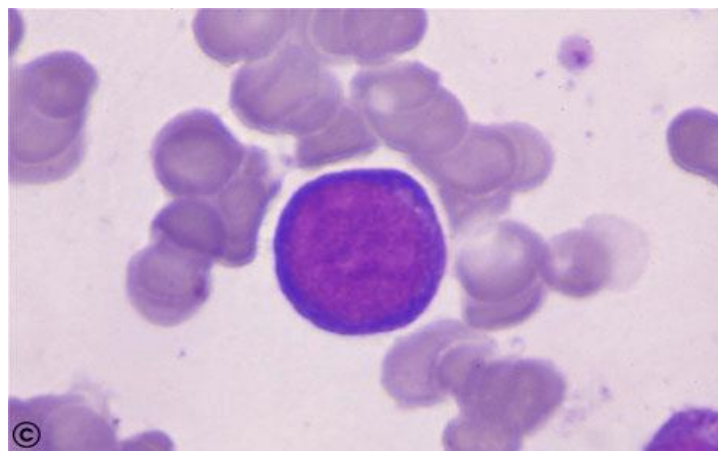
Hình 1.1. Sơ đồ phát triển của dòng hồng cầu trong quá trình sinh máu

1.1.1. Nguyên tiền hồng cầu (proerythroblast): là tế bào sớm nhất của dòng hồng cầu, được phân chia từ CFE-U (đơn vị tạo cụm hồng cầu- nguyên bào máu), có đường kính 15-30 μm , hình tròn hoặc bầu dục, nhân chiếm 8/10 tế bào, lưới màu nhân thô, khối chất nhiễm sắc dày đặc, có 1- 2 hạt nhân, xung quanh nhân có thể có liềm sáng ngăn cách giữa nhân và nguyên sinh chất. Bào tương ưa base mạnh, bào tương không có hạt, có thể có 1- 2 giả túc. Tế bào này có khả năng phân bào mạnh. Trong tủy xương tế bào này chiếm khoảng 0- 0.5% tổng số tế bào tủy.



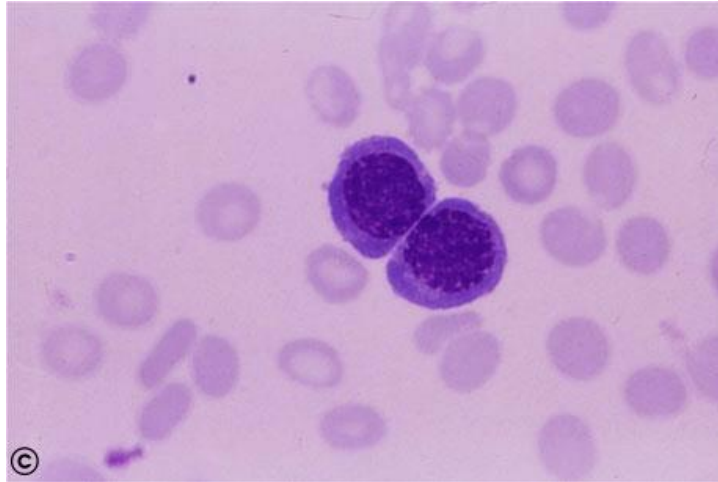
Hình 1.2 Nguyên tiền hồng cầu

1.1.2. Nguyên hồng cầu ưa bazơ (basophilic erythroblast): Được phân chia từ nguyên tiền hồng cầu, kích thước nhân nhỏ hơn, khối nhiễm sắc dày và đặc, bắt màu tím đỏ, nhân có đường nứt hình nan hoa xe đạp hay hình bàn cờ, không có hạt nhân. Nguyên sinh chất rất ưa baso, màu xanh da trời. Giai đoạn này tế bào phân chia rất mạnh, chiếm 1- 7% tế bào tủy.



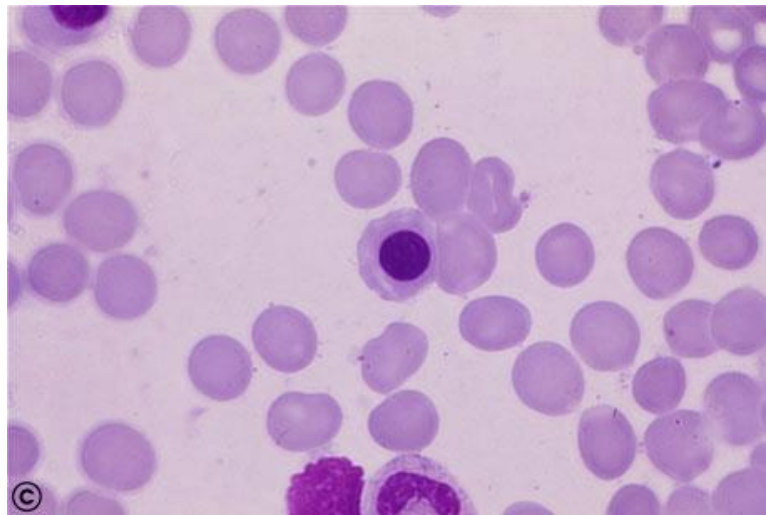
Hình 1.3. Nguyên hồng cầu ưa bazơ

1.3. Nguyên hồng cầu đa sắc (polychromatophilic erythroblast): Kích thước 9-12 μm , không có khả năng phân chia, chỉ biệt hóa thành nguyên hồng cầu ưa acid và hồng cầu lưới. Bào tương có màu huyết sắc tổ pha trộn với màu ưa base. Nhân tế bào nhỏ dần, nằm ở trung tâm bào tương, lưới màu nhân bắt đầu đông vón lại tạo nên hình ảnh những "cục" đều đặn (khối chất nhuộm sắc rất thô). Chiếm 3- 14% tế bào tủy người bình thường.



Hình 1.4. Nguyên hồng cầu đa sắc

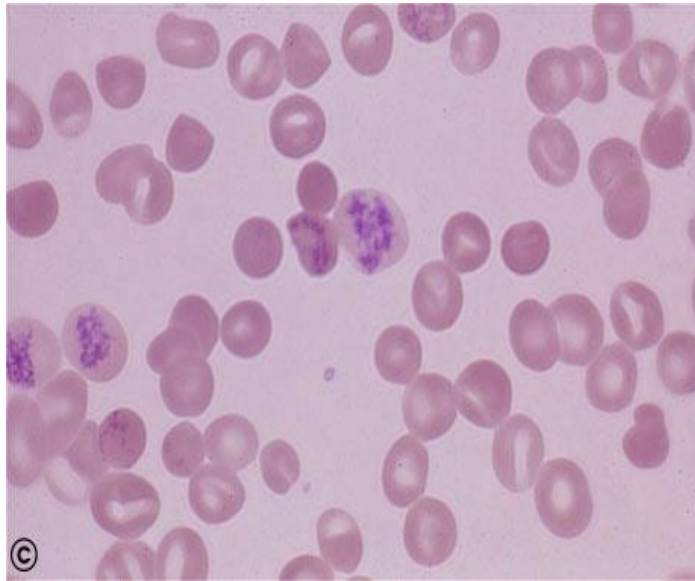
1.4. Nguyên hồng cầu ưa acid (Acidophylic erythroblast): có đường kính 8- 9 μm . Nhân tròn nhỏ, lưới màu rất thô nằm ở chính giữa tế bào và bắt màu tím sẫm. Bào tương ưa base giảm, huyết sắc tổ hình thành làm cho nguyên sinh chất có màu đỏ hồng gần giống màu của hồng cầu trưởng thành. Chiếm 10- 20% tế bào tủy.



Hình 1.5. Nguyên hồng cầu ưa acid

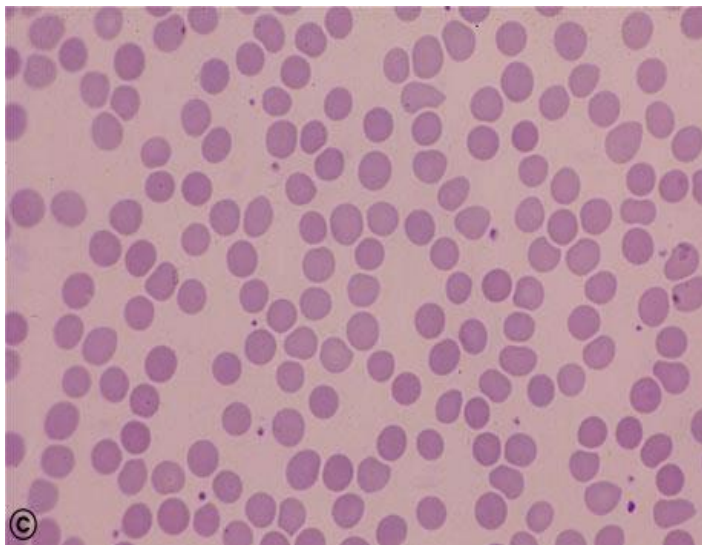
1.5. Hồng cầu lưới (Reticulocyte): Là hồng cầu đặc biệt chuyển từ hồng cầu có nhân thành hồng cầu trưởng thành không nhân, chỉ còn lại vết tích của nhân dưới dạng hạt hoặc lưới. Khi nhuộm xanh cresyl thấy giữa các lưới sợi có những hạt bắt màu xanh đen, còn gọi là hình hạt dây. Tế bào càng non hơn thì hạt lưới càng nhiều hơn. Trong máu ngoại vi bình thường có 0,5 - 1 % và trong tủy có 1- 1,5%. Ở trẻ sơ

sinh tỷ lệ này cao hơn. Số lượng hồng cầu lưới tăng nhiều hay ít tùy thuộc vào khả năng sinh máu của tủy xương. Trong trường hợp tan máu thì tỷ lệ này tăng cao.



Hình 1.6. Hồng cầu lưới

1.6. Hồng cầu trưởng thành (Erythrocyte): Hồng cầu lưới sau khi mất ribosom trở thành hồng cầu trưởng thành. Các hồng cầu có kích thước 7-8 μm , có hình đĩa lõm 2 mặt thuận lợi cho vận chuyển và trao đổi khí, bắt màu hồng nhạt. Trên tiêu bản nhuộm giemsa hồng cầu có hình tròn, bắt màu hồng, trung tâm nhạt màu.

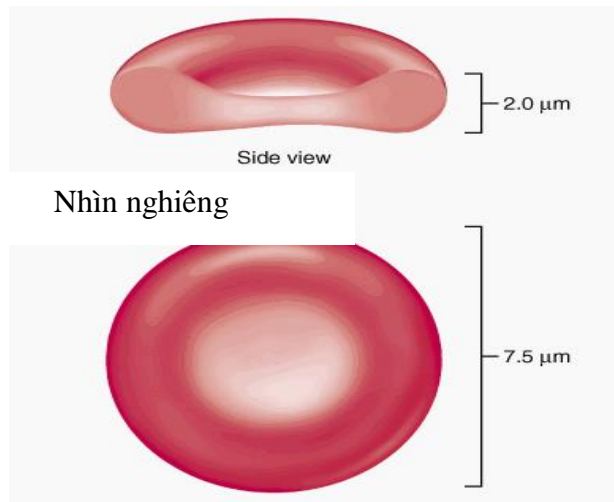


Hình 1.7: Hồng cầu trưởng thành

Quá trình biệt hóa toàn bộ dòng hồng cầu mất 3-5h. Hồng cầu lưới được giải phóng vào tuần hoàn sau 1-2h.

1.1. Cấu trúc của hồng cầu trưởng thành và các yếu tố ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu:

1.1.1. Cấu trúc của hồng cầu trưởng thành:



Hình 1.8: Thiết đồ hồng cầu

Hồng cầu có hình đĩa lõm 2 mặt, có đường kính trung bình 7,5 μm , chiều dày 1 μm ở trung tâm và 2,5 μm ở ngoại vi.

Hồng cầu là những tế bào có hình dạng và cấu trúc đặc biệt. Hồng cầu không có nhân và ít bào quan. Cấu trúc hồng cầu gồm hemoglobin và khung tế bào gồm các chất xơ và protein.

1.1.2. Cấu tạo các hợp phần của phân tử HST

Huyết sắc tố (HST), còn gọi là hemoglobin là chất làm cho máu có màu đỏ. Huyết sắc tố là một protein phức tạp, huyết sắc tố ở trong hồng cầu để thực hiện chức năng vận chuyển ô xy từ phổi đến tổ chức và mang CO_2 từ tổ chức về phổi để thải ra ngoài.

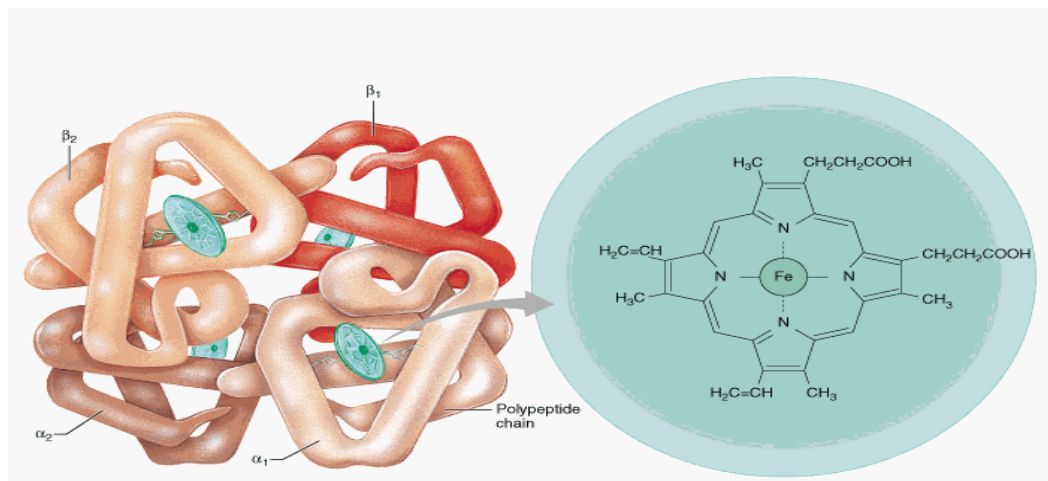
1.1.2.1. Cấu tạo phân tử HST

* Cấu tạo tổng quát

- HST được cấu tạo gồm hai phần là hem và globin (tạo nên hemoglobin).
- Một phân tử HST đầy đủ gồm 4 dưới đơn vị, mỗi dưới đơn vị là một chuỗi globin kết hợp với một nhân hem.

Hem là phân tử cacbua hydro vòng gọi là protoporphyrin kết hợp với ion sắt (Fe^{++}). Globin là một chuỗi polypeptit (một chuỗi protein đơn do các a.amin liên kết với nhau).

Có nhiều loại chuỗi globin, được chia thành hai họ là họ globin α và globin không α . Do vậy tạo nên nhiều loại HST khác nhau. Ở người lớn bình thường thì chủ yếu là HST A, có cấu tạo gồm 2 chuỗi α (họ α) kết hợp 2 chuỗi β (họ không α)



Hemoglobin

Nhân Hem

Hình 1.9: Cấu trúc hemoglobin

+ Hem

Hem là protoporphyrin gắn với ion sắt. Protoporphyrin là hydrocarbua vòng, có 4 nhân pyrol, nguyên tử sắt ở trung tâm, có 4 liên kết với 4 nguyên tử N của nhân pyrol và liên kết với a.amin của globin. Còn một vị trí có thể gắn với oxy tạo nên oxyhemoglobin, cũng có thể gắn carbon.

Nhờ đặc tính đó mà huyết sắc tố có thể vận chuyển oxy, cacbonic.

+ Globin

Globin là chuỗi (mạch) polypeptit, có các globin thuộc họ α là: α , ξ (zeta); các globin thuộc họ không α là: β , δ , γ , ϵ (epsilon); các globin α và ξ có 141 a.amin, các globin họ không α có 146 a.amin.

Có thể phân tích cấu trúc globin như sau:

Cấu trúc bậc 1: Là trình tự và thành phần các a.amin trong chuỗi polypeptit. Trình tự này do gen quy định. Các a.amin cạnh nhau liên kết với nhau bằng liên kết peptit.

Cấu trúc bậc 2: Chuỗi liên tiếp các a.amin bậc 1 xoắn vòng nhờ các liên kết bậc 2 là liên kết giữa các a.amin có trình tự không gần nhau.

Cấu trúc 3: Các đoạn vòng gấp khúc tạo nên 1 hình khối, và hình thành 1 hốc, trong đó chứa hem.

Cấu trúc bậc 4: Là sự phối hợp các chuỗi globin (các tiểu phần) để hình thành phân tử HST. Trong mỗi phân tử HST có 4 tiểu phần (4 chuỗi globin) thì hai chuỗi thuộc họ α hai chuỗi thuộc họ không α .

Về cấu trúc không gian, hai chuỗi cùng họ xếp đối xứng nhau (sơ đồ ở hình 1).

*** Cấu tạo các phân tử HST bình thường**

Như ta biết hai chuỗi thuộc họ α kết hợp 2 chuỗi thuộc họ không α hình thành một loại huyết sắc tố. Do có các loại chuỗi khác nhau vì vậy có các HST khác nhau là:

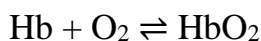
- HST Gower I: gồm 2 chuỗi ξ nối với 2 chuỗi ε , ký hiệu ξ_2, ε_2 .
- HST Gower II: gồm 2 chuỗi α nối với 2 chuỗi ε , ký hiệu α_2, ε_2 .
- HST Portland: gồm 2 chuỗi ξ nối với 2 chuỗi γ , ký hiệu ξ_2, γ_2 .
- HST F : gồm 2 chuỗi α nối với 2 chuỗi γ , ký hiệu α_2, γ_2 .
- HST A₁ : gồm 2 chuỗi α nối với 2 chuỗi β , ký hiệu α_2, β_2 .
- HST A₂ : gồm 2 chuỗi α nối với 2 chuỗi δ , ký hiệu α_2, δ_2 .

Các HST Gower I, Gower II, Portland chỉ có mặt ở giai đoạn phôi, HST F là HST chủ yếu thời kỳ thai nhi, ở người lớn chỉ còn rất ít; HST A₁, A₂ được hình thành ở giai đoạn phát triển thai và là HST chủ yếu ở người trưởng thành.

1.1.2.2. Hoạt động chức năng của huyết sắc tố

* Vận chuyển oxy từ phổi đến tổ chức

Huyết sắc tố có phản ứng với oxy tạo oxyhemoglobin đây là phản ứng thuận nghịch.

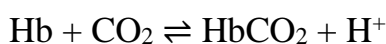


Ở phổi do phân áp O₂ cao nên sẽ có phản ứng tạo nhiều HbO₂.

Ở tổ chức phân áp O₂ thấp nên phản ứng theo chiều ngược lại, HST nhường O₂ cho tổ chức và trở thành Hb tự do.

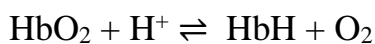
* Giúp đào thải CO₂ và H⁺

- Ở tổ chức có nhiều CO₂, nên CO₂ vào hồng cầu khi máu đến tổ chức. Trong hồng cầu CO₂ kết hợp với HST theo phản ứng 2 chiều.



Vì ở tổ chức có nhiều CO₂ nên phản ứng theo chiều thuận, ở phổi ít CO₂, phản ứng theo chiều nghịch, vì vậy HST giúp chuyển CO₂ từ tổ chức về phổi.

- Tương tự CO₂ ở tổ chức sau quá trình tế bào hoạt động tạo nhiều ion H⁺, môi trường axit và có phản ứng giữa H⁺ với HST.



Ở tổ chức nồng độ H⁺ cao nên phản ứng theo chiều thuận, điều này vừa giúp HST giải phóng O₂, nhận H⁺. Khi hồng cầu theo máu về phổi tiếp xúc với không khí thở vào có ít H⁺, phản ứng theo chiều nghịch giúp thải H⁺ và nhận oxy. Như vậy HST giúp điều hoà ion H⁺.

1.1.2.3. Tổng hợp huyết sắc tố

* Quá trình tổng hợp HST và phát triển dòng hồng cầu

Trong quá trình trưởng thành của dòng hồng cầu, các nguyên hồng cầu vừa phân chia vừa tổng hợp HST.

Tổng hợp HST giúp nguyên hồng cầu trưởng thành dần và chuyển từ nguyên hồng cầu ưa bazơ sang đa sắc, rồi đến nguyên hồng cầu axit và tạo hồng cầu lưới. Để tổng hợp HST thì nguyên hồng cầu vừa tổng hợp hem vừa tổng hợp globin.

*** Tổng hợp hem**

Trong hồng cầu có một hệ thống enzym tác động để tổng hợp hem, quá trình tổng hợp bắt đầu là phản ứng kết hợp giữa glycine với succinyl Côenzym A, qua nhiều bước với sự tham gia của nhiều enzym .

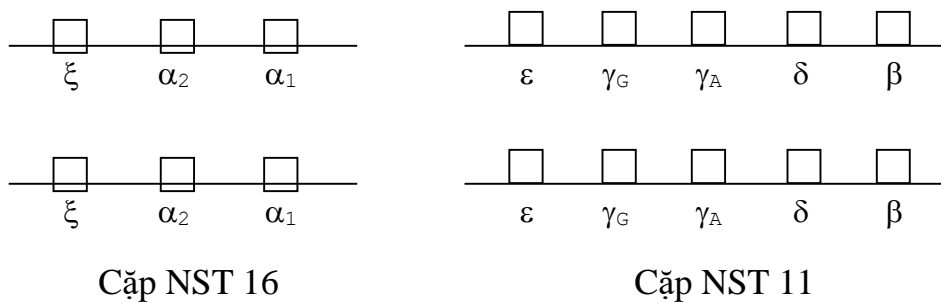
*** Tổng hợp globin**

- Gen globin

Các globin là các chuỗi polypeptit, mỗi loại globin có 1 gen globin. Như vậy chúng ta có họ gen globin α và họ gen globin không α .

+ Họ gen globin α : gồm 2 gen α và 1 gen ξ nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể (NST) 16. Mỗi người có 2 NST 16 do đó có 4 gen α và 2 gen ξ .

+ Họ gen globin không α gồm các gen: gen β , gen δ , gen γ_A và γ_G , gen ϵ . Các gen này nằm trên nhiễm sắc thể (NST)11 (hình 2). Gen γ_A và γ_G đều mang thông tin mã hoá chuỗi γ .



Hình 1.10: Mô hình phân bố gen globin trên nhiễm sắc thể

+ Hoạt động của gen globin ở các giai đoạn phát triển cá thể

Phát triển cá thể là các giai đoạn phát triển từ khi hình thành hợp tử qua giai đoạn phôi, thai, ra đời và trưởng thành đến già.

Mọi người đều có đầy đủ các gen globin nhưng tùy theo từng giai đoạn mà có loại gen hoạt động để tạo HST khác nhau.

Ở giai đoạn phôi:

Khoảng tuần thứ 2 của phát triển phôi bắt đầu sinh máu thì các gen ξ , α , ϵ , γ hoạt động tạo ra các globin tương ứng và khi kết hợp hình thành nên các loại HST

Gower I, Gower II, Portland.

Gen α duy trì hoạt động ở mức cao cho đến khi ra đời, trưởng thành. Các gen ξ , ϵ nhanh chóng ngừng hoạt động vì vậy các HST Gower I, II, Portland cùng giảm nhanh và hết sau hơn 2 tháng.

Gen γ tiếp tục hoạt động cho đến khi sinh thì giảm nhanh.

Gen β bắt đầu hoạt động muộn và tăng chậm, đến khi sinh thì tăng nhanh và ở mức cao.

Gen δ hoạt động chậm và ít hơn.

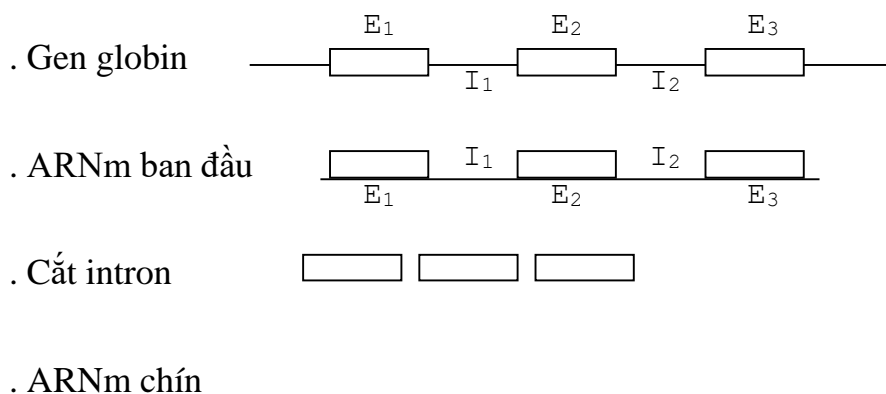
- Quá trình tổng hợp chuỗi globin

Như ta đã biết, chuỗi globin là chuỗi polypeptit được tổng hợp dựa trên khuôn mẫu là trình tự nucleotit của gen globin. Phần gen cấu trúc của gen globin có 3 vùng exon và xen kẽ 2 intron. Vùng exon là vùng mang thông tin quyết định trình tự a.amin trong chuỗi globin. Như vậy quá trình tổng hợp chuỗi globin gồm các giai đoạn:

+ Phiên mã:

. Tổng hợp ARNm ban đầu: ARNm (ARN thông tin) được tổng hợp gồm cả vùng exon và vùng intron.

. Chín ARNm: ARNm ban đầu sẽ bị cắt bỏ các đoạn tương ứng với intron và nối các exon với nhau. Giai đoạn này còn gọi là giai đoạn cắt intron. Để thực hiện cắt thì các intron sẽ gấp khúc lại để kéo điểm đầu của exon sau lên tiếp với điểm cuối exon trước (hình 4), sau khi cắt xong sẽ có ARNm chín.



Hình 1.11: Quá trình tổng hợp globin

Dịch mã: Dịch mã tạo polypeptit

ARNm chín đi ra bào tương đến các riboxom, tại đây các ARNt (ARN vận tải) sẽ mang các a.amin đến để tổng hợp nên chuỗi polypeptit.

Thành phần và thứ tự các a.amin do thành phần và thứ tự các bộ ba nucleotid

ở ARNm chín quy định. Polypeptit được hình thành đó là cấu trúc bậc 1 của chuỗi globin.

1.1.2.4. Hình thành huyết sắc tố

Các chuỗi globin được tổng hợp sẽ gắn với hem hình thành một tiểu phần của HST, 4 tiểu phần liên kết tạo nên phân tử HST.

1.1.3. Tỷ lệ các loại HST ở người bình thường

Có nhiều loại chuỗi globin kết hợp tạo nên nhiều loại huyết sắc tố. Tuy nhiên sau khi sinh thì các gen α và β là hoạt động chủ yếu và từ 1 tuổi thì tỷ lệ các loại huyết sắc tố trong máu khá ổn định. Bảng 3.1 trình bày tỷ lệ các loại HST.

Bảng 1.1: Tỷ lệ các loại HST ở một số giai đoạn (%)

Giai đoạn	HST A	HST A ₂	HST F
Sơ sinh	20 – 40	0,03 - 0,6	60 - 80
6 tháng tuổi	93 – 97	2,0 - 3,0	1,0 - 5,0
≥ 1 tuổi	97	2,0 - 3,0	0,4 - 2,0

1.1.4. Một số yếu tố ảnh hưởng tới tổng hợp HST

1.1.4.1. Ảnh hưởng tới tổng hợp hem

* Thiếu sắt

Các nguyên nhân thiếu sắt làm cho quá trình tổng hợp hem bị hạn chế do vậy gây ra thiếu hem, thiếu HST, đó là bệnh thiếu máu thiếu sắt.

* Thiếu enzym tổng hợp hem

Để tổng hợp hem, cần tổng hợp protoporphyrin, và yêu cầu phải có hệ thống enzym hoạt động bình thường. Thiếu các enzym này (thường là bệnh bẩm sinh) gây ra rối loạn tổng hợp protoporphyrin, không sử dụng được sắt, cùng gây thiếu máu. Ngoài ra còn có biểu hiện đái ra các chất trung gian của quá trình tổng hợp protoporphyrin, gọi là **bệnh đái porphyrin**.

1.1.4.2. Ảnh hưởng tới tổng hợp globin

Giảm tổng lượng globin:

Do tổn thương di truyền của gen globin, làm cho gen này không hoạt động hay giảm mức tổng hợp globin gây ra thiếu một loại chuỗi, đó là bệnh thalassemia.

Tổn thương gen kiểu đột biến làm đổi một bộ ba này thành bộ ba khác, khi dịch mã là 1 a.amin khác tạo nên 1 globin bất thường, đó là bệnh HST bất thường.

1.1.5. Thoái hoá huyết sắc tố

HST được tổng hợp và ở trong hồng cầu. Khi hồng cầu già hay vì một lý do nào đó bị vỡ giải phóng HST. HST sẽ kết hợp với haptoglobin. Phức hợp

haptoglobin - huyết sắc tố đến gan và tại đây HST sẽ giải phóng hem. Hem sẽ mất sắt chuyển thành biliverdin rồi thành bilirubin tự do. Bilirubin tự do được tế bào gan chuyển hoá nhờ enzym liên hợp tạo nên bilirubin liên hợp còn gọi bilirubin trực tiếp. Bilirubin trực tiếp được giải phóng qua đường mật vào ống tiêu hoá. Tại đây chúng tiếp tục chuyển hoá thành stercobilirubin và urobilirubin nhờ một số vi khuẩn. Một phần urobilirubin tái hấp thu rồi thải trừ qua thận.

1.1.6. Ứng dụng nghiên cứu huyết sắc tố trong lâm sàng

1.1.6.1. Định lượng HST để chẩn đoán thiếu máu

Huyết sắc tố là thành phần hoạt động chức năng của hồng cầu, khi huyết sắc tố không đạt nồng độ cần thiết trong máu thì coi là thiếu máu. Nồng độ này ở nam là 140 - 160g/l, ở nữ là 125 - 145g/l.

1.1.6.2. Phân tích thành phần huyết sắc tố để chẩn đoán bệnh huyết sắc tố

- Trường hợp thalassemia sẽ có biến động về tỷ lệ các huyết sắc tố.
- Trường hợp có huyết sắc tố bất thường có thể phát hiện do đặc điểm tích điện của chuỗi polypeptit thay đổi. Thường người ta dùng các kỹ thuật điện di rồi nhuộm màu để phát hiện các thành phần huyết sắc tố trong máu.

1.1.6.3. Định lượng các chất liên quan tới thoái hoá huyết sắc tố

- Định lượng haptoglobin để biết lượng haptoglobin còn tự do giúp chẩn đoán hiện tượng tan máu.
- Định lượng bilirubin để xác định mức độ phân huỷ hồng cầu.

1.2.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu

Bình thường hồng cầu có đời sống khoảng 120 ngày. Có các yếu tố tế bào và môi trường ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu.

* **Yếu tố tế bào:** chuyển hóa hồng cầu bị thoái triển dần do các men nội bào không được thay thế, tế bào không tiếp tục sống được và sẽ chết. Rối loạn cấu trúc màng hồng cầu, khung tế bào, hemoglobin hay các men hồng cầu đều có thể ảnh hưởng đến đời sống hồng cầu.

*** Yếu tố môi trường**

- Các sang chấn vật lý, hóa học: hoạt động của van tim nhân tạo, các sợi fibrin lắng đọng, tăng thân nhiệt, tiếp xúc với các chất hóa học.
- Các yếu tố miễn dịch: các kháng thể chống lại kháng nguyên màng hồng cầu, vai trò trung gian của bổ thể.

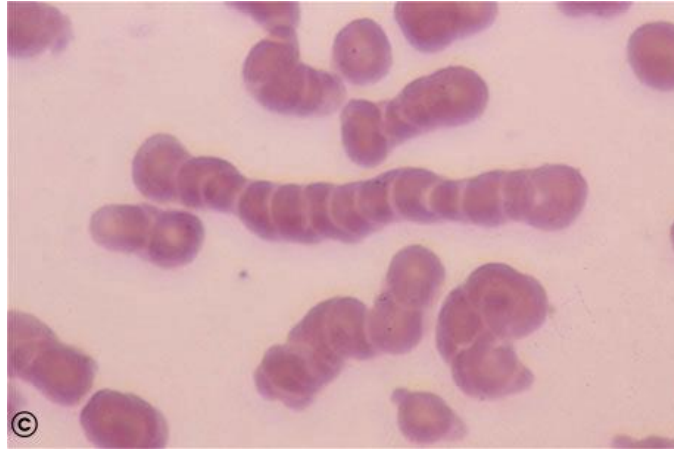
1.3. Một số hình ảnh bất thường của hồng cầu trưởng thành

1.3.1. Bất thường phân bố

* **Hồng cầu ngưng kết:** tạo thành đám trên không gian ba chiều, gặp trong tan máu

tự miễn.

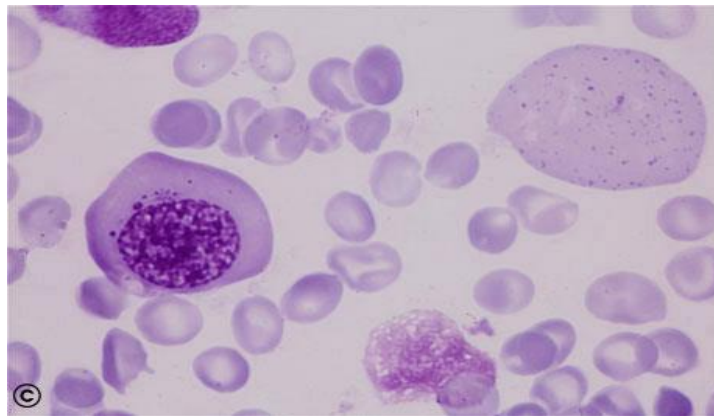
* **Hồng cầu chuỗi tiền:** tạo thành chuỗi hồng cầu đứng sát nhau, gặp trong đa u tủy xương hay bệnh lý rối loạn protein huyết tương.



Hình 1.12. Hồng cầu chuỗi tiền

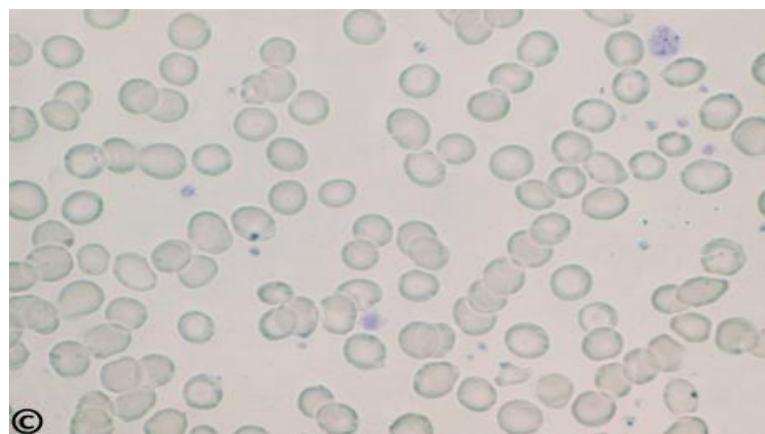
1.3.2. Bất thường về kích thước

* **Hồng cầu to (Macrocyte):** khi thể tích trên 100 fl, đường kính trên 8,5 μm . Gặp trong thiếu acid folic, vitamin B12, tan máu ...



Hình 1.13. Hồng cầu to

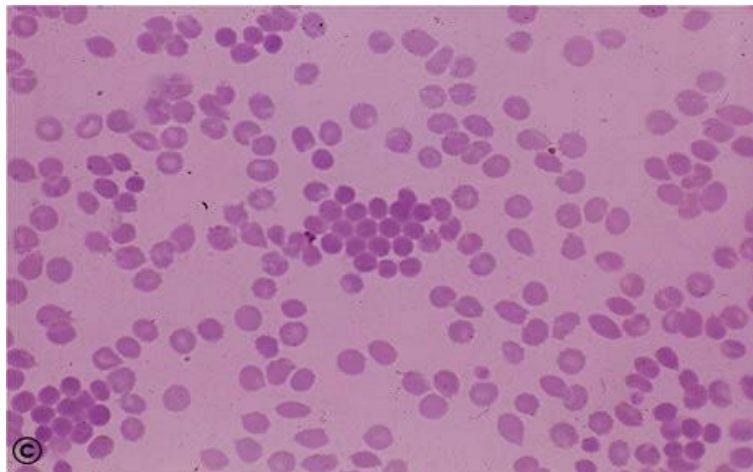
* **Hồng cầu nhỏ:** Khi thể tích trung bình dưới 80 fl, đường kính dưới 6 μm , gặp trong các trường hợp thiếu máu thiếu sắt, bệnh lý huyết sắc tố.



Hình 1.14. Hồng cầu nhỏ nhược sắc

1.3.3. Bất thường về hình thái

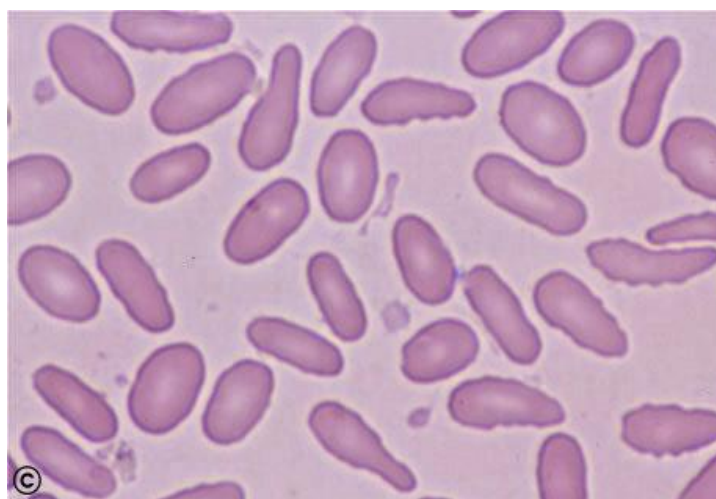
* **Hồng cầu hình cầu (spherocyte):** trên tiêu bản các hồng cầu bắt màu đậm, không còn vùng nhạt màu trung tâm, đường kính thường nhỏ hơn hồng cầu bình thường nhưng thể tích lại lớn, do tổn thương màng hồng cầu di truyền, gặp trong bệnh hồng cầu hình cầu bẩm sinh hay mắc phải., tan máu miễn dịch.



Hình 1.15. Hồng cầu hình cầu

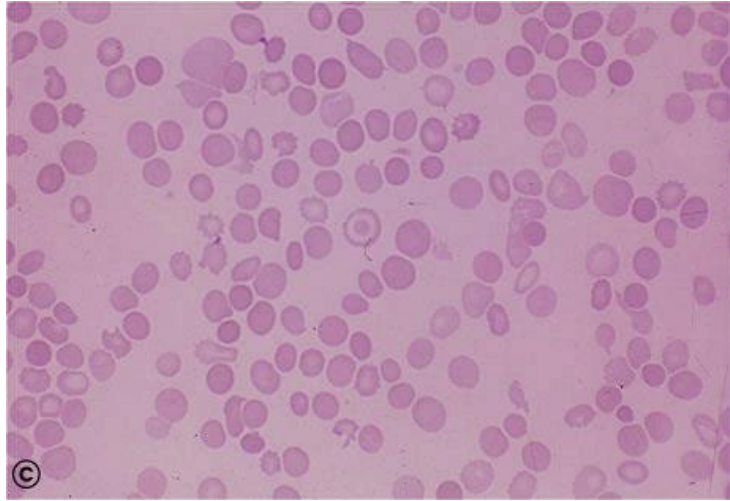
* **Hồng cầu hình bầu dục (elliptocyte):** không còn vùng nhạt ở trung tâm, gặp 1% ở người bình thường, ở bệnh thiếu máu hồng cầu bầu dục bẩm sinh, thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ, thiếu máu nhược sắc thiếu sắt, bệnh HbS, HbC, thalassemie.

Thể tích trung bình hồng cầu giảm do đó lượng huyết sắc tố trung bình cũng giảm, nhưng nồng độ HST lại bình thường.



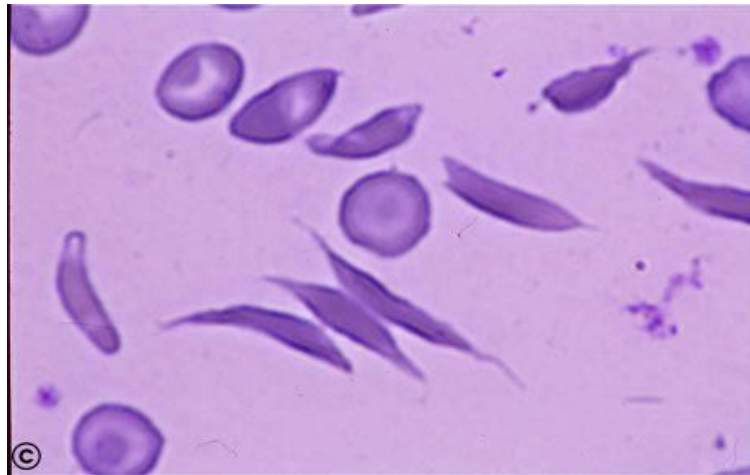
Hình 1.16. Hồng cầu hình bầu dục

* **Hồng cầu hình bia bắn (target cell):** Giữa vùng nhạt màu, trung tâm xuất hiện thêm vòng tròn sắc tố bắt màu đậm, gặp trong bệnh lý huyết sắc tố, thiếu máu thiếu sắt, thiếu máu tan máu.



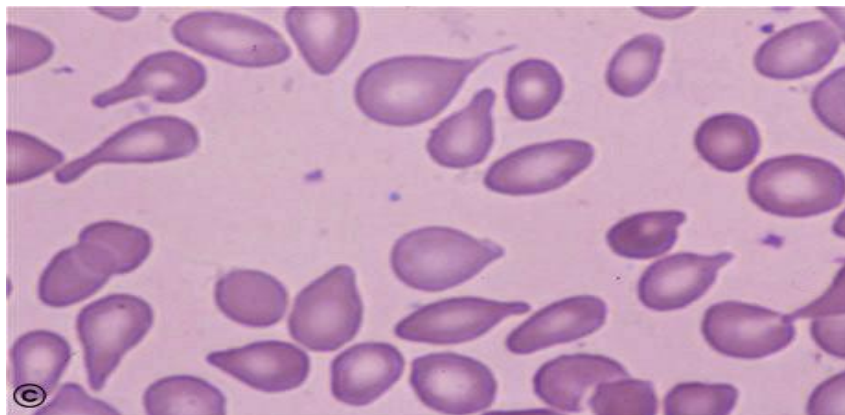
Hình 1. 17. Hồng cầu hình đĩa lõm

* **Hồng cầu hình liềm (drepanocyte):** gặp trong bệnh lý huyết sắc tố S đồng hoặc dị hợp tử.



Hình 1.19. Hồng cầu hình liềm

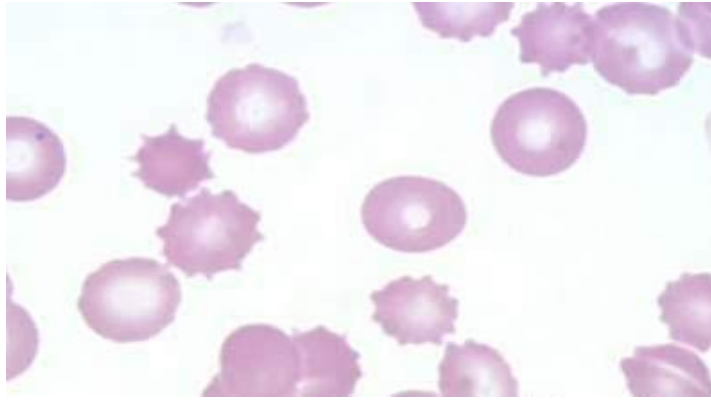
* **Hồng cầu hình giọt nước (teardrop cell):** gặp ở các bệnh lý dị sản tuỷ, thalassemia và ung thư di căn tuỷ.



Hình 1. 20. Hồng cầu hình giọt nước

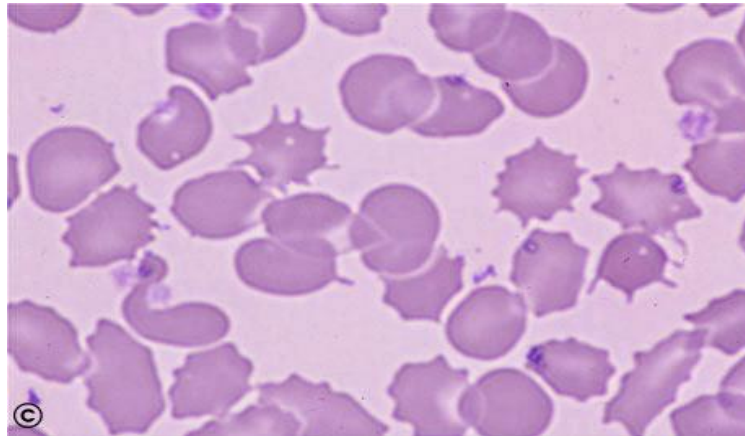
* **Hồng cầu hình răng cưa (echinocyte và tế bào Burr):** thường do thay đổi pH máu (máu lưu trữ lâu ngày), hoặc trong bệnh thiếu máu có suy thận gây ra hiện

tượng màng tế bào không còn tròn đều.



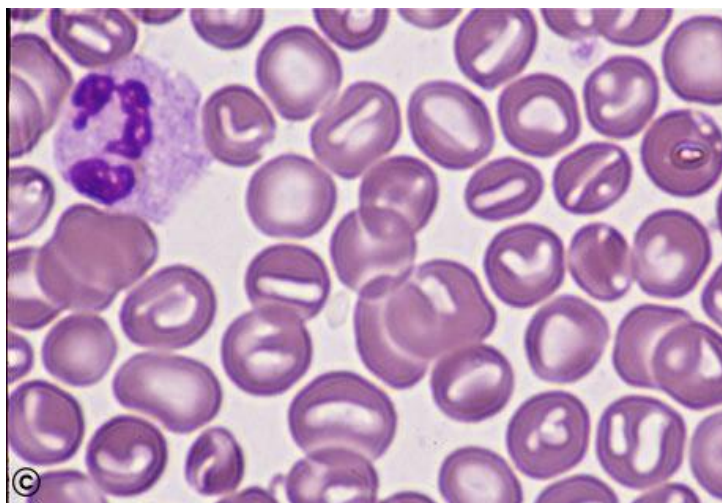
Hình 1.21: Hồng cầu hình răng cưa

* **Hồng cầu hình gai (acanthocyte):** kích thước nhỏ hơn, màng rất không đều so với hồng cầu hình răng cưa. Hay gặp trong bệnh lý xơ gan do rượu có tan máu, sau cắt lách, thiếu hụt pyruvat kinase.



Hình 1.22. Hồng cầu hình gai

* **Hồng cầu hình miệng (stomatocyte):** có vùng nhạt màu trung tâm hẹp giống như khe miệng. Nguyên nhân có thể là bầm sinh (do rối loạn trao đổi ion qua màng) hoặc bệnh lý gan mật.



Hình 1.23: Hồng cầu hình miệng

* **Mảnh vỡ hồng cầu (schistocyte):** Do hồng cầu vỡ trong cục máu đông (đông máu rải rác trong lòng mạch-DIC), mạch máu bị tổn thương, qua van tim nhân tạo, bệnh lý vi mạch, bồng năng, sau ghép thận, viêm cầu thận...do làm giảm sức bền hồng cầu. Kích thước các mảnh đa hình thái.

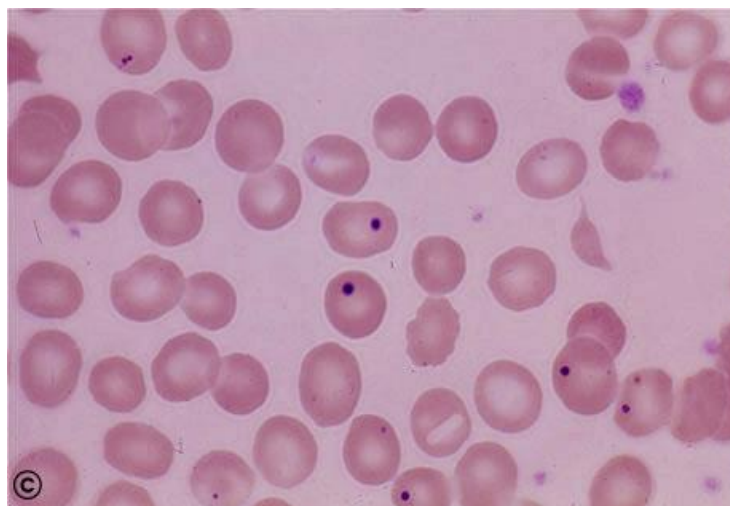


Hình 1.24. Mảnh vỡ hồng cầu

* **Thể bán nguyệt (semilunar bodies):** bóng lớn, hồng nhạt trong hồng cầu. Gặp trong sốt rét hoặc tan máu.

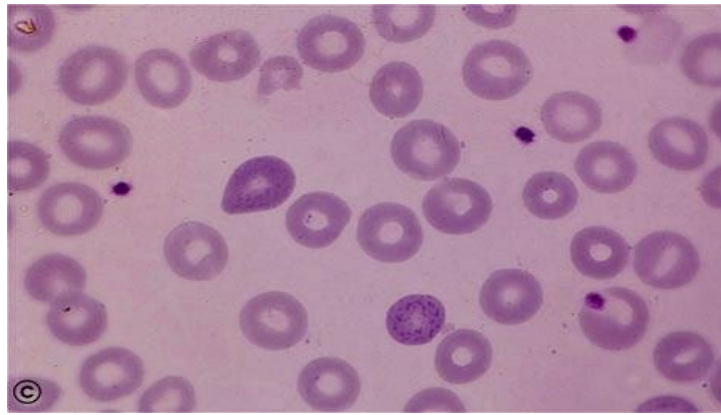
* **Thể vùi**

- **Thể Howell-Jolly:** Phần tồn dư của nhân hồng cầu trong quá trình biệt hoá, hình tròn, nhỏ, bắt màu hồng đậm, thường nhỏ hơn $1\mu\text{m}$, đơn độc nhưng đôi khi cũng có vài thể trong 1 hồng cầu. Gặp trong thiếu máu tan máu, thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ, không có lách bẩm sinh hoặc cắt lách.



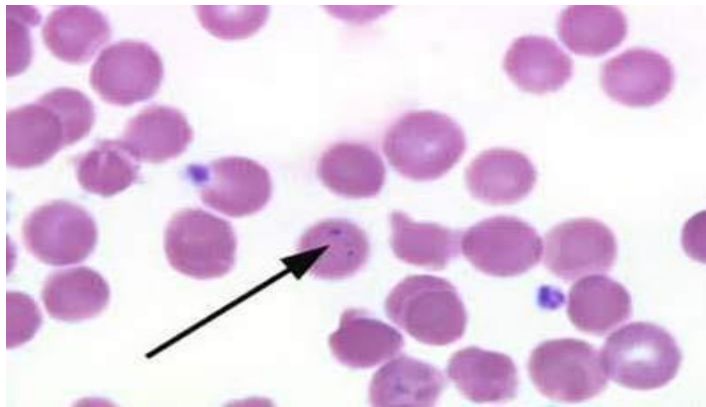
Hình 1.25. Thể Howell - Jolly

- **Các chấm ưa base:** Nhỏ mịn, bắt màu xanh thẫm hoặc tím, kích thước không đều. Do sự ngưng tập của ribosome. Gặp trong thalassemia, do rượu, thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ, nhiễm độc chì hoặc arsenic.



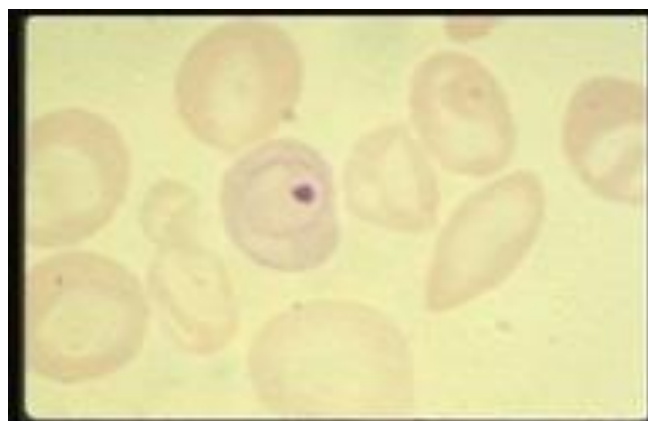
Hình 1.26. Các chấm ưa bazơ trong hồng cầu

- **Thể Pappenheimer (Hồng cầu sắt):** Hạt có kích thước nhỏ, không đều, màu xanh đen nằm rải rác trên bề mặt hồng cầu. Các thể này chứa sắt nên bắt màu khi nhuộm Perls. Gặp trong bệnh rối loạn sinh tủy, thalassemia và sau cắt lách, gặp nhiều ở thiếu máu thiếu sắt.



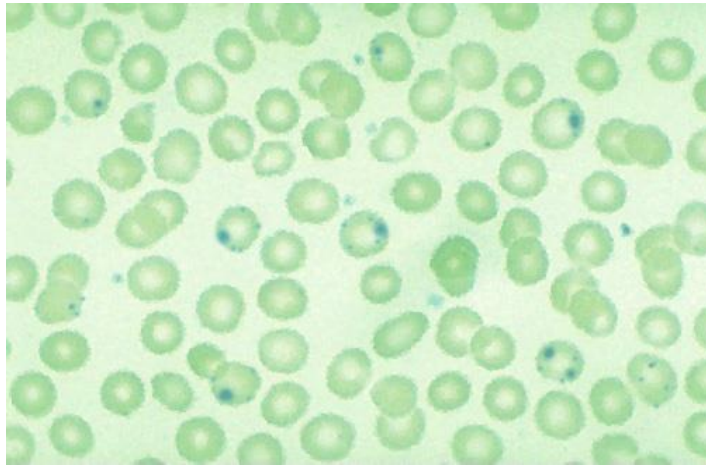
Hình 1.27. Thể Pappenheimer

- **Vòng Cabot:** là viền mảnh, nằm bên trong hồng cầu, gặp những hình sợi cuộn vòng hình tròn hoặc hình số 8 bắt màu hồng đỏ. Vòng cabot là tàn dư của sự thoái hóa của thoi vô sắc, hậu quả của một quá trình tổn thương lipoprotein trên bề mặt hồng cầu. Vòng cabot thường xuất hiện ở bệnh nhân thiếu máu tan máu, thalassemia, loxemi, nhiễm độc...



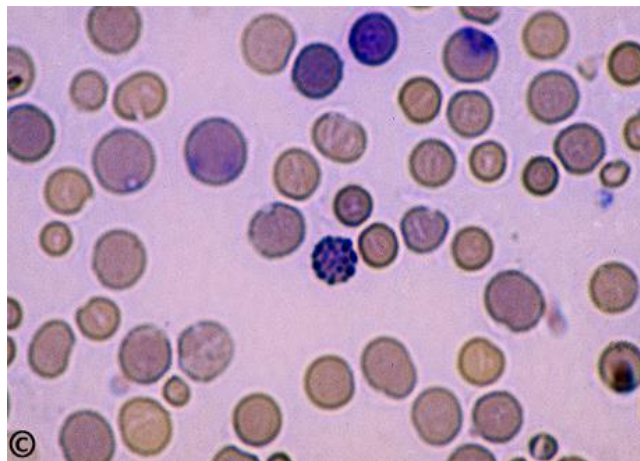
Hình 1.28. Vòng Cabot

- **Thể Heinz:** Hình tròn, do Hb bị tua lại, kích thước từ 1-3 μ m, quan sát rõ nhất khi nhuộm tươi với xanh methylen, xanh crésyl. Gặp trong bệnh thiếu hụt G6PD, sau cắt lách hoặc một số bất thường huyết sắc tố.



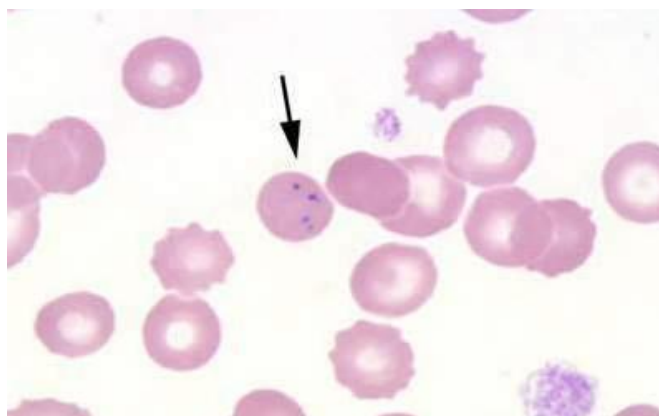
Hình 1.29. Thể Heinz

- **Huyết sắc tố H kết tủa:** thể nhỏ, màu xanh trong hồng cầu khi nhuộm bằng xanh cresyl. Gặp trong bệnh huyết sắc tố H.



Hình 1.30. Huyết sắc tố H kết tủa

-**Ký sinh trùng sốt rét:** trong hồng cầu cũng có thể quan sát được trên tiêu bản máu ngoại vi và rất cần chú ý để phát hiện.



Hình 1.31. Ký sinh trùng sốt rét trong hồng cầu

2. Các kỹ thuật xét nghiệm dòng hồng cầu

2.1. Kỹ thuật đếm số lượng hồng cầu

2.1.1. Nguyên tắc: Đếm số lượng hồng cầu của máu toàn phần trong một thể tích đã biết trước bằng cách pha loãng máu với dung dịch làm tan bạch cầu trong ống hút pha loãng, suy ra số lượng hồng cầu trong 1mm^3 máu.

2.1.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU BẰNG PP THỦ CÔNG

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (mặc quần áo blu, đeo thẻ công tác, tóc gọn gàng, đội mũ, đeo khẩu trang, móng tay cắt ngắn, đi găng,)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamen khô sạch + Kính hiển vi quang học + Pipet, potain
	Chuẩn bị hóa chất		- Dung dịch pha loãng hồng cầu Macano trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; còn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.

3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	<p>Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn</p>	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>
4	<p>Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên buồng đếm</p>	<p>Tránh nhầm lẫn</p>	<p>Ghi đầy đủ thông tin trên buồng đếm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm</p>
5	<p>Lắc đều ống bệnh phẩm</p>	<p>Trộn đều các tế bào máu</p>	<p>Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	<p>Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.</p>	<p>Đễ thuận lợi cho lấy máu vào potain</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Máu được hút liên tục đảm bảo không có bọt khí. Nhỏ đủ 3 - 4 giọt máu lên giữa lam kính
7	<p>Lấy máu từ lam kính vào potain</p>	<p>Đễ pha trộn hồng cầu</p>	<p>Máu được hút lên đúng vạch 0,5 của potain. Cột máu liên tục không đứt đoạn trong potain ống potain được lau sạch máu phía ngoài</p>
8	<p>Hút dung dịch Macano vào potain</p>	<p>Pha loãng máu trong potain</p>	<p>Dung dịch Macano được hút đến vạch 111 để có độ pha loãng 200 lần</p>
9	<p>Lắc trộn đều dung dịch pha loãng và máu</p>	<p>Trộn đều các tế bào hồng cầu.</p>	<p>Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất.</p>
10	<p>Lau buồng đếm và gắn lamên lên buồng đếm:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dùng bông có thấm nước phết lên 2 bờ của 	<p>Buồng đếm sạch để quan sát</p>	<p>Buồng đếm được lau sạch và khô bằng gạc.</p> <p>Lamên được gắn chặt lên 2 bờ buồng đếm, có đủ kích thước</p>

	<p>buồng đếm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Gắn lamen lên buồng đếm - nghiêng buồng đếm để kiểm tra 		<p>về chiều cao của buồng đếm 1/10 (mm)</p>
11	<p>Nhỏ hỗn dịch trong potain vào buồng đếm:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Lắc trộn đều và loại bỏ 3-4 giọt đầu potain - nhỏ lên cạnh bờ của lamen 	<p>Để đếm số lượng hồng cầu</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất - 3-4 giọt đầu potain được loại bỏ - Dung dịch được mao dẫn đều và kín hết buồng đếm.
12	<p>Xác định vị trí đếm số lượng hồng cầu:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Xác định đúng 5 ô lớn để đếm hồng cầu, tại 5 khu vực: trên trái, trên phải, dưới trái, dưới phải và ở giữa 	<p>Giúp đếm KQ chính xác số lượng hồng cầu</p>	<p>Xác định đúng vị trí đếm số lượng hồng cầu trên buồng đếm bằng vật kính 10</p>
13	<p>Đếm số lượng hồng cầu, xác định đúng tiêu chuẩn của các ô đếm:</p> <p>Đếm số lượng hồng cầu ở từng ô vuông nhỏ trong ô vuông lớn theo nguyên tắc chỉ đếm hồng cầu ở cạnh trên và trái</p>	<p>Đảm bảo KQ chính xác</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Số lượng hồng cầu được đếm chính xác ở tất cả các ô đã được xác định. Cho phép sai số <15% so với kết quả nhân viên y tế - Tiêu chuẩn các ô đếm được xác định đúng.
14	<p>Tính và nhận định kết quả</p>	<p>Đảm bảo kết quả chính xác</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Tính đúng số lượng hồng cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần

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

2.1.3. Giới hạn tham chiếu

- Trẻ sơ sinh : $5 \times 10^{12}/L$ đến $6 \times 10^{12}/L$
- Trẻ em : $3,8 \times 10^{12}/L$ đến $5,4 \times 10^{12}/L$
- Người lớn :
- + Nữ : $3,8 \times 10^{12}/L$ đến $4,2 \times 10^{12}/L$
- + Nam : $4,2 \times 10^{12}/L$ đến $5 \times 10^{12}/L$

2.1.4. Nhận định kết quả

- Số lượng hồng cầu tăng
- + Sinh lý: như những người sống ở vùng cao thiếu oxy, một số bệnh lý thiếu oxy...
- + Bệnh lý: bệnh đa hồng cầu, cô đặc máu...
- Số lượng hồng cầu giảm: thiếu máu, suy tủy, sau điều trị hóa chất, xạ trị, corticoid kéo dài, mất máu...

2.1.5. Nguyên nhân sai số

- Buồng đếm bẩn hay có nước.
- Ống pipet ẩm, ướt, sứt mẻ.
- Dung dịch pha loãng nhiều cạn hay vẫn đục.
- Lấy máu không đúng quy cách, đông dây, máu mao mạch bị pha loãng bởi dịch gian bào do nặn bóp đầu ngón tay nhiều khi chích máu.
- Không trộn đều máu và dung dịch pha loãng, hút máu không đúng vạch, dung dịch pha loãng thiếu hoặc thừa.
- Dán lá kính không đúng cách.
- Đếm tế bào không đúng: đếm sai, đếm không đủ ô.

- Tính sai kết quả.
- Để mẫu bệnh phẩm trong phòng khô quá lâu. Dung dịch trong ống mẫu bệnh phẩm bay hơi làm làm giảm thể tích máu, máu cô đặc.

2.2. Kỹ thuật định lượng huyết sắc tố

2.2.1. Nguyên tắc

Máu toàn phần tiếp xúc với acid HCl 0,1 N, hồng cầu bị phá vỡ, huyết sắc tố trong hồng cầu sẽ bị biến thành acid hematin.

Tiến hành pha loãng acid hematin bằng nước cất và so sánh màu sắc giữa acid hematin đã được pha loãng với màu của ống huyết sắc kế mẫu.

Đọc kết quả nồng độ huyết sắc tố trực tiếp trên ống nghiệm định lượng, tính bằng đơn vị gram/ 100 ml (g%).

2.2.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG HUYẾT SẮC TỐ BẰNG PP THỦ CÔNG

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ huyết sắc tố Sahli, bông thấm nước, gạc khô sạch, lam kính khô sạch. + Thùng rác y tế
	Chuẩn bị hóa chất		- Dung dịch HCl 0,1N còn hạn sử dụng, không vẩn đục, đựng trong lọ thủy tinh có nút mài; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới,

	phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm		mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên nghiệm thủy tinh	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	Đề thuận lợi cho lấy máu vào pipet Sahli	- Máu được hút bằng pipets và nhỏ lên lam kính 3 - 4 giọt.
7	Cho HCl 0,1 N vào ống nghiệm: Dùng bằng pipet thủy tinh khô sạch hút HCl 0,1 N cho vào ống nghiệm Sahli.	Đủ lượng acid để phá vỡ hồng cầu	Dung dịch HCl 0,1 N được hút liên tục không có bọt khí và được cho vào ống nghiệm Sahli đến vạch 2g%
8	Hút máu cho vào ống nghiệm Sahli: Dùng pipet Sahli hút máu đến vạch 0,02 ml. Cho máu vào ống nghiệm định lượng có sẵn HCl 0,1 N	Đúng và đủ lượng máu	Máu được hút liên tục không đứt đoạn. Lau sạch máu dính ngoài pipette cho máu vào ống nghiệm định lượng có sẵn HCl 0,1 N
9	Tráng pipet Sahli bằng dung dịch HCl	Đủ lượng máu	Pipette được tráng 3 lần bằng dung dịch HCl 0,1 N phía trên ống nghiệm và trộn đều, sạch

			ống nghiệm và không có bọt khí trong ống nghiệm.
10	Cho ống nghiệm vào hộp so màu	Đủ thời gian để HCl phá hủy hết hồng cầu tạo acid hematin	Ống nghiệm được đặt vào hộp so màu để đủ 10 phút.
11	Pha loãng acid hematin và so sánh màu trong ống nghiệm với huyết sắc ké	Đề màu của ống nghiệm trùng với màu của ống mẫu của bộ huyết sắc tố	Acid hematin được pha loãng bằng nước cất và nhỏ nước cất từ từ vào trộn đều, so màu cho đến khi trùng màu với ống chuẩn.
12	Đọc và nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Tính được lượng huyết sắc tố của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
14	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.2.3. Giới hạn tham chiếu

- Nam: $\geq 130\text{g/l}$
- Nữ :
- + Không có thai $\geq 120\text{g/l}$
- + Có thai $\geq 130\text{g/l}$

2.2.4. Nhận định kết quả

- Cần lưu ý những mẫu máu có số lượng bạch cầu cao, khi định lượng huyết sắc tố

bằng phương pháp Sahli kết quả sẽ tăng so với giá trị thực. Mẫu máu có số lượng bạch cầu $>100 \times 10^9/L$ sẽ làm cho acid hematin đục hơn và tăng kết quả nồng độ huyết sắc tố từ 5% - 10%.

- Kỹ thuật định lượng huyết sắc tố bằng phương pháp Sahli là kỹ thuật so màu bằng mắt thường, kết quả sẽ bị sai số từ 15 - 20%.

Lượng huyết sắc tố tăng: Đa hồng cầu, cô đặc máu

Huyết sắc tố giảm: thiếu máu, suy tủy, ...

2.2.5. Nguyên nhân sai số

- Pipette hoặc ống nghiệm định lượng nhiễm bẩn.
- Mẫu thủy tinh của tỷ sắc kế không đúng chuẩn.
- Dung dịch HCl để quá lâu hoặc không pha đúng nồng độ 0,1 N.
- Không lắc đều ống máu.
- Lấy máu không chính xác.
- Giỏ nước cất quá nhanh, sau 2- 3 giọt mới khuấy, hoặc khuấy không đều.
- Làm nổi bọt trong ống nghiệm.
- Đọc kết quả sai, đọc kết quả vội vã hoặc không đủ điều kiện ánh sáng.

2.3. Kỹ thuật đo thể tích khối hồng cầu

2.3.1. Nguyên tắc

Dựa vào trọng lực và mao lực, mao dẫn máu toàn phần vào một phần ống mao quản. Bịt kín đầu ống không có máu và ly tâm. Lực ly tâm làm hồng cầu lắng xuống thành khối.

Đọc kết quả trên thước đọc vi thể tích.

Thể tích khối hồng cầu là tỷ lệ phần trăm giữa khối hồng cầu trong một thể tích máu toàn phần.

2.3.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO THỂ TÍCH KHỐI HỒNG CẦU BẰNG PP THỦ CÔNG

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

2	Chuẩn bị dụng cụ và vật tư tiêu hao	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Bảng vi thể tích, ống vi thể tích có chống đông hoặc không có chống đông. + Bông thấm nước, gạc sạch, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín, đất sét hoặc matis. + Thùng rác thải y tế
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	<p>Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Lấy máu vào ống vi thể tích	Máu không đông	Máu được mao dẫn vào 3/4 chiều dài của ống vi thể tích, máu được mao dẫn liên tục và không bị đứt đoạn. Máu không được đông dây
7	Lau máu ở ngoài ống vi thể tích	Lượng máu đủ và đúng	Máu được lau sạch ở đầu ống vi thể tích bằng gạc sạch.
8	Bịt 1 đầu của ống vi thể tích	Máu không bị văng ra máy ly	Ống vi thể tích được bịt kín 1 đầu bằng matis hay đất sét, bịt

		tâm	ở đầu đầu không lấy máu
9	Ly tâm 10.000v/phút x 5 phút	Các tế bào máu được lắng bằng bằng lực ly tâm	Các tế bào máu và huyết tương được tách thành 2 lớp rõ rệt
10	Tính và nhận định kết quả	Kết quả XN đúng	Độc chiều cao của cột tế bào máu so với cột huyết tương bằng bằng vi thể tích - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần.
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
12	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.3.3. Giới hạn tham chiếu

Nam: 40% - 54% hay 0.4 L/L - 0. 54 L/L

Nữ : 37%- 47% hay 0.37 L/L - 0.47 L/L

2.3.4. Nhận định kết quả

* Thể tích khối hồng cầu tăng trong các trường hợp

- Đa hồng cầu.
- Mất nước, mất huyết tương.
- Hồng cầu ứ nước.

*Thể tích khối hồng cầu giảm trong các trường hợp

- Thiếu máu suy dinh dưỡng.
- Suy tủy.
- Loxêmi.

* Ưu điểm: đơn giản, thời gian nhanh, lượng máu sử dụng ít.

2.3.5. Nguyên nhân sai số

- Ống vi thể tích bị gãy, vỡ. Tốt nhất là luôn luôn thực hiện hai ống vi thể tích cho mỗi bệnh nhân để phòng khi ly tâm bị vỡ.
- Thước đo và thể tích không đạt tiêu chuẩn.
- Máy ly tâm vi thể tích chưa được điều chỉnh vận tốc và thời gian phù hợp.
- Máy càng để lâu (quá 6 giờ) kết quả sẽ không chính xác do bị tiêu huyết hoặc huyết tương bay hơi.
- Lắc máu không đều trước khi mao dẫn.
- Đọc kết quả không chính xác:
 - + Nhận nhầm ống máu.
 - + Đọc nhầm mức lắng đọng của hồng cầu.
- Sau khi ly tâm, nếu không đọc kết quả ngay thì phải đặt các ống vi thể tích ở tư thế thẳng đứng. Nếu để các ống vi thể tích nằm ngang trong máy ly tâm quá 30 phút, lớp tế bào sẽ bị nghiêng đi

2.4. Kỹ thuật đếm số lượng hồng cầu lưới

2.4.1. Nguyên tắc

Hồng cầu lưới là giai đoạn trung gian giữa hồng cầu có nhân và hồng cầu trưởng thành, đặc trưng là còn sót lại các mảnh ARN trong bào tương.

Có thể khảo sát hồng cầu lưới ở máu ngoại vi bằng cách nhuộm máu toàn phần với màu nhuộm siêu sinh (supravital stain) như Brilliant Cresyl Blue (BCB) hay Methylene Blue. Khi đó các mảnh ARN sẽ bắt màu thuốc nhuộm và biểu hiện dưới dạng hạt hoặc dây mảnh nằm rải rác trong hồng cầu.

Quan sát tiêu bản máu nhuộm với xanh cresyl, đếm số lượng hồng cầu lưới có trong 1000 hồng cầu và tính số lượng hồng cầu lưới trong 1mm^3 máu.

2.4.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU LƯỚI BẰNG KHV

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

2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, bình ủ 37°C + Lam kính, lam kéo, pipets sạch khô, ống nghiệm thủy tinh khô sạch. + Bông thấm nước, bông không thấm nước, thùng rác thải y tế - Thuốc nhuộm xanh cresyl hoặc xanh metylen blue bảo quản trong lọ màu, còn hạn sử dụng, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín. + Dầu soi kính
	Chuẩn bị hóa chất		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm thủy tinh	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	<p>Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Nhỏ máu của người bệnh ống nghiệm thủy	Tránh nhầm lẫn	Dùng pipet hút 2 giọt máu của người bệnh vào ống nghiệm

	tinh		thủy tinh đã chuẩn bị
7	Nhỏ dung dịch thuốc nhuộm Xanh cresyl hoặc Xanhmetylen vào ống nghiệm.	Đủ lượng thuốc nhuộm để nhuộm màu tế bào máu	Dùng pipet hút 2 giọt dung dịch thuốc nhuộm Xanh cresyl hoặc Xanhmetylen vào ống nghiệm đã có máu người bệnh
8	Nhuộm màu tế bào máu: lắc trộn đều bằng cách lắc tròn ống nghiệm 8-10 lần. Đặt vào bình ủ 37 ⁰ C trong vòng 20-30 phút	Các hồng cầu lưới bắt màu của thuốc nhuộm	Lắc trộn đều cho đến khi máu và thuốc nhuộm có màu xanh đồng nhất. Đặt vào bình ủ 37 ⁰ C đủ thời gian
9	Kéo tiêu bản giọt đàn Giọt máu được hút bằng pipet có kích thước 2-3μl, nhỏ lên lam kính sạch ở 1/3 trên của lam kính. Dùng lam kéo dàn mỏng giọt máu để có được tiêu bản giọt đàn - Để khô	Các tế bào máu nhuộm màu đều.	Giọt máu có chiều dài 2,5- 3 cm, máu dàn đều từ đầu đến cuối giọt máu, không vấp, không xước. Giọt máu được để khô ở nhiệt độ phòng.
10	Soi kính hiển vi quan sát hình thể hồng cầu lưới bằng kính hiển vi vật kính x 100: Nhỏ dầu soi và quan sát hình thể của hồng cầu lưới	Nhận biết rõ các tế bào máu nhất là hồng cầu lưới	Hồng cầu lưới có kích thước 8-10μm và thấy rõ hạt hoặc mạng lưới sợi bắt màu xanh.
11	Đếm số lượng hồng cầu lưới	Kết quả đúng	- Số lượng hồng cầu lưới được đếm chính xác trong 1000 hồng cầu. Cho phép sai số <10% so với kết quả nhân

			viên y tế
12	Tính số lượng hồng cầu lưới và nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Tính đúng số lượng hồng cầu lưới của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
14	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.4.3. Giới hạn tham chiếu

*Tính kết quả

- Tỷ lệ phần trăm hồng cầu lưới

Thí dụ: Trong 1.000 hồng cầu -> có 5 hồng cầu lưới
Suy ra trong 100 hồng cầu -> có 0,5 hồng cầu lưới
Vậy tỷ lệ phần trăm hồng cầu lưới là 0,5%

* Số lượng hồng cầu lưới trong 1mm³ máu

Trên tiêu bản hồng cầu lưới có kích thước hơi lớn hơn hồng cầu trưởng thành (hồng cầu lưới 8-10µm, hồng cầu trưởng thành từ 7-8µm). Hồng cầu lưới bắt màu xanh lá cây nhạt, hạt và dây lưới (ARN) bắt màu xanh dương đậm.

Phải kết hợp với đếm số lượng hồng cầu có trong 1mm³ máu của bệnh nhân.

Thí dụ:

Trong 1.000 hồng cầu -> có 5 hồng cầu lưới.
Suy ra trong 4.000.000 hồng cầu -> có 20.000 hồng cầu lưới/ 1mm³ máu.
Vậy số lượng hồng cầu lưới là 20.000 hồng cầu lưới/ 1mm³ máu.

* **Trị số bình thường**

- **Người lớn:**

+ Tỷ lệ phần trăm: 0,5% - 2% hồng cầu lưới.

+ Số lượng hồng cầu lưới tương đương: 25.000 - 75.000/ mm³ máu.

- **Trẻ sơ sinh:**

+ Tỷ lệ phần trăm từ: 2% - 6%.

+ Số lượng hồng cầu lưới tương đương: 100.000 - 300.000/ mm³ máu.

2.4.4 Nhận định kết quả

* **Hồng cầu lưới tăng:** Tủy xương có khả năng đáp ứng tốt trước tình trạng thiếu hụt hồng cầu ở máu ngoại vi. Hồng cầu lưới tăng trong một số trường hợp:

- Giai đoạn đầu của bệnh thiếu máu.

- Mất máu:

+ Do xuất huyết: sau chấn thương, tai nạn, phẫu thuật,...

+ Do tán huyết: nhiễm ký sinh trùng sốt rét, nọc rắn hổ mang, miễn dịch...

- Tăng nhẹ ở phụ nữ sau chu kỳ kinh.

* **Hồng cầu lưới giảm hoặc không tăng:** Khả năng đáp ứng của tủy xương kém trước tình trạng thiếu hụt hồng cầu ở máu ngoại vi. Hồng cầu lưới giảm trong những bệnh lý:

- Suy tủy.

- Rối loạn sinh tủy.

- Leukemia.

- Thiếu nguyên liệu tạo hồng cầu: Thiếu máu do thiếu sắt, thiếu vitamin B12, thiếu acid folic hay thiếu máu ác tính.

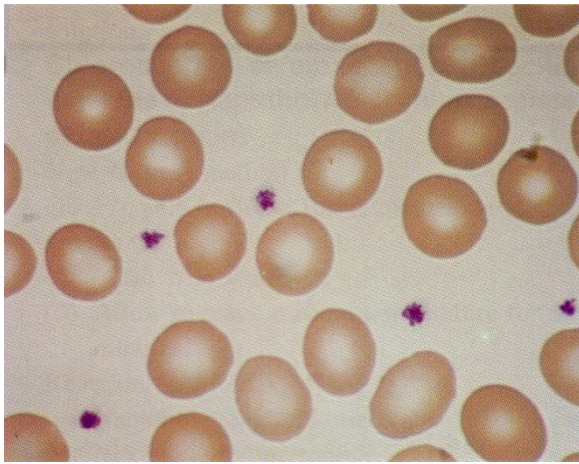
- Bệnh nhân điều trị hoá chất, tia xạ.

2.4.5. Nguyên nhân sai số

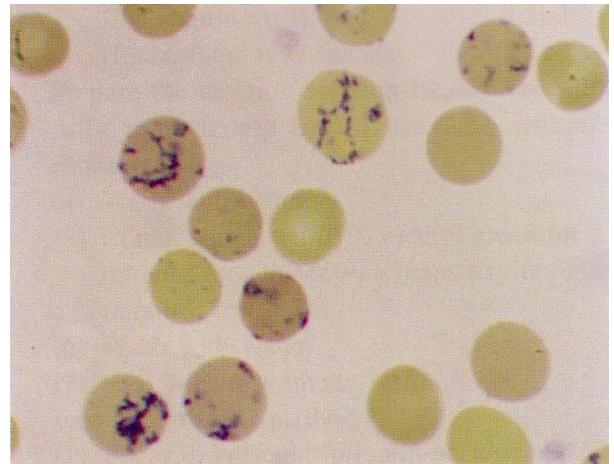
- Độc nhằm cặn thuốc nhuộm với các mảnh ARN trên hồng cầu lưới. Do đó nên lọc kỹ thuốc nhuộm trước khi dùng.

- Cần chú ý phân biệt hồng cầu lưới với hồng cầu có thể Heinz, vì thể Heinz cũng bắt màu xanh cresyl nhưng nhạt hơn, kích thước to và thường nằm ở rìa hồng cầu.

- Lắc không đều khi lấy máu để ủ làm tiêu bản.



A



B

Hình 1.32:

A: Hồng cầu trưởng thành bình thường, màu hồng nhạt, kích cỡ đều nhau.

B: Hình ảnh hồng cầu lưới khi nhuộm xanh cresyl

2.5. Kỹ thuật đo tốc độ máu lắng

2.5.1. Nguyên tắc

Máu toàn phần được pha loãng với dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% và được cho vào ống Pachenkow. Để yên ống ở tư thế thẳng đứng, sau một thời gian hồng cầu sẽ lắng xuống để lại lớp huyết tương ở bên trên.

Tốc độ lắng hồng cầu chính là chiều cao của cột huyết tương được hình thành khi hồng cầu đã lắng xuống sau một khoảng thời gian là một giờ đến hai giờ.

2.5.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO TỐC ĐỘ MÁU LẮNG

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống Panchenkov khô sạch, giá cài ống Panchenkov, ống nghiệm thủy tinh sạch. + Bông thấm nước, gạc, đồng

	Chuẩn bị hóa chất		hồ bấm giờ + Thùng rác y tế - Dung dịch Natricitrat 3,8%, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu chống đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều đọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Tráng ống Pachenkov bằng dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% đến vạch K (0)	Để máu không bị đông.	Dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% được tráng đều khắp ống Pachenkov.
7	Lấy dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% đến vạch P (50)	Đúng tỷ lệ giữa máu và dung dịch Natricitrat 3,8%	Dung dịch Natricitrat 3,8% được hút liên tục, không đứt đoạn và được cho vào ống nghiệm.
8	Lấy máu cho vào ống nghiệm đến vạch K(0) và lắc trộn đều.	Máu không bị đông và được trộn đều	Máu được mao dẫn liên tục đến vạch K(0) 2 lần bằng ống Pachenkov và cho vào ống nghiệm đã có sẵn Natricitrat

			3,8%. Lắc đều máu và chất chống đông theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần, cho đến khi máu và chất chống đông được trộn đều thành hỗn dịch có màu đỏ đồng nhất
9	Mao dẫn hỗn dịch máu ở trên vào ống Pachenkov.	Đủ lượng hỗn dịch máu và chất chống đông	Hỗn dịch máu được mao dẫn vào ống Pachenkov đến vạch K(0), hỗn dịch máu và chất chống đông liên tục, không đứt đoạn.
10	Lên giá Pachenkov	Để các tế bào máu lắng	Lau máu dính ngoài thành ống. Dụng ống Pachenkov trên giá ở tư thế thẳng đứng.
11	Đọc và nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Kết quả được đọc là chiều cao của cột huyết tương sau 1 giờ và sau 2 giờ và nhận xét kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng. Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
13	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.5.3. Giới hạn tham chiếu

Phương pháp	Pachenkow	
	1 giờ	2 giờ

Nam giới	1 - 10 mm	7 - 15 mm
Nữ giới	2 - 13 mm	12 - 17mm

2.5.4. Nhận định kết quả

- Tốc độ máu lắng là một xét nghiệm không đặc hiệu, nó thay đổi tăng hoặc giảm trong nhiều nguyên nhân sinh lý cũng như bệnh lý. Do đó, đây không phải là một xét nghiệm có giá trị chẩn đoán bệnh nhưng rất có ý nghĩa trong việc theo dõi diễn tiến một số bệnh.

Tốc độ máu lắng tăng trong bất kỳ bệnh nào có phản ứng viêm hay mô bị thoái hóa, sinh mủ, hoại tử.

Giá trị lớn nhất của tốc độ máu lắng là dùng nó như một bằng chứng hiển nhiên biểu thị sự thuyên giảm hay phát triển của một số diễn tiến bệnh lý.

Tốc độ máu lắng được ứng dụng một cách hữu hiệu trong theo dõi điều trị lao, thấp khớp, nhiễm trùng mạn tính. Khi tốc độ máu lắng tăng biểu hiện bệnh đang tiến triển và ngược lại.

- Bình thường, tốc độ máu lắng ở nữ cao hơn nam. Trong thời kỳ mang thai, tốc độ máu lắng tăng dần trong ba tháng đầu và trở lại bình thường sau khi sinh.

- Tốc độ máu lắng tăng trong một số bệnh nhiễm khuẩn, bệnh hệ thống...

2.5.5. Nguyên nhân sai số

- Ống lắng bẩn, ướt, sứt mẻ.

- Kháng đông nhiều so với tỷ lệ máu.

- Tỷ lệ pha loãng thiếu chính xác.

- Lắc trộn máu không đều.

- Máu để quá lâu. Tốc độ lắng máu nên thực hiện trong vòng 2 giờ đầu sau khi lấy máu, càng để lâu tốc độ lắng máu càng tăng.

- Lấy máu không đủ đến vạch số không.

- Nhiệt độ thích hợp là 20 - 27⁰ C. Nếu tiến hành xét nghiệm ở nơi có nhiệt độ cao, tốc độ lắng máu sẽ tăng.

- Ống lắng đựng trên giá bị nghiêng, sẽ làm tốc độ lắng máu tăng.

- Trong ống lắng có bọt không khí.

- Đọc kết quả không đúng mức hồng cầu lắng hoặc không đúng thời gian.

2.6. Các chỉ số được suy ra từ số lượng hồng cầu, lượng huyết sắc tố và thể tích khối hồng cầu

* MCV (Mean corpuscular volume – Thể tích trung bình hồng cầu)

- Nguyên tắc: Là thể tích trung bình của mỗi hồng cầu.

- Công thức tính: $MCV = HCT/RBC$.
- Giới hạn tham chiếu: 85-95 fL
- Nhận định kết quả
- + Tăng: Thiếu vitamin B12, thiếu acid folic, bệnh gan, chứng tăng hồng cầu, tan máu cấp..
- + Giảm: Thiếu sắt, thalassemia và các bệnh hemoglobin khác, thiếu máu trong bệnh mạn tính, suy thận mạn, nhiễm độc chì...
- * MCH (Mean corpuscular hemoglobin – Lượng HST trung bình hồng cầu)
- Công thức tính: $MCH = Hb/RBC$
- Giới hạn tham chiếu: 28-32 pg
- Nhận định kết quả
- + Tăng: thiếu máu tăng sắc hồng cầu bình thường, bệnh hồng cầu hình cầu di truyền...
- + Giảm: Thiếu máu thiếu sắt,...
- * MCHC (Mean corpuscular hemoglobin concentration – Nồng độ HST trung bình hồng cầu)
- Nguyên tắc: Là nồng độ huyết sắc tố có trong một thể tích khối hồng cầu.
- Công thức tính: $MCHC = Hb/HCT$
- Giới hạn tham chiếu: 320- 360 g/L
- Nhận định kết quả
- + Tăng: Mất nước ưu trương, thiếu máu tăng sắc hồng cầu bình thường...
- + Giảm: thiếu máu đang hồi phục, thiếu máu do giảm Folate hoặc Vitamin B12, xơ gan...
- * RDW (Red distribution width – Dải phân bố kích thước hồng cầu)
- Nguyên tắc: Đánh giá mức độ đồng đều giữa các hồng cầu. Nếu $RDW > 15\%$ có nghĩa là các hồng cầu to, nhỏ không đều nhau.
- Giới hạn tham chiếu: 11-15%
- Nhận định kết quả
- + Tăng: Thiếu sắt, thiếu máu Thalassemia...

LƯỢNG GIÁ

Lựa chọn câu trả lời đúng nhất:

1. Tế bào non nhất của dòng hồng cầu là:
 - A. Nguyên hồng cầu ưa ba zơ
 - B. Nguyên tiền hồng cầu
 - C. Nguyên hồng cầu đa sắc

- D. Nguyên hồng cầu ura acid
2. Bào tương của nguyên hồng cầu ura ba zơ có màu:
- A. Xanh thẫm
 - B. Xanh xám
 - C. Xanh sáng
 - D. Xanh pha hồng
3. Chất nhân của nguyên tiền hồng cầu có tính chất:
- A. Thành cục
 - B. Mịn
 - C. Có 1 đến 2 hạt nhân
 - D. Cả A và C
4. Bào tương của nguyên hồng cầu đa sắc có màu:
- A. Xanh thẫm
 - B. Da cam
 - C. Xám xanh
 - D. Hồng
5. Nguyên hồng cầu không có khả năng phân chia là:
- A. Nguyên hồng cầu ura ba zơ
 - B. Nguyên hồng cầu đa sắc
 - C. Nguyên hồng cầu ura acid
 - D. B và C
6. Mạng lưới ở hồng cầu lưới khi nhuộm là:
- A. Nhân của hồng cầu
 - B. Vết tích của ribosom
 - C. Các bào quan
 - D. Hemoglobin
7. Hồng cầu là một tế bào:
- A. Không có nhân
 - B. Hình đĩa lõm 2 mặt
 - C. Có chức năng vận chuyển oxy
 - D. Cả A, B và C
8. Hồng cầu bình thường có hình:
- A. Hình cầu
 - B. Hình đĩa phẳng
 - C. Hình đĩa lõm 2 mặt

D. Hình bầu dục

9. Cấu trúc của một hồng cầu bao gồm:

A. Khung tế bào và các chuỗi globin

B. Các chuỗi globin và nhân hem

C. Khung tế bào và nhân hem

D. Khung tế bào và hemoglobin

10. Cấu trúc của hemoglobin bao gồm:

A. 4 chuỗi globin và 4 nhân hem

B. 2 chuỗi globin và 4 nhân hem

C. 4 chuỗi globin và 2 nhân hem

D. 2 chuỗi globin và 2 nhân hem

11. Thành phần globin của HbA1 là:

A. 2 chuỗi α và 2 chuỗi γ .

B. 2 chuỗi α và 2 chuỗi β .

C. 2 chuỗi α và 2 chuỗi δ .

D. 2 chuỗi γ và 2 chuỗi δ .

12. Thành phần globin của HbA2 là:

A. 2 chuỗi α và 2 chuỗi γ .

B. 2 chuỗi β và 2 chuỗi δ .

C. 2 chuỗi α và 2 chuỗi δ .

D. 2 chuỗi γ và 2 chuỗi δ .

13. Thành phần globin của HbF là:

A. 2 chuỗi α và 2 chuỗi γ .

B. 2 chuỗi β và 2 chuỗi δ .

C. 2 chuỗi α và 2 chuỗi δ .

D. 2 chuỗi γ và 2 chuỗi δ .

14. Trên tiêu bản máu đần của bệnh thalassemia:

A. Hồng cầu nhỏ, nhạt màu

B. Hồng cầu nhạt màu, trung tâm có vùng đậm màu

C. Có mảnh vỡ hồng cầu

D. A và B

15. Hồng cầu đứng thành đám trong không gian 3 chiều gặp trong:

A. Tan máu bẩm sinh

B. Nhiễm ký sinh trùng sốt rét

C. Tan máu tự miễn

D. Sau đẽ

16. Hồng cầu hình bia bắn có trong:

A. Thiếu máu thiếu sắt

B. Thalassemia

C. Tan máu tự miễn

D. A và B

17. Hồng cầu hình liềm có trong:

A. Thalassemia

B. Bệnh huyết sắc tố S

C. Thiếu máu thiếu sắc

D. Tan máu tự miễn

18. Mảnh vỡ hồng cầu có trong:

A. Tan máu tự miễn

B. Tan máu bẩm sinh

C. Sốt rét

D. Đông máu rải rác trong lòng mạch

19. Hồng cầu to là hồng cầu có MCV:

A. Trên 100 fl

B. Trên 90 fl

C. Trên 80 fl

D. Trên 110 fl

20. Hồng cầu nhỏ là hồng cầu có MCV:

A. Dưới 60 fl

B. Dưới 80 fl

C. Dưới 70 fl

D. Dưới 50 fl

21. Huyết sắc tố bình thường ở người trưởng thành là:

A. Từ 100-120 g/l

B. Từ 120- 140 g/l

C. Từ 110- 150 g/l

D. Từ 120- 160g/l

22. Lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu bình thường là:

A. Từ 28-32 pg

B. Từ 25-30 pg

C. Từ 30- 34 pg

D. Từ 15-20 pg

23. Phân tử huyết sắc tố là:

- A. Một chuỗi polypeptit
- B. Một glycoprotein
- C. Một protein phức gồm hem và globin
- D. Một lipoprotein

24. Các globin cấu tạo huyết sắc tố được tổng hợp theo tính chất:

- A. Tuỳ từng giai đoạn phát triển mà có các globin khác nhau.
- B. Cùng được tổng hợp trong mọi giai đoạn phát triển cá thể.
- C. Tuỳ theo từng nhóm người mà có các loại globin khác nhau.
- D. Chỉ có globin α và β cho mọi giai đoạn phát triển cá thể.

25. Huyết sắc tố chủ yếu của thời kỳ thai là:

- A. HST A₁
- B. HST A₂
- C. HST F
- D. HST Gower I

26. Cấu tạo phân tử HST bình thường gồm:

- A. 4 chuỗi globin trong đó 2 chuỗi thuộc họ α và 2 chuỗi họ không α .
- B. 4 chuỗi globin cùng họ
- C. 4 chuỗi globin bất kỳ
- D. 4 chuỗi globin họ α

27. Huyết sắc tố gắn với oxy theo phản ứng

- A. Thuận nghịch
- B. Một chiều, oxy luôn gắn với HST
- C. Phải có chất xúc tác phản ứng mới xảy ra
- D. Không phản ứng mà HST là chất mang cơ học.

29. Quá trình tổng hợp chuỗi globin dựa trên gen globin gồm các giai đoạn sau:

- A. Phiên mã tạo ARNm, dịch mã từ ARNm tạo globin.
- B. Phiên mã tạo ARNm, chín ARNm, dịch mã
- C. Dịch mã từ ADN tạo polypeptit.
- D. ARN tạo ADN rồi tạo Protein.

30. Thành phần HST ở người trưởng thành bình thường gồm:

- A. Chủ yếu HST A₁, ngoài ra còn ít A₂.
- B. Tuỳ nhóm người mà có các HST khác nhau.
- C. Chủ yếu HST F
- D. Chủ yếu HST A₂

31. Quá trình tổng hợp HST xảy ra ở trong:

- A. Tế bào nguyên hồng cầu
- B. Tế bào gốc tạo máu
- C. Hồng cầu trưởng thành
- D. Nguyên tủy bào

32. Cơ thể thiếu sắt có thể

- A. Ảnh hưởng tới tổng hợp HST dẫn đến thiếu máu
- B. Gây tổng hợp ra huyết sắc tố bất thường.
- C. Không tổng hợp được chuỗi globin dẫn đến thiếu máu
- D. Tổng hợp HST với tốc độ bình thường.

33. Nồng độ HST ở người bình thường trong khoảng:

- A. Nam từ 140 - 160g/l, nữ từ 125 - 145g/l.
- B. Nam và nữ từ 140 - 170g/l
- C. Nam từ 125 - 145g/l, nữ từ 110 - 135g/l
- D. Nam từ 160 - 190g/l, nữ từ 140 - 160g/l.

BÀI 2. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DÒNG BẠCH CẦU

MỤC TIÊU CỦA BÀI

*** Kiến thức**

- Kể tên được 1 số kỹ thuật xét nghiệm đánh giá dòng bạch cầu.
- Trình bày nguyên tắc, quy trình, giới hạn tham chiếu và nhận định kết quả của các kỹ thuật xét nghiệm dòng bạch cầu.

*** Kỹ năng**

- Nhận định và phân tích được sự thay đổi các xét nghiệm dòng bạch cầu trong một số tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Đại cương dòng bạch cầu

Bạch cầu là những tế bào lưu hành trong máu ngoại vi, có chức năng bảo vệ cơ thể chống lại các tác nhân lạ xâm nhập. Trong điều kiện bình thường, các bạch cầu cũng được sinh ra từ tủy xương giống như các hồng cầu và tiểu cầu.

Bạch cầu có thể được chia ra làm hai nhóm lớn theo chức năng:

- + Nhóm có chức năng thực bào.
- + Nhóm có chức năng miễn dịch.

Trong đó, nhóm thực bào bao gồm các tế bào bạch cầu hạt trung tính, bạch cầu hạt ưa acid, bạch cầu hạt ưa base và các monocyte.

Nhóm miễn dịch gồm có các lymphocyte và tương bào.

Hoặc dựa vào sự có mặt hạt bào tương của bạch cầu trưởng thành chia ra loại bạch cầu có hạt và bạch cầu không hạt.

+ Bạch cầu hạt gồm: Bạch cầu trung tính, bạch cầu ưa acid, bạch cầu ưa base.

+ Bạch cầu không hạt gồm: Bạch cầu lympho, bạch cầu mono và tương bào.

Trong điều kiện bình thường, các bạch cầu được sinh ra trong tủy xương và cùng có chung nguồn gốc từ các tế bào gốc định hướng dòng tủy. Trong quá trình tăng sinh, biệt hóa và trưởng thành, các tế bào ở các giai đoạn biệt hóa trung gian chỉ có mặt trong tủy xương. Sau khi biệt hóa thành các tế bào trưởng thành mới xuất hiện ở máu ngoại vi.

1.1. Dòng bạch cầu hạt

1.1.1. Quá trình phát triển và biệt hóa

Trong tủy xương, từ tế bào gốc định hướng đa dòng biệt hóa thành các tế bào định hướng dòng hạt-mono, và từ các tế bào này tiếp tục biệt hóa thành các nguyên tủy bào – loại tế bào đầu dòng bạch cầu hạt.

Trong quá trình biệt hóa, các nguyên tủy bào - chiếm khoảng 1% tế bào trong tủy - trải qua khoảng 15 giờ để biệt hóa thành các tiền tủy bào. Tiền tủy bào chiếm khoảng 3% tế bào tủy và cần khoảng 24 giờ để biệt hóa thành các tủy bào. Các tủy bào trong giai đoạn biệt hóa tiếp theo chiếm khoảng 12% các tế bào tủy và mất khoảng hơn 4 ngày để biệt hóa thành các hậu tủy bào. Khi biệt hóa đến giai đoạn hậu tủy bào, các tế bào đã trải qua 4 đến 5 lần phân bào và kết thúc giai đoạn tăng sinh tại tuổi biệt hóa này.

Tiếp theo giai đoạn tăng sinh, các tế bào sẽ tiếp tục trưởng thành trong *khoang dự trữ - biệt hóa của tủy xương*, mà ở đó, các hậu tủy bào và bạch cầu đã biệt hóa thành các bạch cầu hạt. Trong các khoang tủy này, các tuổi biệt hóa chiếm tỷ lệ khác nhau: hậu tủy bào chiếm khoảng 45%, bạch cầu đã biệt hóa chiếm khoảng 35% và bạch cầu hạt chiếm khoảng 20%. Đây có thể coi là kho dự trữ bạch cầu hạt của cơ thể, và có thể cung cấp số lượng bạch cầu trong 4 đến 8 ngày.

Bình thường, các bạch cầu hạt trung tính được dự trữ trong các khoang tủy khoảng từ 7 đến 10 ngày trước khi đi ra máu ngoại vi, còn các bạch cầu ưa acid khoảng 2,5 ngày và các bạch cầu ưa bazơ chỉ được lưu giữ khoảng 12 giờ.

1.1.2. Phân bố của các bạch cầu hạt

Quá trình giải phóng các bạch cầu hạt ra máu ngoại vi diễn ra khá phức tạp. Nhiều yếu tố thể dịch (các interleukin) tham gia quá trình khởi động sự di chuyển của bạch cầu hạt đi qua các vách xoang tủy – bình thường là các rào cản không cho tế bào đi qua. Bên cạnh đó, khả năng biến hình mềm dẻo và tự di chuyển giúp các tế bào đi từ khoang tủy ra máu ngoại vi.

Tuần hoàn ngoại vi được chia thành hai phần cân bằng: phần lưu thông và vùng rìa. Tại vùng rìa, các bạch cầu hạt dính với các tế bào nội mô của mạch máu và một số bạch cầu hạt cũng có thể có mặt trong lách. Có thể nói rằng, quá trình lưu thông trong máu ngoại vi của bạch cầu hạt chỉ là một giai đoạn ngắn ngủi trong đời sống của bạch cầu hạt trước khi di chuyển đến mô đích để thực hiện chức năng. Tuy nhiên trong khi lưu thông tại tuần hoàn, các bạch cầu hạt, đặc biệt bạch cầu hạt trung tính cũng có thể thực hiện chức năng thực bào của mình.

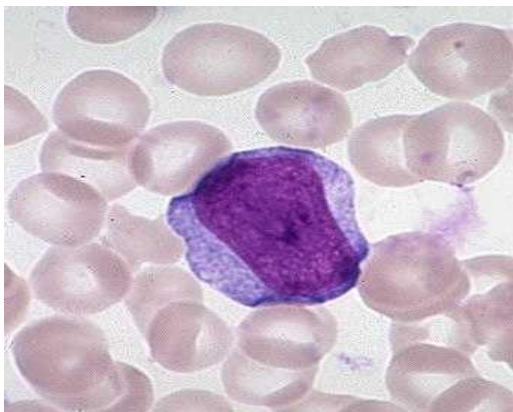
Nửa đời sống trung bình của tế bào bạch cầu hạt ở máu ngoại vi khoảng 7

đến 10 giờ. Khi di chuyển vào mô đích, chúng có thể tồn tại trong vài ngày, không kể trong các trường hợp bị kích thích bởi các kháng nguyên, các độc tố hoặc các vi sinh vật. Bạch cầu hạt ưa axit cũng chỉ tồn tại ở máu trong vòng vài giờ, và ở mô trong vài ngày. Các bạch cầu ưa bazơ chỉ tồn tại trong tuần hoàn khoảng 8,5 giờ.

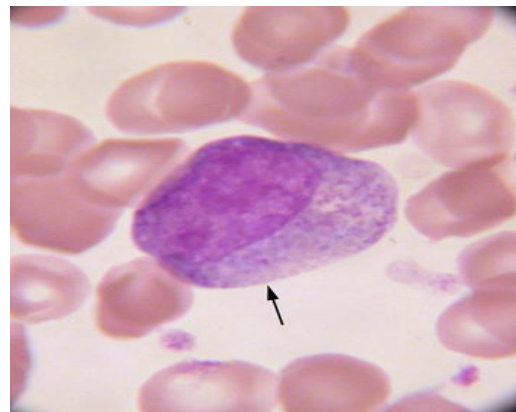
1.1.3. Hình thái bình thường của dòng bạch cầu hạt

1.1.3.1. Nguyên tủy bào (Myeloblast): trong quá trình biệt hóa dòng bạch cầu hạt, đây là giai đoạn sớm nhất có thể xác định được dựa trên các đặc điểm hình thái. Các tế bào có đường kính trung bình từ 10-18 μm . Chất nhân mịn và đều với một đến vài hạt nhân nhạt màu. Bào tương hẹp, ưa bazơ và không có hạt. Que Auer – có dạng hình que bất màu đỏ, bản chất là sự ngưng kết của các lysosome, có thể quan sát được trong các trường hợp bệnh lý.

1.1.3.2. Tiền tủy bào (Promyelocyte): là lứa tuổi biệt hóa thứ hai của dòng bạch cầu hạt. Đặc điểm nổi bật của tiền tủy bào là hình ảnh các hạt bào tương dày đặc, đôi khi làm che lấp, lu mờ các đặc điểm hình thái khác của tế bào. Đó là những hạt nguyên phát, ưa azur và bản chất là các enzym myeloperoxidase và chloroacetate esterase. Về kích thước, tiền tủy bào lớn hơn nguyên tủy bào với đường kính trung bình khoảng 14 đến 20 μm và có tỷ lệ nhân và nguyên sinh chất thấp hơn. Chất nhân thô hơn, còn quan sát thấy hạt nhân và bào tương màu xanh xám nhạt.



Nguyên tủy bào



Tiền tủy bào

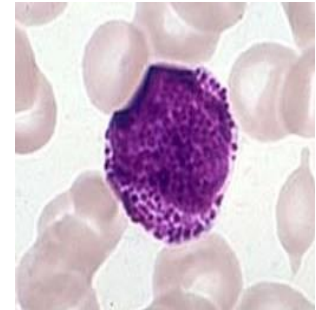
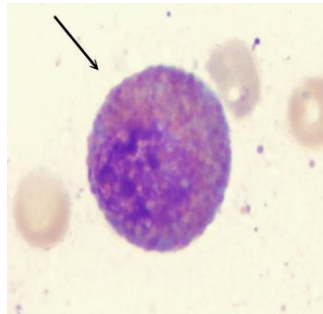
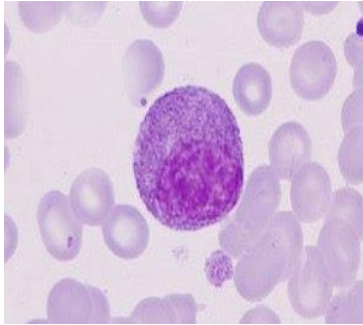
1.1.3.4. Tủy bào (myelocyte):

Đây là giai đoạn biệt hóa thứ ba của dòng bạch cầu hạt. Các tủy bào có thể dễ dàng nhận biết trên các tiêu bản vì trong bào tương có rất nhiều hạt thứ phát hay hạt đặc hiệu. Cũng từ giai đoạn này, dựa vào tính chất bắt màu thuốc nhuộm của các hạt bào tương để phân biệt các loại tủy bào trung tính, tủy bào ưa axit hay tủy bào ưa bazơ.

Các tủy bào thường có đường kính trung bình khoảng 12 đến 18 μm . Tỷ lệ nhân so với nguyên sinh chất thấp hơn so với tiền tủy bào, nhân có dạng bầu dục rõ

hơn, không còn thấy hạt nhân và chất màu nhân thô hơn.

Các hạt trung tính khá mịn và bắt màu hồng nhạt trên tiêu bản nhuộm Wright. Các hạt ưa axit có kích thước lớn hơn hạt trung tính, hình tròn hoặc bầu dục, bắt màu vàng cam và chiết quang mạnh hơn. Các hạt ưa bazơ bắt màu xanh đậm và phân bố dày đặc trong bào tương.



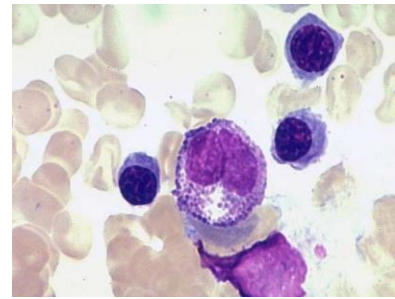
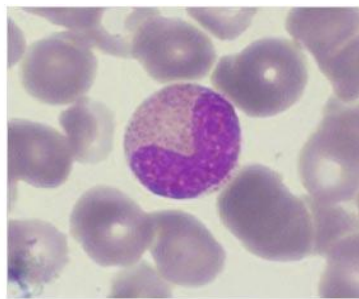
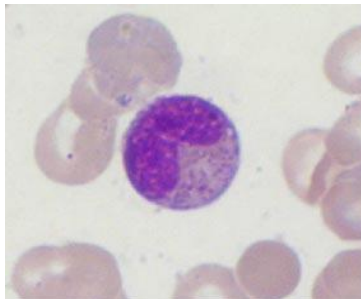
Tủy bào trung tính

Tủy bào ưa axit

Tủy bào ưa bazơ

1.1.3.5. Hậu tủy bào (metamyelocyte)

Là giai đoạn biệt hóa thứ tư của dòng bạch cầu hạt. Đặc trưng của các hậu tủy bào hình thái của nhân bắt đầu thắt lại và có dạng quả thận hoặc hình hạt đậu. Chất nhân thô hơn so với tuổi tủy bào. Màu của các hạt đặc hiệu trong bào tương trở nên khác biệt rất rõ ràng giữa màu trung tính, ưa acid hay ưa base



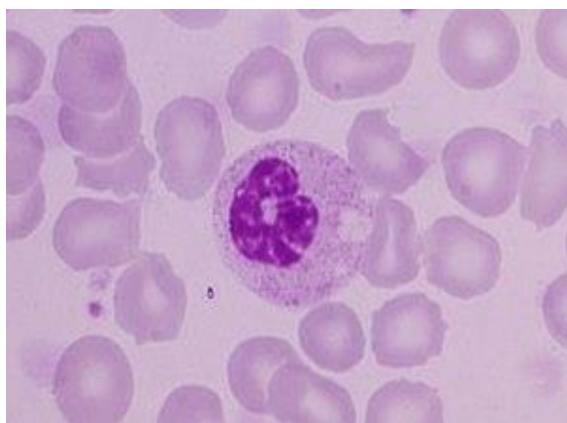
Hậu tủy bào trung tính

Hậu tủy bào ưa axit

Hậu tủy bào ưa bazơ

1.1.3.6. Bạch cầu đũa (Band hoặc Stab)

Đây là giai đoạn biệt hóa cuối cùng trước khi các tế bào trở nên thực sự trưởng thành thành bạch cầu hạt. Trong điều kiện bình thường, có một tỷ lệ nhỏ các bạch cầu đũa cũng lưu hành trong máu. Về hình thái, các tế bào này có nhân kéo dài hình que, hình gậy...



Bạch cầu đũa (stab)

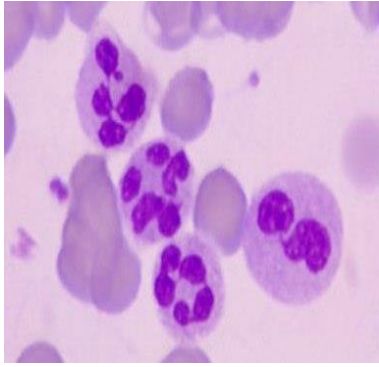
1.1.3.7. Bạch cầu hạt

Loại tế bào này có một số tên gọi khác nhau: bạch cầu đa nhân, bạch cầu đoạn hay bạch cầu hạt. Điều này xuất phát từ đặc điểm của nhân chia thành nhiều thùy nhỏ. Dựa vào cách bắt màu của các hạt đặc hiệu trong bào tương để xếp thành bạch cầu hạt trung tính, bạch cầu hạt ưa bazơ và bạch cầu hạt ưa axit. Đây là giai đoạn biệt hóa cuối cùng của dòng bạch cầu hạt.

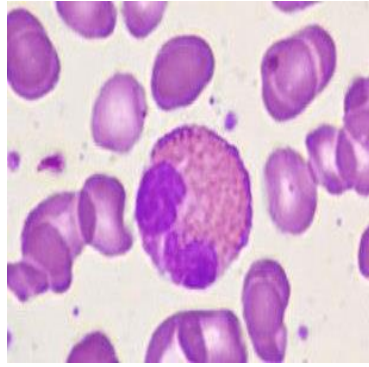
Bạch cầu hạt trung tính điển hình có nhân chia làm nhiều thùy, trong khi đó bạch cầu hạt ưa axit có nhân thường chia thành hai thùy. Giữa các thùy nhân được nối với nhau bằng phần liên kết nhỏ. Bạch cầu hạt ưa bazơ khó quan sát vì các hạt đặc hiệu bắt màu xanh tím và che phủ lên nhân.

Các hạt đặc hiệu bản chất được tạo thành từ lưới nội bào có hạt sau đó được chuyển đến thể Golgi. Các loại hạt đặc hiệu bắt màu khác nhau khi nhuộm trên tiêu bản:

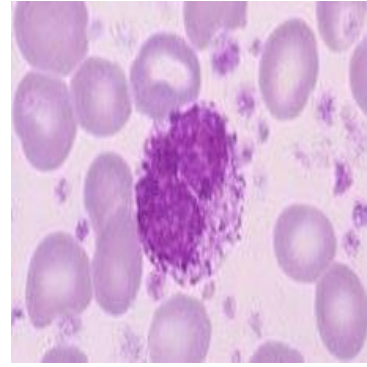
- Hạt trung tính bắt màu hồng tím, bản chất giàu các thành phần có hoạt tính diệt vi khuẩn, bao gồm các enzym hydrolase, lysozyme và myeloperoxidase. Một số hạt chính là các lysosome điển hình.
- Hạt ưa acid bắt màu vàng cam, bản chất không có lysozyme. Có hai loại khác nhau:
 - + Loại hạt nhỏ không chứa các tinh thể, chiếm tỷ lệ thấp trong các tuổi trưởng thành và thành phần chủ yếu là các phosphatase axit.
 - + Loại hạt lớn chứa các tinh thể, chiếm tỷ lệ cao. Các hạt tinh thể này có hình elip, kích thước lớn hơn so với hạt trung tính, bản chất chứa các enzym peroxidase (không giống với myeloperoxidase của bạch cầu hạt trung tính), ngoài ra còn có các enzym phosphatase axit.
- + Hạt ưa bazơ bắt màu xanh tím, chứa heparin và histamine.



Bạch cầu hạt trung tính



Bạch cầu hạt ưa axit



Bạch cầu hạt ưa bazơ

Một số đặc điểm của các tuổ biệt hóa dòng bạch cầu hạt trung tính

	Nguyên tủy bào	Tiền tủy bào	Tủy bào	Hậu tủy bào	Bạch cầu đũa	Bạch cầu đoạn
Kích thước	10-18	14-20	12-18	10-18	10-16	10-16
Nhân/NSC	4/1	3/1	2/1-1/1	1/1	1/1	1/1
Hình dạng nhân	Tròn, bầu dục	Tròn, bầu dục	Bầu dục	Thắt nhẹ	Kéo dài, cong	Chia thùy
Hạt nhân	1-5	1-5	±	Không	Không	Không
Chất nhân	Mịn	Mịn	Thô nhẹ	Thô	Rất thô	Cô đặc
Thể bào tương	Thể Auer	Không	Không	Không	Không	Không
Hạt	Không	Nhiều hạt không đặc hiệu	Hạt mịn, đặc hiệu	Hạt mịn, đặc hiệu	Hạt mịn, đặc hiệu	Hạt mịn, đặc hiệu
Màu	Xanh	Xanh nhạt	Hồng nhạt	Hồng	Hồng	Hồng

1.1.4. Chức năng của bạch cầu hạt

Chức năng bình thường chủ yếu của bạch cầu hạt trung tính và monocyte là thực bào. Chức năng này có thể chia làm ba giai đoạn:

Hóa ứng động: là quá trình các bạch cầu bị thu hút đến vi khuẩn hoặc vị trí tổn thương do vai trò của các yếu tố hóa ứng động được giải phóng từ mô tổn thương, hoặc bởi các thành phần bổ thể hoặc bởi sự tương tác giữa các phân tử trên màng tế bào.

Thực bào: là quá trình “ăn” các vật lạ như vi khuẩn, nấm hay các tế bào của

chính cơ thể bị chết hoặc bị tổn thương. Quá trình thực bào được hỗ trợ do các vật lạ bị “đánh dấu” bởi các kháng thể hoặc thành phần bổ thể.

Diệt và tiêu hóa: qua con đường phụ thuộc oxy và không phụ thuộc oxy. Các enzym có trong bạch cầu sẽ tác động lên chuyển hóa của vi khuẩn hoặc vật lạ để tiêu diệt chúng.

1.1.5. Các chỉ số bình thường của dòng bạch cầu hạt

Ở người trưởng thành và trẻ em khỏe mạnh, số lượng từng loại bạch cầu khá ổn định theo từng lứa tuổi. Số lượng bạch cầu giữa các chủng tộc có khác nhau một chút, ví dụ ở người da đen, số lượng bạch cầu thường thấp hơn so với người da trắng, và số lượng bạch cầu hạt trung tính thấp hơn khá rõ rệt.

Trong từng cá thể, số lượng bạch cầu có thể thay đổi theo điều kiện sống hàng ngày, có khi tới 20% tổng số bạch cầu. Số lượng bạch cầu tăng cao nhất thường vào lúc nửa đêm hoặc sáng sớm. Ngoài ra, một số thói quen sinh hoạt khác cũng làm ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu: hút thuốc làm tăng bạch cầu hạt trung tính. Còn bạch cầu mônô có sự dao động về số lượng khoảng 0,2 G/l theo chu kỳ 3 đến 6 ngày. Số lượng bạch cầu hạt ưa axit thay đổi rõ trong ngày: tăng cao nhất về đêm trong khi ngủ, giảm vào buổi sáng và bắt đầu tăng lại vào buổi chiều. Hiện tượng này có thể liên quan đến hormon tuyến thượng thận.

Ở phụ nữ, chu kỳ kinh nguyệt cũng ảnh hưởng đến số lượng bạch cầu ưa axit, cụ thể số lượng bạch cầu này giảm trong khoảng thời gian trứng rụng và tăng khi có kinh nguyệt. Về mùa hè, bạch cầu ưa axit cũng tăng nhẹ, mặc dù không có liên quan đến tình trạng dị ứng, hay hoạt động thể lực cũng làm tăng nhẹ, trong khi đó các sang chấn tâm lý (stress) lại gây giảm nhẹ loại bạch cầu này.

Giá trị bình thường của bạch cầu hạt và mônô ở người trưởng thành

	Giá trị (G/l)	Tỷ lệ (%)
Bạch cầu hạt trung tính	1,5 – 7,5	40 – 75
Bạch cầu hạt ưa axit	0,05 – 0,60	1 – 7
Bạch cầu hạt ưa bazơ	0,02 – 0,05	0 – 2
Bạch cầu mônô	0,0 – 0,8	1 - 10

1.1.6. Một số bất thường dòng bạch cầu hạt.

Ở đây chúng ta không đề cập đến các bất thường về số lượng và hình thái mang tính chất ác tính của dòng bạch cầu hạt, ví dụ trong lơ xê mi cấp, vì sẽ được trình bày trong các bài riêng biệt.

Xuất hiện bạch cầu chưa trưởng thành ra máu: bình thường các tuổi này cư trú trong khoang biệt hóa-dự trữ của tủy xương, nhưng trong những tình huống bệnh lý

nhất định chúng xuất hiện ở máu ngoại vi. Dựa vào sự xuất hiện của các lứa tuổi biệt hóa để chia ra các mức độ:

- Mức độ nhẹ: xuất hiện bạch cầu đũa và hậu tủy bào
- Mức độ vừa: có cả tiền tủy bào và tủy bào ở máu.
- Mức độ nặng: xuất hiện các nguyên tủy bào.

Hiện tượng xuất hiện các tuổi chưa trưởng thành của dòng bạch cầu hạt ở máu ngoại vi có thể gặp trong các tình huống: tủy tăng sinh phản ứng trong nhiễm trùng cấp hoặc mạn, trong các bệnh ác tính tạo máu: lơ xê mi kinh dòng hạt...

1.1.6.1. Bất thường về số lượng

* **Tăng số lượng bạch cầu:** là hiện tượng tăng số lượng tuyệt đối của một hay nhiều thành phần bạch cầu trong máu. Chủ yếu do các cơ chế sau:

- Tăng di chuyển các tuổi chưa trưởng thành từ tủy ra máu ngoại vi do quá trình tăng sinh.
- Tăng huy động các tế bào trưởng thành từ khoang dự trữ-biệt hóa của tủy xương ra máu.
- Tăng di chuyển các tế bào trưởng thành ở vùng rìa mạch máu vào tuần hoàn.
- Giảm quá trình di chuyển của các tế bào trưởng thành vào các mô đích.

a. Tăng bạch cầu hạt trung tính: có thể gặp trong lơ xê mi hoặc các bệnh lành tính khác như viêm hoặc nhiễm khuẩn. Số lượng bạch cầu trung tính cũng tăng khi cơ thể bị tác động do quá nóng hoặc quá lạnh, do bỏng, sau phẫu thuật, tập luyện thể lực quá mức...

b. Tăng bạch cầu hạt ưa axit: nguyên nhân gây tăng đáng kể và kéo dài bạch cầu hạt ưa axit thường gặp nhất là các bệnh dị ứng. Ngoài ra còn do các bệnh lý về da, nhiễm ký sinh trùng hoặc một số thể bệnh lơ xê mi.

c. Tăng bạch cầu hạt ưa bazơ: khác với bạch cầu hạt ưa axit, số lượng bạch cầu ưa bazơ hầu như không thay đổi trong ngày hay theo lứa tuổi hoặc hoạt động thể lực. Số lượng được coi là tăng khi vượt quá 0,075 G/l. Một số hormon có thể gây tình trạng tăng này, và ngoài ra còn gặp trong một số bệnh lý như loét đại tràng, tăng mỡ máu, ho gà, viêm xoang mạn tính, lơ xê mi kinh dòng hạt và đa hồng cầu nguyên phát.

* **Giảm số lượng bạch cầu:** Thường gặp nhất là tình trạng giảm số lượng bạch cầu hạt trung tính. Ngoài ra, ít gặp trường hợp giảm các bạch cầu khác trong máu.

a. Giảm bạch cầu hạt trung tính: có thể do giảm sản xuất từ tủy xương do các bệnh lý tạo máu hoặc do các ung thư xâm lấn tủy xương, đôi khi do điều kiện dinh dưỡng kém (đói kéo dài). Thường gặp hiện tượng giảm bạch cầu hạt ở những

trường hợp sau điều trị hóa chất, sau xạ trị khối u và đôi khi trong trường hợp bị nhiễm khuẩn nặng.

b. Giảm bạch cầu hạt ưa axit: hiếm gặp và có thể do một số yếu tố như: điều trị corticoid kéo dài, đôi khi do nhiễm khuẩn hoặc nhiễm virus nặng.

c. Giảm bạch cầu hạt ưa bazơ: có thể do một số hormone như corticotropin, progesteron.

1.1.6.2. Bất thường về hình thái: các bất thường về hình thái thường kèm theo rối loạn chức năng, và hậu quả thường là giảm chức năng chống nhiễm khuẩn của cơ thể. Chủ yếu các bất thường tập trung vào dòng bạch cầu hạt trung tính.

a. Bất thường nguyên sinh chất

- Tăng hạt “độc”: bào tương chứa nhiều hạt kích thước lớn, bắt màu xanh tím đậm. Bản chất là các hạt nguyên phát, bình thường không quan sát được khi nhuộm trên tiêu bản. Khi bị kích thích, các hạt này sẽ biến đổi và quan sát được. Hiện tượng này gặp trong phản ứng nhiễm trùng, xơ gan, nhiễm độc, lao giai đoạn tiến triển...

- Thể Döhle: hình tròn nhỏ, 1-5 μm , màu xanh nhạt, nằm sát thành trong bào tương của bạch cầu hạt trung tính và bạch cầu đũa. Các thể này gặp thoáng qua trong một số tình trạng tăng bạch cầu do bỏng, do nhiễm trùng, sau phẫu thuật, khi mang thai...

- Bất thường May-Hegglin: là các thể vùi trong bào tương, hình que, kích thước hơn 5 μm , có thể gặp ở mọi lứa tuổi dòng hạt và tồn tại lâu dài. Bất thường này được di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường, thường kèm theo giảm số lượng tiểu cầu và tiểu cầu khổng lồ.

- Bất thường Alder-Reilly: bào tương chứa các hạt màu hồng đỏ, kích thước nhỏ. Thường không có biểu hiện lâm sàng.

- Hội chứng Chediak-Higashi: bào tương bạch cầu hạt chứa các hạt lớn, màu tím đỏ. Các hạt này có cả trong bào tương của lymphô và mônô. Trên lâm sàng thường có biểu hiện nhiễm trùng tái diễn do giảm khả năng hóa ứng động và kết dính của bạch cầu với vi khuẩn. Bệnh này được di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, và thường kết hợp với hiện tượng giảm bạch cầu.

- Hốc bào tương: thường gặp trong hiện tượng thực bào hoặc tự thực bào, do xạ trị hoặc hóa chất. Hốc thực bào thường lớn hơn (7-8 μm) so với hốc tự thực bào (1-2 μm).

- Giảm hạt trong bào tương: thể hiện tình trạng hoạt hóa hay tổn thương chức năng thực bào của bạch cầu hạt. Đôi khi còn do tổn thương màng tế bào trong quá trình làm tiêu bản hoặc do kỹ thuật nhuộm.

b. Bất thường nhân

- Tăng chia đoạn nhân (5-6 đoạn): thường gặp trong bệnh thiếu máu hồng cầu to, nhiễm khuẩn mạn tính.
- Giảm chia đoạn nhân: nhân không chia đoạn hoặc chỉ có hai đoạn (bất thường kiểu Pelger-Huet), hoặc nhân dị dạng. Thường gặp trong hội chứng rối loạn sinh tủy, nhiễm độc...
- Nhân mọc nhánh nhỏ giống sợi tóc: thường quan sát được ở bạch cầu đũa trong trường hợp di căn biểu mô tủy xương hoặc sau xạ trị.
- Nhân teo đét khi tế bào bị mất nước: chất nhân co đặc, có thể vỡ ra thành những mảnh nhỏ. Có thể gặp trong nhiễm trùng hoặc do kỹ thuật chuẩn bị và nhuộm tiêu bản.
- Nhân hoại tử: tế bào bị tổn thương, nhân vỡ thành từng mảnh tròn nhỏ, hoặc chất nhân nhạt màu, lộ rõ hệ thống sợi lưới.

1.2. Dòng bạch cầu mono

Các tế bào đơn nhân thực bào trong cơ thể bao gồm hai loại: mônô và đại thực bào. Các đại thực bào phân bố trong các cơ quan của cơ thể và có tên gọi đặc trưng: tổ chức bào trong mô liên kết, tế bào Kupffer trong gan, hủy cốt bào trong xương...các tế bào trong mô liên kết của lách, tủy ức, mô lymphô được gọi chung là hệ thống đơn nhân thực bào hay hệ thống liên võng nội mô.

1.2.1. Quá trình sinh sản và biệt hóa

Các tế bào thuộc nhóm đơn nhân thực bào được sinh ra từ các tế bào gốc định hướng tại tủy xương. Từ bạch cầu mônô, do tác dụng của các yếu tố điều hòa sẽ chuyển thành các đại thực bào và đi vào các mô đặc hiệu.

Các mônô và đại thực bào có chức năng chủ yếu là thực bào, mặc dù bên cạnh đó chúng còn có chức năng điều hòa và tiết các yếu tố khác.

Quá trình biệt hóa của dòng mônô-đại thực bào ngắn hơn so với dòng bạch cầu hạt, chúng chỉ trải qua 3 giai đoạn biệt hóa trong khoảng 2 đến 2,5 ngày. Trong 12 đến 24 giờ kể từ giai đoạn biệt hóa cuối cùng là các tế bào mônô được giải phóng ngay ra máu ngoại vi và rất ít có dự trữ trong các xoang máu. Ở máu ngoại vi, các mônô sẽ lưu hành theo dòng máu hoặc ở trong các vùng rìa với tỷ lệ lần lượt là 1/3,5.

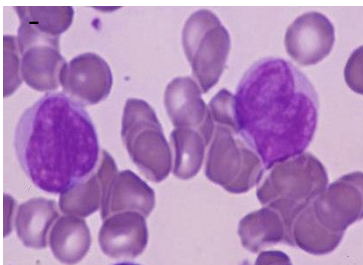
Nửa đời sống của các mônô trung bình là 8,5 giờ trong máu, còn khi vào mô, thời gian tồn tại rất khác nhau. Tuy nhiên, đôi khi chúng tồn tại nhiều tháng đến nhiều năm ở những mô không bị viêm.

1.2.2. Hình thái dòng mônô

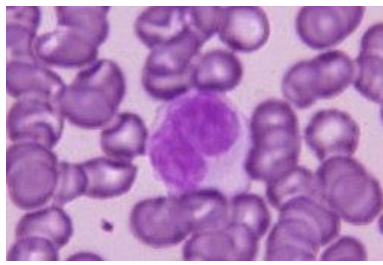
Sự khác biệt về đặc điểm hình thái giữa các tuổi biệt hóa dòng môno khó xác định và mô tả hơn so với dòng bạch cầu hạt. Các nguyên bào môno (monoblast), các tiền môno (promonocyte) và môno có nhiều hình dạng khác nhau. Tuy nhiên, chúng cũng có những đặc điểm riêng để nhận biết, như nhân hình tròn hoặc bầu dục, chất nhân thô, xốp, cuộn.

- Monoblast và promonocyte tương đối khó phân biệt, cùng có kích thước lớn khoảng 12-18 μm , nhân lớn, chất nhân khá mịn, đôi khi có hạt nhân. Bào tương khá hẹp, ưa base.

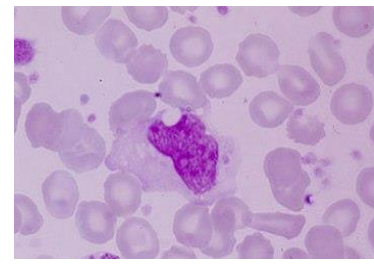
- Môno có kích thước khá lớn, đường kính từ 10 đến 20 μm , đôi khi rất lớn (đến 50 μm). Nhân lớn, xốp, cuộn. Bào tương rộng, bắt màu xanh xám có chứa các hạt mịn màu đỏ cam, ranh giới không đều, đôi khi có một số giả túc, thường thấy các hốc bào tương.



Nguyên bào môno



Tiền môno



BC môno

1.2.3. Chức năng của bạch cầu môno

Cùng với các bạch cầu khác, môno và đại thực bào tham gia hệ thống miễn dịch của cơ thể qua chức năng thực bào và trình diện kháng nguyên.

Do các yếu tố hóa ứng động và các yếu tố do lymphô T tiết ra, các môno-đại thực bào sẽ di chuyển đến vùng mô bị tổn thương. Sau khi được hoạt hóa, chúng tiết ra các enzym, các thành phần bổ thể, các yếu tố ứng động bạch cầu hạt trung tính, các interferon và pyrogen. Vai trò chính của môno-đại thực bào là loại bỏ các tác nhân xâm nhập như vi khuẩn lao, nấm, ký sinh trùng, đặc biệt là virus và các tế bào nhiễm virus.

Các môno-đại thực bào còn có chức năng tham gia đáp ứng miễn dịch thể dịch và tế bào bằng cách tiết ra những yếu tố như interleukin 1 hay yếu tố hoạt hóa lymphô. Ngoài ra, chúng còn tiết transcobalamin để vận chuyển vitamin B12, các yếu tố hoạt hóa plasminogen, ức chế plasmin, hoạt hóa tiểu cầu...và các cytokine.

1.2.4. Một số thay đổi của bạch cầu môno

- Rối loạn chức năng môno thường dẫn đến hậu quả giảm khả năng thực bào và ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của cơ thể, có thể gây tử vong.

- Giảm môno thường ít gặp và xảy ra trong bệnh cảnh giảm bạch cầu chung trong

các bệnh tạo máu, bệnh tự miễn có ức chế tủy, trong nhiễm trùng nặng hay sau điều trị hóa chất, xạ trị...

- Tăng mônô khi số lượng tuyệt đối trên 1 G/l trong thời gian dài, có thể do:
- + Bệnh lý tạo máu: loxêmi cấp và kinh, u lymphô, hội chứng rối loạn sinh tủy.
- + Ung thư, bệnh tự miễn, lao...

1.3. Dòng bạch cầu lymphô

Các lymphô có vai trò quan trọng nhất trong hệ thống miễn dịch của cơ thể. Các loại tế bào lymphô được chia ra bao gồm: lymphô B và tương bào (plasmoxit) có chức năng sản xuất các kháng thể (Ig), lymphô T và tế bào diệt tự nhiên (NK: natural killer cell) có khả năng điều hòa, ức chế và diệt trực tiếp các tác nhân lạ.

Quá trình biệt hóa được nhận biết qua sự xuất hiện hay mất đi của một số cụm kháng nguyên biệt hóa trên màng tế bào.

1.3.1. Quá trình sinh sản và biệt hóa

Trong thời kỳ phôi, các tế bào lymphô được sinh ra từ các tế bào gốc tạo máu có mặt trong túi noãn hoàng và gan. Tiếp đó trong thời kỳ hình thành bào thai, các lymphô được sinh ra tại tủy xương do biệt hóa và trưởng thành từ các tế bào gốc định hướng dòng lymphô, dưới tác dụng của các interleukin 1 và interleukin 6.

Quá trình biệt hóa và tăng sinh của các lymphô diễn ra đến khi trưởng thành và di cư đến các cơ quan đích. Các cytokin tạo máu có vai trò quan trọng trong quá trình biệt hóa của các tế bào tiền B (pre-B cell) hoặc tiền thân tuyến ức (prothymocyte). Các tế bào lymphô sẽ biệt hóa hoặc trở thành lymphô B, hoặc trở thành lymphô T. Các lymphô B đầy đủ chức năng chính là các tương bào. Về vị trí trưởng thành, có lẽ các lymphô B được “huấn luyện” tại tủy xương, trong khi đó, các lymphô T được trưởng thành tại tuyến ức.

1.3.2. Số lượng và hình thái bình thường của dòng lymphô

Trong cơ thể, khoảng 5% số lượng lymphô toàn cơ thể lưu thông trong máu. Trong số đó, các lymphô T chiếm khoảng 60% đến 80%, còn các lymphô B chiếm khoảng 20%. Số lượng lymphô trong cơ thể thay đổi theo độ tuổi, và ở người lớn khỏe mạnh, lymphô chiếm khoảng 35% tổng số bạch cầu ở máu, tương đương khoảng 2,5 G/l.

Giá trị trung bình của lymphô ở máu ngoại vi

Tuổi	Tổng số bạch cầu (G/l)	Lymphô	
		Số lượng #	Tỷ lệ
Sơ sinh	18,1	5,5	31
6 tháng	11,9	7,3	61

2 tuổi	10,6	6,3	59
12 tuổi	8,0	3,0	38
Trưởng thành	7,4	2,5	35

Các giai đoạn biệt hóa của dòng lymphô bào gồm: các nguyên bào lymphô (lymphoblast) đến tiền lymphô (prolymphocyte) và lymphô trưởng thành (lymphocyte). Đặc điểm hình thái của các tế bào này quan sát được trên tiêu bản nhuộm thông thường.

- Nguyên bào lymphô: kích thước 15-20 μm , tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất là 4/1. Nhân tròn hoặc bầu dục, có thể có 1 đến 2 hạt nhân. Chất nhân mịn. Bào tương hẹp, ưa bazơ và không có hạt.

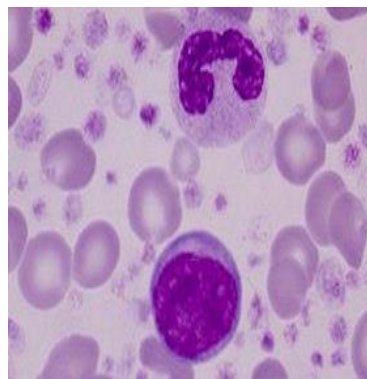
- Tiền lymphô: kích thước khá lớn, khoảng 15-18 μm , tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất khoảng 4/1 đến 3/1. Nhân thường hình bầu dục, đôi khi có hạt nhân, chất nhân còn khá mịn. Bào tương hẹp, ưa bazơ nhẹ, và có vài hạt ưa azur.

- Lymphô trưởng thành: có kích thước thay đổi từ lớn (khoảng 17-20 μm) ở những tế bào ít trưởng thành đến nhỏ (6-9 μm) ở những tế bào trưởng thành hơn. Tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất từ 3/1 đến 2/1. Nhân tròn hoặc bầu dục, không có hạt nhân. Bào tương màu xanh nhạt và mỏng, đôi khi có vài hạt ưa azur. Các lymphô bị kích thích (hoạt hóa) có kích thước khá lớn, bào tương rộng, màu xanh đậm, và đôi khi có hạt nhân. Ngoài ra, các lymphô trưởng thành còn có những biến thể hình thái rất đa dạng nên có thể gây nhầm lẫn với các loại tế bào khác với các đặc điểm:

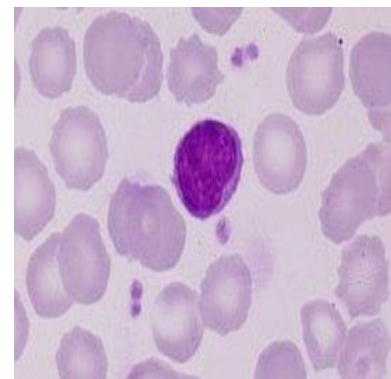
- + Kích thước lớn, nhân lớn, có hạt nhân
- + Nhân chia thùy hoặc kéo dài (dạng monoxit).
- + Bào tương rộng, ưa bazơ, có hốc bào tương, có hạt.



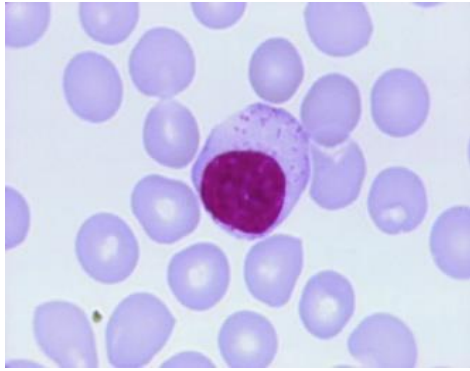
NB Lympho



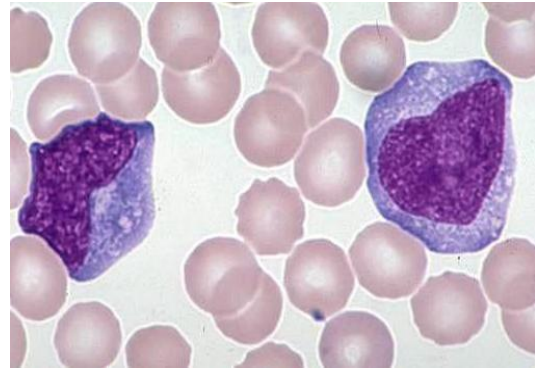
Tiền lymphô



Lymphô nhỏ



Lymphô lớn



Lymphô kích thích

1.3.3. Đời sống và chức năng của bạch cầu lymphô

Các lymphô T có thể tồn tại vài tháng hoặc vài năm trong khi các lymphô B chỉ tồn tại trong vài ngày. Các lymphô di chuyển khá tự do từ máu tuần hoàn vào trong các mô và ngược lại.

Chức năng chủ yếu của bạch cầu lymphô khác nhau ở từng nhóm lymphô.

- Lymphô T: chịu trách nhiệm trong đáp ứng miễn dịch tế bào bằng cách hỗ trợ hoặc ức chế các lymphô B. Khi được hoạt hóa, các lymphô T bảo vệ cơ thể chống lại các tác nhân như virus, vi khuẩn, nấm, kí sinh trùng. Các lymphô T còn có vai trò trong việc nhận và thải mảnh ghép.
- Lymphô B: có vai trò trong đáp ứng miễn dịch dịch thể. Khi chuyển dạng thành các tương bào sẽ tiết ra các kháng thể chống lại vi khuẩn có vách.
- Tế bào diệt tự nhiên (NK) có vai trò trong phản ứng độc tế bào và diệt virus, các tế bào mang virus, các tế bào ung thư...

1.3.4. Một số bất thường về số lượng và hình thái của dòng lymphô

1.3.4.1. Bất thường về số lượng:

- *Tăng lymphô*: khi số lượng tuyệt đối trên 3 G/l, ít gặp do các đáp ứng viêm không đặc hiệu như các bạch cầu hạt trung tính. Không kể ở trẻ em, các nguyên nhân gây tăng lymphô thường gặp là:

- + Nhiễm virus cấp: tăng mônô nhiễm khuẩn, virus viêm gan, sau truyền máu, CMV...
- + Nhiễm một số vi khuẩn: ho gà và brucella.
- + Nhiễm ký sinh trùng (toxoplasma).
- + Phản ứng thuốc.
- + Bệnh lý ác tính: lơ xê mi, ung thư.

- *Giảm lymphô*: khi số lượng tuyệt đối giảm thấp hơn 1 G/l ở người lớn hoặc 1,5 G/l ở trẻ em.

Cơ chế gây giảm lymphô bao gồm: giảm sinh lymphô, mất cơ học, tăng phá hủy

và các bất thường chức năng khác. Tình trạng giảm lymphô thường gặp do sang chấn tâm lý (stress) hoặc do điều trị corticoid, bệnh thiếu hụt miễn dịch, hóa chất và xạ trị, đôi khi không rõ nguyên nhân.

1.3.4.2. Bất thường về hình thái

- Lymphô lớn: kích thước trên 10 μm , gặp trong một số trường hợp thiếu máu nặng, nhiễm khuẩn mạn tính, hội chứng tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm khuẩn.
- Lymphô dạng hai nhân (binucleated): gặp trong nhiễm virus. Nếu tỷ lệ bất thường này trên 5% có thể gợi ý hoặc lơ xê mi kinh dòng lymphô hoặc giai đoạn tiến triển của u lymphô (leukosarcoma).
- Tế bào lymphô dạng Rieder: hình thái tương tự lymphô trưởng thành trừ nhân có khía, chia thùy. Thường gặp trong lơ xê mi kinh dòng lymphô hoặc do kỹ thuật chuẩn bị tiêu bản.
- Bóng Grumbecht: hình ảnh nguyên sinh chất bị vỡ do cơ học, gặp trong lơ xê mi dòng lymphô.

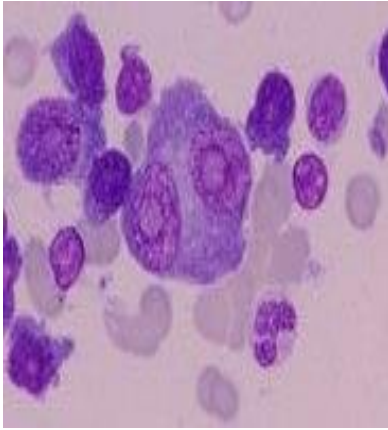
1.4. Dòng tương bào

1.4.1. Quá trình sinh sản và biệt hóa

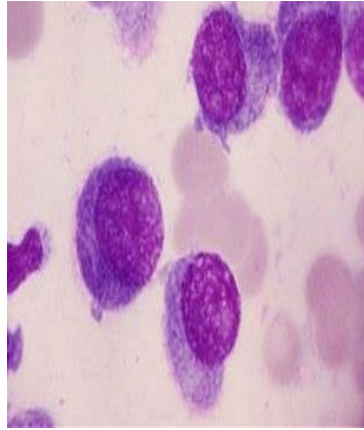
Quá trình phát triển từ lymphô B thành tế bào có khả năng tiết ra kháng thể diễn ra khi các lymphô B bị kích thích bởi các kháng nguyên, trải qua quá trình non hóa (blast transformation) – đó chính là quá trình biệt hóa của dòng tương bào.

1.4.2. Hình thái dòng tương bào

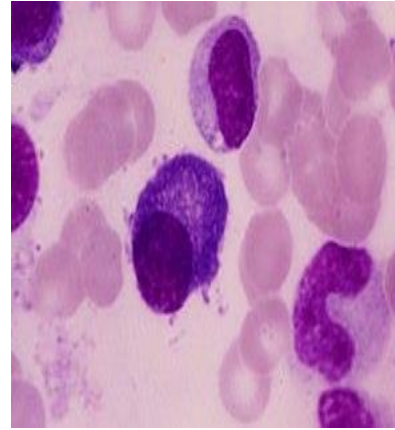
- Nguyên tương bào (plasmoblast): đường kính khoảng 14-18 μm , bào tương rất rộng, bắt màu xanh đậm. Nhân tròn, lệch hẳn về một phía, chất nhân thô, xếp từ trung tâm ra ngoài, có hạt nhân. Thường chỉ gặp trong bệnh đa u tủy xương hoặc lơ xê mi dòng tương bào.
- Tiên tương bào (proplasmocyte): đường kính khoảng 8-16 μm , bào tương rộng, màu xanh đậm. Nhân tròn nằm lệch và không có hạt nhân.
- Tương bào (plasmocyte): đường kính khoảng 6-10 μm , bào tương rất rộng, màu xanh đậm. Nhân rất tròn, nằm lệch về một phía. Chất nhân thô, xếp theo hình nan hoa. Bào tương có vùng sáng cạnh nhân do các thể Golgi hoạt động



Nguyên tương bào



Tiền tương bào



Tương bào

1.4.3. Một số bất thường dòng tương bào

Bình thường, các tương bào không có mặt ở máu ngoại vi và khi số lượng tăng lên thường kèm theo các bệnh lý và xuất hiện các biến đổi về hình thái. Các nguyên nhân thường gặp làm tăng số lượng tương bào là:

- Nhiễm virus: rubella, ho gà, sởi, tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm khuẩn.
- Các bệnh dị ứng.
- Các bệnh mạn tính.
- Bệnh hệ thống.
- Bệnh lý dòng tương bào: đa u tủy xương, lơ xê mi dòng tương bào, bệnh chuỗi nặng Waldenstrom.

Một số biến đổi hình thái cũng có thể gặp, đặc biệt trong bệnh lý dòng tương bào, như tế bào Mott, tế bào “hình ngọn lửa”...

2.2. Các kỹ thuật xét nghiệm đánh giá dòng bạch cầu

2.2.1. Kỹ thuật đếm số lượng bạch cầu

2.2.1.1. Nguyên tắc

Đếm số lượng bạch cầu của máu toàn phần trong một thể tích đã biết trước bằng cách pha loãng mẫu máu với một dung dịch làm tan hồng cầu trong một ống potian và suy ra số lượng bạch cầu trong 1mm^3 máu.

2.2.1.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

* QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG BẠCH CẦU

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

		ng nghiêm túc khi làm việc	công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamen khô sạch + Kính hiển vi quang học + Pipet, potain, thùng rác thải y tế
	Chuẩn bị hóa chất		- Dung dịch pha loãng bạch cầu Lazarus trong không vắn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vắn đục và còn hạn sử dụng; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên buồng đếm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên buồng đếm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	- Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được

			trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	Để thuận lợi cho lấy máu vào potain	Nhỏ 3 giọt máu lên lam kính
7	Hút máu vào potain pha trộn bạch cầu	Đúng thể tích máu	Dùng potain bạch cầu hút máu lên đúng vạch 0,5. Cột máu liên tục không được đứt đoạn.
8	Hút dung dịch Lazarus vào potain	Pha loãng máu trong potain	Dung dịch Lazarus được hút đến vạch 11 để có độ pha loãng 20 lần
9	Lắc trộn đều dung dịch Lazarus và máu	Trộn đều các tế bào máu và phá hủy hết các tế bào hồng cầu.	Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất.
10	Lau buồng đếm và gắn lamên lên buồng đếm: - Dùng bông có thấm nước phết lên 2 bờ của buồng đếm - Gắn lamên lên buồng đếm - nghiêng buồng đếm để kiểm tra	Buồng đếm sạch để quan sát	Buồng đếm được lau sạch và khô bằng gạc. Lamên được gắn chặt lên 2 bờ buồng đếm
11	Nhỏ hỗn dịch trong potain vào buồng đếm: - Lắc trộn đều và loại bỏ 3-4 giọt đầu potain - Nhỏ lên cạnh bờ của lamên	Để đếm số lượng hồng cầu	- Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất - 3-4 giọt đầu potain được loại bỏ - Dung dịch được mao dẫn đều và kín hết buồng đếm.

12	Xác định vị trí đếm số lượng bạch cầu Xác định 4 ô lớn, tại 4 góc: Trên trái, trên phải, dưới trái và dưới phải, để đếm bạch cầu Mỗi ô vuông lớn gồm 16 ô vuông nhỏ.	Giúp đếm KQ chính xác số lượng bạch cầu	Xác định đúng vị trí đếm số lượng bạch cầu trên buồng đếm bằng vật kính 10
13	Đếm số lượng bạch cầu, xác định đúng tiêu chuẩn của các ô đếm: Đếm số lượng bạch cầu ở từng ô vuông nhỏ trong ô vuông lớn theo nguyên tắc chỉ đếm bạch cầu ở cạnh trên và trái	Đảm bảo KQ chính xác	- Số lượng bạch cầu được đếm chính xác ở tất cả các ô đã được xác định. Cho phép sai số <10% so với kết quả nhân viên y tế - Tiêu chuẩn các ô đếm được xác định đúng.
14	Tính và nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Tính đúng số lượng bạch cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải; Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí; Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng; Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
16	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

2.2.1.3. Giới hạn tham chiếu

- Trẻ sơ sinh: $9 \times 10^9 / L$ đến $30 \times 10^9 / L$
- Trẻ em: $6 \times 10^9 / L$ đến $14 \times 10^9 / L$
- Người lớn: $5 \times 10^9 / L$ đến $10 \times 10^9 / L$

2.2.1.4. Nhận định kết quả

- Tăng: Nhiễm khuẩn, bạch cầu cấp, ...
- Giảm: Suy tủy, sau dùng hóa chất, xạ trị, corticoid kéo dài...
- Trong trường hợp số bạch cầu quá cao như trong bệnh ung thư máu, phải pha loãng với ống potain hồng cầu. Khi đó máu được hút lên đến vạch 1, hút dung dịch pha loãng 101. Hệ số pha loãng là 1/100.
- Nếu bạch cầu dưới $2.500/mm^3$ (trong suy tủy), hút máu đến vạch 1, hút dung dịch pha loãng vạch 11. Hệ số pha loãng là 1/10.
- Dung dịch pha loãng dùng để đếm bạch cầu làm tan tất cả các hồng cầu không nhân. Riêng hồng cầu có nhân không tan nên được đếm luôn trong khi đếm bạch cầu.

2.2.1.4. Nguyên nhân sai lầm

- Buồng đếm có bụi bẩn.
- Ống potain bẩn và bị mẻ đầu.
- Dung dịch pha loãng có cặn và vẫn đục.
- Lấy máu không đúng quy cách: máu bị đông hoặc máu mao quản bị pha loãng bởi dịch gian bào do nặn bóp nhiều khi lấy máu.
- Không trộn đều máu và dung dịch pha loãng.
- Hút máu không đúng vạch quy định.
- Dán lá kính không đúng quy cách, không khít.
- Đếm tế bào không đúng: đếm sai, đếm không đủ ô.
- Tính kết quả sai.

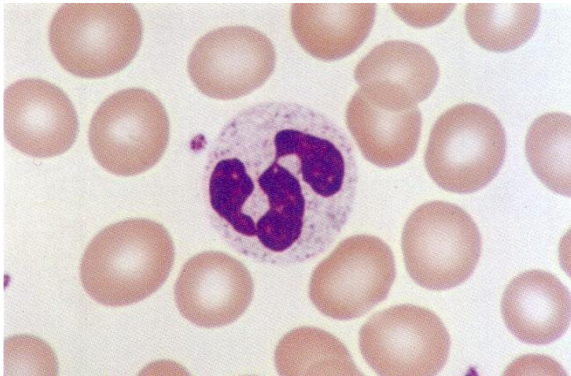
2.2.2. Kỹ thuật quan sát hình thái các loại bạch cầu trong máu ngoại vi và tủy xương

- Nhận định bạch cầu chủ yếu dựa vào tất cả các yếu tố sau đây:
 - + Kích thước.
 - + Hình dạng tế bào.
 - + Cấu trúc của nhân.
 - + Cách bắt màu của nhân, nguyên sinh chất, các hạt đặc hiệu của từng loại tế bào.

- Nhận dạng năm loại bạch cầu

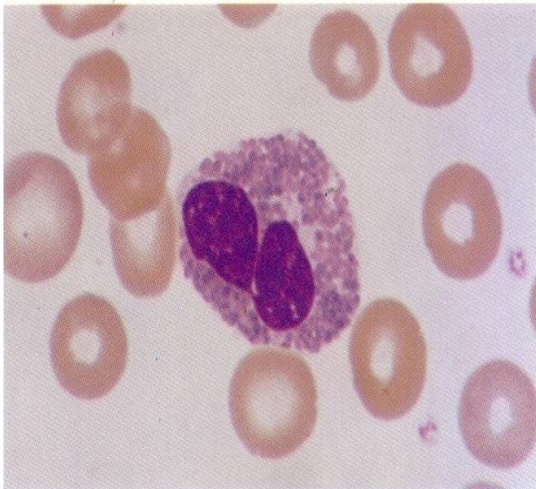
+ Chọn nơi khảo sát tế bào là nơi hồng cầu nằm đều nhau, không chọn nơi hồng cầu quá dày hoặc quá thưa .

Bạch cầu đoạn trung tính (Segmented Neutrophil)



- Tỷ lệ 41 - 74%.
- Kích thước khoảng 12 - 15 μm .
- Nhân thắt làm nhiều đoạn, thường 2 - 5 đoạn. Thể nhiễm sắc cấu tạo thô, bắt màu tím đậm.
- Nguyên sinh chất bắt màu hồng nhạt, có những hạt đặc hiệu nhỏ, bắt màu trung tính.

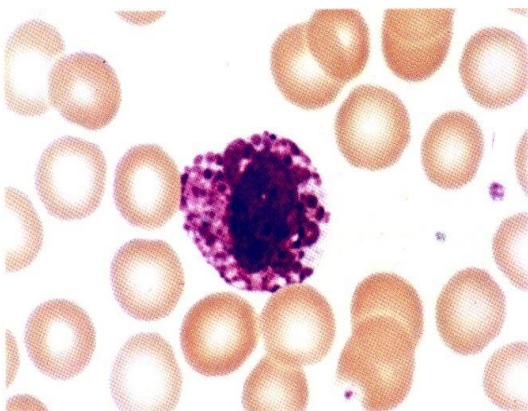
- Bạch cầu ưa acid (Segmented Eosinophil)



Hình 2: Bạch cầu ưa acid

- Tỷ lệ 2 - 4%
- Kích thước khoảng 10 - 15 μm .
- Nhân thường thắt làm 2 đoạn như hình gọng kính. Thể nhiễm sắc cấu tạo thô, đặc, bắt màu đỏ tím.
- Nguyên sinh chất bắt màu hồng nhạt, chứa đầy các hạt đặc hiệu ái toan kích thước to khá đồng đều bắt màu cam.

- Bạch cầu hạt ưa base (Segmented Basophil)

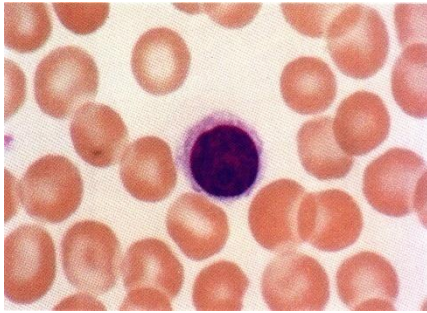


Hình 3: Bạch cầu hạt ưa base

- Tỷ lệ 0 - 1%
- Kích thước: 12 μm .
- Nhân chia làm nhiều đoạn, thường là 2 - 4 đoạn.
- Thể nhiễm sắc cấu tạo thô, đặc, bắt màu đỏ tím đậm.
- Nguyên sinh chất có nhiều hạt to, không đều, bắt màu tím đen, nằm rải rác đè cả lên nguyên sinh chất và nhân.

- Lympho

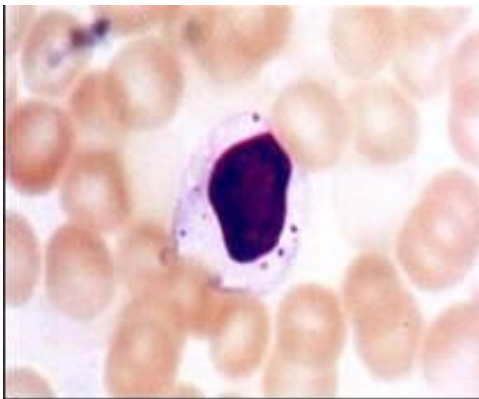
Lympho nhỏ: tỷ lệ 25 - 35%



Hình 4: Bạch cầu lympho nhỏ

- + Hình tròn, bầu dục hoặc kéo dài
- + KT từ 7 - 9 μm .
- + Nhân tròn, lớn. Cấu trúc nhiễm sắc thô, đậm hoặc tụ thành đám lớn.
- + Nguyên sinh chất hẹp, ưa kiềm nhẹ, không có hạt.

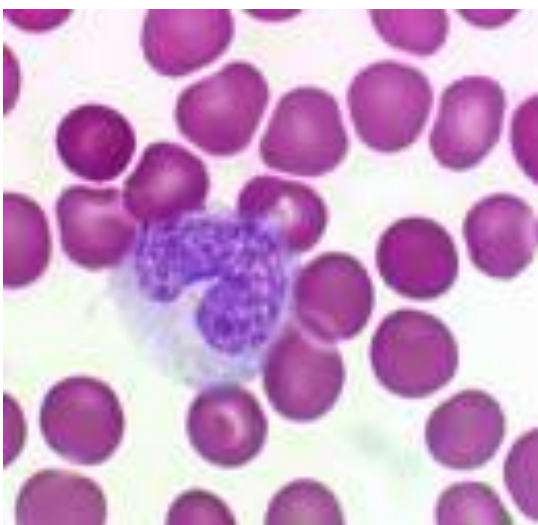
Lympho to:



Hình 5: Bạch cầu lympho to

- + Hình tròn, bầu dục hoặc kéo dài
- + Kích thước từ 9 - 12 μm .
- + Cấu trúc nhiễm sắc trong nhân mảnh hơn, đồng nhất.
- + Nguyên sinh chất rộng, ưa base nhẹ, có thể chứa vài hạt ưa. Azurophil, kích thước lớn.

- Bạch cầu Mono



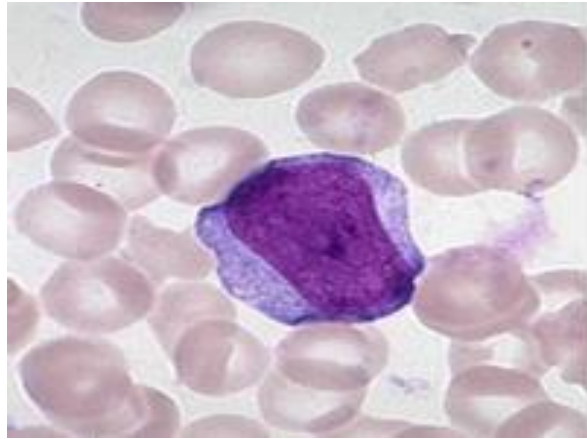
Hình 6: Bạch cầu mono

- Tỷ lệ 1- 4%.
- Kích thước từ 20- 25 μm .
- Nhân nhiều hình dạng: Hình bầu dục, hình hạt đậu, hình móng ngựa, hình quả bật thủ, bắt màu tím đỏ.
- Nguyên sinh chất nhiều, màu xanh xám (màu tro bần), có một ít hạt Azurophile nhỏ, rải rác màu hồng nhạt.

*** Bạch cầu trong tủy xương**

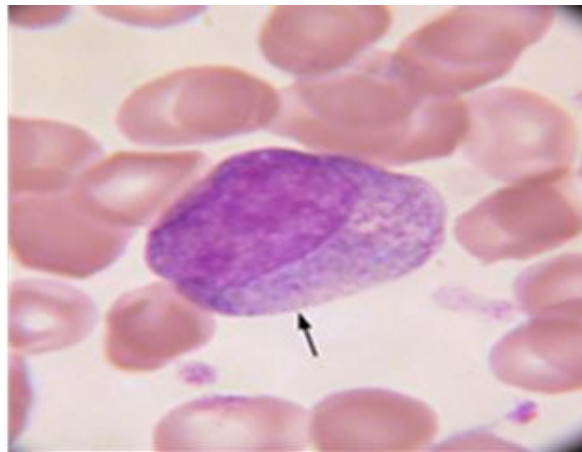
Nguyên tủy bào (Myeloblast):

ĐK 10-18 μm . Chất nhân mịn và đều với một đến vài hạt nhân nhạt màu. Bào tương hẹp, ưa bazơ và không có hạt.



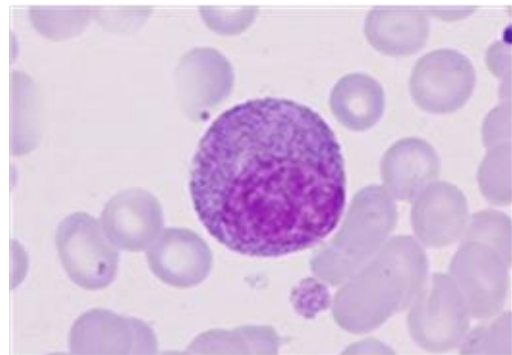
Tiền tủy bào (Promyelocyte):

Đk 14 - 20 μm và có tỷ lệ nhân và nguyên sinh chất thấp hơn. Chất nhân thô hơn, còn quan sát thấy hạt nhân và bào tương màu xanh xám nhạt.



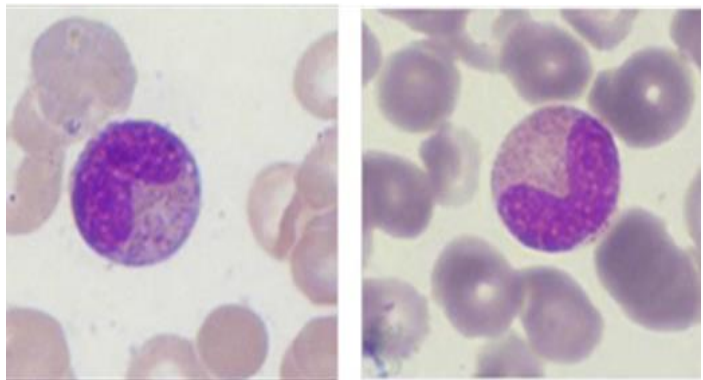
Tủy bào (myelocyte):

ĐK 12 đến 18 μm . Tỷ lệ nhân so với nguyên sinh chất thấp hơn so với tiền tủy bào, nhân có dạng bầu dục rõ hơn, có hạt trung tính, hoặc ưa axit, hoặc hạt ưa bazơ.

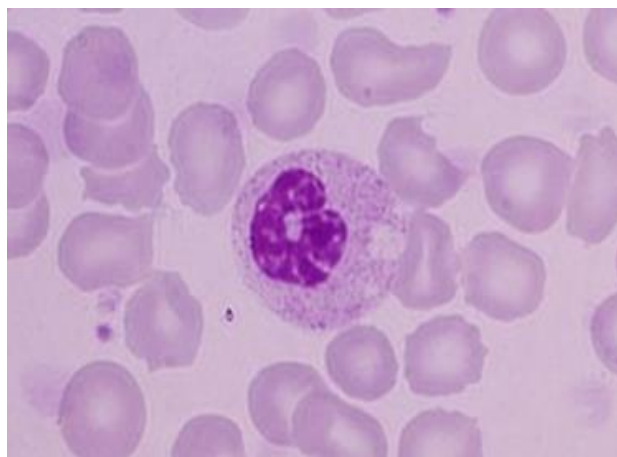


Hậu tủy bào (metamyelocyte):

nhân bắt đầu thắt lại và có dạng quả thận hoặc hình hạt đậu. Chất nhân thô hơn so với tủy bào. Có hạt trung tính, ưa acid hay ưa base.



Bạch cầu đũa (Band hoặc Stab):
 các tế bào này có nhân kéo dài
 hình que, hình gậy...



- Quy trình kỹ thuật:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN MÁU NGOẠI VI

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Lam kính khô sạch không mỡ, lam kéo khô sạch, bông thấm nước, không xước. cốc có mỏ, pipet. + Thùng rác thải y tế.
	Chuẩn bị hóa chất		- Thuốc nhuộm Giemsa cốt đựng trong lọ màu, dung dịch đệm phosphats, nước muối cất, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín.
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên,

	câu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm		tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên lam kính	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên lam kính: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
6	Nhỏ máu lên lam kính	Đúng mật độ tế bào máu	Máu được hút bằng pipet và nhỏ lên chính giữa của 1/3 đầu của lam kính 1 giọt máu khoảng 3 μ l.
7	Kéo tiêu bản giọt đàn Dùng cạnh lam kéo đặt phía trước giọt máu và nghiêng 1 góc 30-45° so với lam kính, kéo ngược lại cho máu dàn đều lên cạnh của lam kéo và đẩy đều tay hết chiều dài của lam kính.	Dễ quan sát hình thể các loại tế bào máu	Giọt máu có chiều dài 2,5 đến 3 cm, cách đều 2 mép lam kính 1mm. Máu được dàn đều từ đầu đến cuối giọt máu, không vấp không xước, không mờ
8	Để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng	Giữ nguyên hình thái tế bào máu	Tiêu bản máu khô
9	Cố định tiêu bản Cố định tiêu bản bằng	Giúp cho việc nhận định rõ ràng	Hình thái tế bào máu giữ nguyên không thay đổi,

	cách nhỏ 1-2 giọt cồn tuyệt đối trên máu đàn và để khô tự nhiên.	hơn	quan sát được rõ các hạt đặc hiệu của bạch cầu.
10	Pha thuốc nhuộm giemsa 10% : theo tỷ lệ 1 ml thuốc nhuộm giemsa cốt và 9 ml dung dịch đệm.	Tế bào máu bắt màu rõ, ít cạnh thuốc nhuộm	Thuốc nhuộm giem sa 10%, được trộn đều bằng pipet tạo thành dung dịch màu xanh đồng nhất. Pha đủ cho mỗi tiêu bản cần 2 ml thuốc nhuộm.
11	Nhuộm tiêu bản - Xếp lam máu đàn cần nhuộm lên giá nhuộm. - Phủ lên khắp lam máu đàn dung dịch giemsa 10%. Hoặc nhúng vào cốc nhuộm giemsa 10%.	Các tế bào máu bắt màu đồng đều.	Xếp tiêu bản lên giá nhuộm nên xếp cách các tiêu bản, không xếp sát các tiêu bản. Thuốc nhuộm được phủ kín lên trên phần bệnh phẩm, không có bọt khí. Đảm bảo cho mỗi tiêu bản có đủ 2 ml thuốc nhuộm. Thời gian nhuộm 10- 15 phút.
12	Rửa tiêu bản Điều chỉnh vòi nước chảy vừa phải không quá mạnh, đưa tiêu bản xuống dưới vòi nước chảy, không nghiêng tiêu bản để nước tự đẩy thuốc nhuộm cho đến khi nước trong thì dừng lại.	Tiêu bản máu sạch, không có cạnh thuốc nhuộm	Tiêu bản được rửa sạch cho đến khi nước trong thì thôi, không còn cạnh thuốc nhuộm
13	Làm khô tiêu bản	Tiêu bản không bị bong khi soi.	Để nghiêng tiêu bản trên giá nhuộm và khô ở nhiệt độ phòng.
14	Nhận định tiêu bản bằng quan sát đại thể	Đảm bảo kết quả chính xác	Màu của tiêu bản bắt màu xanh tím đều khắp tiêu bản
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí.

- Rửa tay		<ul style="list-style-type: none"> - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
-----------	--	---

QUY TRÌNH KỸ THUẬT QUAN SÁT HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG TIÊU BẢN MÁU NGOẠI VI

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)
2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu + Thùng rác thải y tế
	Chuẩn bị hóa chất		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu tiêu bản nhuộm với phiếu yêu cầu xét nghiệm.	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người bệnh và phiếu yêu cầu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa.
4	Xác định vị trí soi	Số lượng tế bào máu vừa phải không quá nhiều hoặc ít.	Soi ở 1/3 vị trí giữa giọt đàn

5	Nhỏ dầu lên tiêu bản máu	Để tăng độ sang khi soi tiêu bản	Nhỏ 1 giọt dầu lên vị trí xác định soi ở 1/3 giữa tiêu bản
6	Soi tiêu bản: Sử dụng kính hiển vi quang học vật kính 100 để lấy vi trường	Để nhận định hình thể các tế bào máu	Di chuyển vi trường từ trái sang phải, từ trên xuống dưới theo hình zích zắc
7	Nhận biết hình thể tế bào hồng cầu	Nhận định các tế bào hồng cầu chính xác	Hồng cầu bắt màu xanh tím. Đường kính 8 μm . Nhận xét mức độ đồng đều về kích thước của các tế bào hồng cầu và phát hiện các bất thường về hình thể, kích thước.
8	Nhận biết hình thể tế bào bạch cầu hạt trung tính	Nhận định các loại tế bào bạch cầu đoạn trung tính chính xác	Bạch cầu hạt trung tính: Nhân chia đoạn, các hạt đặc hiệu nhỏ, mịn và bắt màu đỏ. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước của các tế bào bạch cầu hạt trung tính.
9	Nhận biết hình thể tế bào bạch cầu hạt ưa acid	Nhận định các loại tế bào bạch cầu đoạn ưa acid chính xác	Bạch cầu đoạn ưa acid: nhân chia đoạn, các hạt đặc hiệu bắt màu vàng cam, kích thước lớn xếp đều đặn trong nguyên sinh chất của tế bào. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước.
10	Nhận biết hình thể tế bào các loại bạch cầu hạt ưa bazo và nhận xét	Nhận định các loại tế bào bạch cầu ưa bazo chính xác	Bạch cầu đoạn ưa bazo: nhân chia đoạn, các hạt đặc hiệu ưa bazo có màu xanh đen, kích thước to nhỏ không đều, nằm đè lên cả nhân. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước
11	Nhận biết hình thể bạch cầu monocyte và nhận xét	Nhận định các loại tế bào bạch cầu chính xác	Bạch cầu monocyte; Kích thước lớn, nhân không chia đoạn, nhân có hình ngọn lửa hoặc hình móng

			ngựa, chất nhân xốp, có thể có hóc bào. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước
12	Nhận biết hình thể bạch cầu lympho và nhận xét	Nhận định các loại tế bào bạch cầu chính xác	Bạch cầu lympho: kích thước nhỏ nhân tròn, chiếm gần hết kích thước của tế bào. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước
13	Nhận biết hình thể dòng tiểu cầu và nhận xét kết quả tiêu bản	Nhận định các tế bào tiểu cầu chính xác	Tế bào nhỏ, không nhân có màu hồng xốp Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước, độ tập trung tiểu cầu.
14	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay

2.2.3. Kỹ thuật định công thức bạch cầu phổ thông

* Nguyên tắc: Khảo sát làn máu mỏng ngoại vi đã nhuộm màu wright hay giemsa, nhận diện, đếm và phân loại bạch cầu gặp được rồi ghi lại cho đến khi có được tổng số 100 bạch cầu. Tính tỷ lệ phần trăm của mỗi loại bạch cầu.

* Quy trình kỹ thuật:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH CÔNG THỨC BẠCH CẦU PHỔ THÔNG

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

2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, khăn lau kính + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu - Dầu soi, dung dịch xylen lau kính, khăn lau kính. - Tiêu bản máu đàn đã nhuộm giem sa 10% đạt yêu cầu
	Chuẩn bị hóa chất, bệnh phẩm		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu tiêu bản nhuộm với phiếu yêu cầu xét nghiệm.	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người bệnh và phiếu yêu cầu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa
4	Xác định vị trí soi	Số lượng tế bào máu vừa phải không quá nhiều hoặc ít.	Tiêu bản được soi ở ở 1/3 giữa giọt đàn
5	Nhỏ dầu lên tiêu bản máu	Để tăng độ sang khi soi tiêu bản	1 Giọt dầu được nhỏ lên lên 1/3 giữa tiêu bản giọt đàn
6	Soi tiêu bản	Để quan sát hình thể các tế bào máu	Tiêu bản được di chuyển vị trường từ trái sang phải, từ trên xuống dưới theo hình zích zắc để đảm bảo các vị trường không bỏ sót.
7	Đếm công thức bạch cầu Soi kính hiển vi vật kính x100: Đếm 100 bạch cầu theo đường zic zac, không đi lại các vùng đã soi và nhận định được 5 loại bạch cầu trong máu ngoại vi.	Kết quả công thức BC chính xác	Số lượng bạch cầu hạt trung tính số lượng bạch cầu hạt ưa acid, BC hạt ưa bazơ BC Lympho, BC monocyte. Cho phép sai số <10% so với kết quả của nhân viên y tế.

8	Tính và nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	- Tính đúng số lượng hồng cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
10	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

*** Tính bằng tỷ lệ phần trăm**

Tên bạch cầu	Người trưởng thành (tỷ lệ phần trăm)	Trẻ em 10 tuổi (tỷ lệ phần trăm)	Trẻ sơ sinh
Bạch cầu đũa	1 – 4	4	6
Bạch cầu đoạn trung tính	55 – 75	45 - 60	54 – 86
Bạch cầu ái toan	2 – 6	1 – 4	0 - 2
Bạch cầu ái kiềm	0,1	0,1	0,0
Lympho	25 – 35	40 – 59	10 – 38
Mono	1 – 4	6	0 – 7

*** Tính bằng trị số tuyệt đối (#)** (số lượng mỗi loại bạch cầu có trong 1 mm³ máu):
Để có trị số tuyệt đối này, ta nhân tỷ lệ phần trăm của mỗi loại số lượng bạch cầu có trong 1mm³ máu.

Ví dụ: Lympho = 20% = 0,2

$$\text{Số lượng bạch cầu/ 1mm}^3 = 5000 \text{ mm}^3$$

$$\text{Trị số tuyệt đối của Lympho (Lym \#)} = 0,2 \times 5000 = 1000 / \text{mm}^3$$

- Chú ý: Khi làm công thức bạch cầu cần nhớ quan sát:

+ Nếu hồng cầu có nhân xuất hiện ở máu ngoại vi, phải ghi nhận số lượng hồng cầu

nhân trên tổng số 100 bạch cầu.

+ Lưu ý và ghi nhận những thể bất thường của hồng cầu như: thể Howell - Jolly.

+ Cách phân bố của hồng cầu: có hiện tượng chuỗi tiên, hồng cầu tụ kết cụm hay không.

+ Màu sắc và kích thước của hồng cầu.

- Kiểm tra chi tiết cấu trúc hình thái bạch cầu, hồng cầu phải chọn những chỗ hồng cầu trải đều không được dính hay chồng lên nhau.

- Tiêu cầu: ước lượng số lượng tiêu cầu trung bình có trong một quang trường giúp chúng ta có một ý niệm đại khái về sự tăng, giảm tiêu cầu. Đồng thời khảo sát về sự thay đổi kích thước của hồng cầu, có sự hiện diện của tiêu cầu khổng lồ hay không (giant platelets).

* Nguyên nhân sai lầm

- Trên tiêu bản quá dày hay quá mỏng.

- Cố định không đạt yêu cầu, thuốc nhuộm không đảm bảo chất lượng, nhiều cặn tủa, thời gian nhuộm sai.

- Chọn vùng nhận diện bạch cầu không đúng.

- Nhận diện tế bào sai.

- Một bạch cầu đọc hai lần.

- Đọc tế bào dễ, bỏ qua tế bào khó.

Lượng giá: Trắc nghiệm

BÀI 3. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DÒNG TIỂU CẦU

MỤC TIÊU CỦA BÀI

* Kiến thức

- Kể tên được 1 số kỹ thuật xét nghiệm dòng tiểu cầu.
- Trình bày nguyên tắc, quy trình, giới hạn tham chiếu và nhận định kết quả của các kỹ thuật xét nghiệm dòng tiểu cầu.

* Kỹ năng

- Nhận định và phân tích được sự thay đổi các kỹ thuật xét nghiệm dòng tiểu cầu trong một số tình huống dạy học.

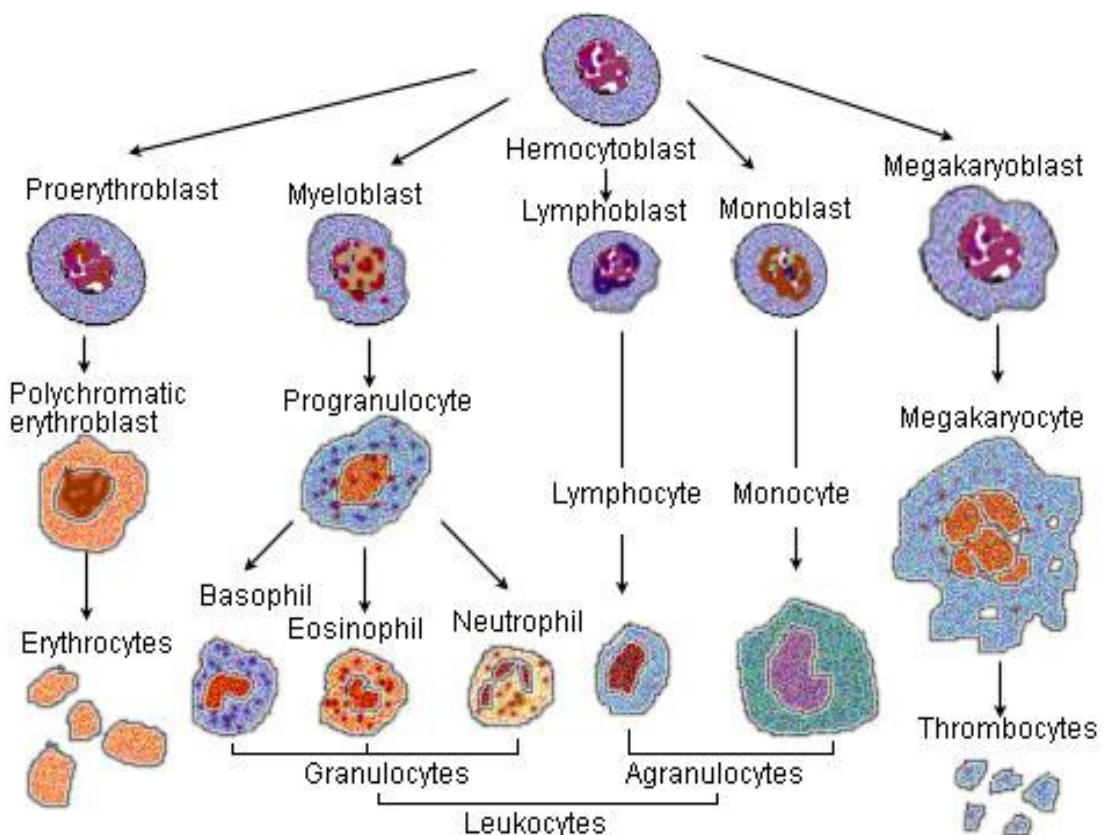
* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Đại cương dòng tiểu cầu

1.1. Các giai đoạn phát triển của tiểu cầu

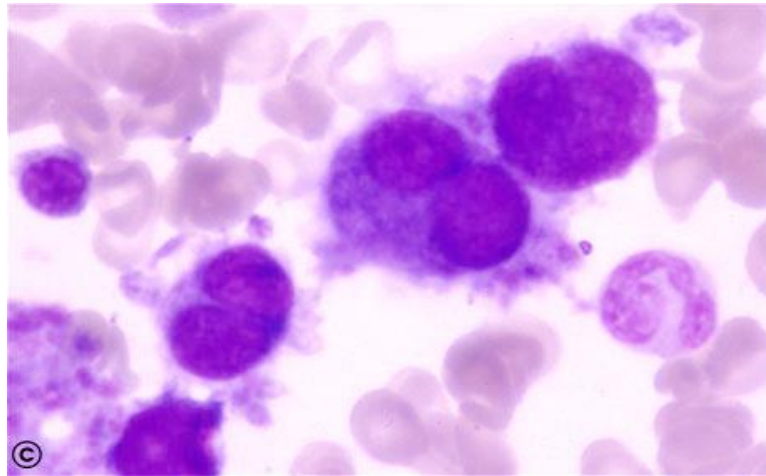


Hình 3.1. Sơ đồ sinh tiểu cầu

Từ tế bào gốc đa năng dòng tủy (CFU-GEMM) sinh ra tế bào mẹ của dòng mẫu tiểu cầu (CFU-Meg), sau đó sinh ra tế bào đầu dòng mẫu tiểu cầu, gọi là nguyên mẫu tiểu cầu (Megakaryoblast). Quá trình nhân lên và biệt hoá của mẫu tiểu cầu cho đến giai đoạn tiểu cầu ở người bình thường diễn ra ở tủy xương. Trong một số trạng thái bệnh lý (như tăng sinh tủy ác tính), quá trình này có thể xảy ra ngoài tủy xương.

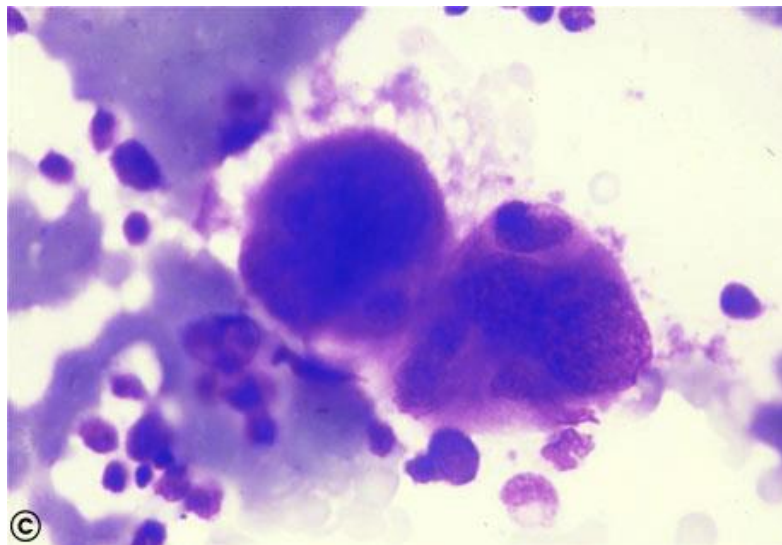
1.1.1. Giai đoạn mẫu tiểu cầu chưa có hạt

* **Nguyên mẫu tiểu cầu (Megakaryoblast):** chiếm khoảng 5% tổng số mẫu tiểu cầu trong tủy xương. Kích thước tế bào 20 - 50 μm , tỷ lệ nhân/ bào tương lớn hơn 1, lưới màu nhân thô, bào tương rất ưa ba zơ và không có hạt.



Hình 3.2: Nguyên mẫu tiểu cầu

1* **Mẫu tiểu cầu ưa ba zơ:** là tế bào thứ hai tiếp theo nguyên mẫu tiểu cầu. Kích thước tế bào to hơn nguyên mẫu tiểu cầu, chiếm khoảng 15% tổng số mẫu tiểu cầu trong tủy xương. Tỷ lệ nhân/ bào tương xấp xỉ 1. Bào tương ưa ba zơ nhẹ hơn nguyên mẫu tiểu cầu.

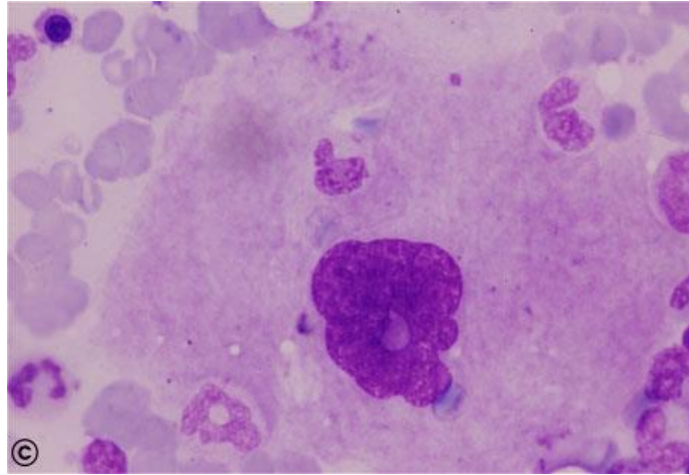


Hình 3.3: Mẫu tiểu cầu ưa ba zơ

1.1.2. Giai đoạn mẫu tiểu cầu có hạt

Bao gồm hai loại là mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu và mẫu tiểu cầu có hạt đang sinh tiểu cầu, chiếm khoảng 70-80% mẫu tiểu cầu.

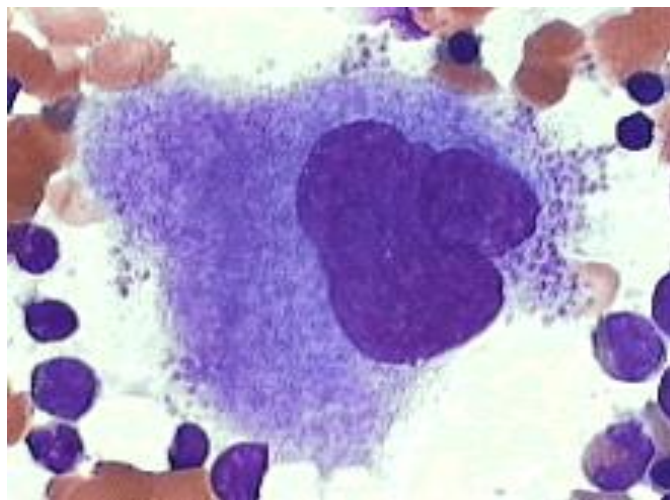
* **Mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu:** có một nhân nhưng thường chia nhiều múi, thỉnh thoảng có gặp hạt nhân. Bào tương, bắt màu ưa acid trên tiêu bản nhuộm giemsa, có nhiều hạt màu tím. Màng bào tương còn nguyên vẹn.



Hình 3.4: Mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu

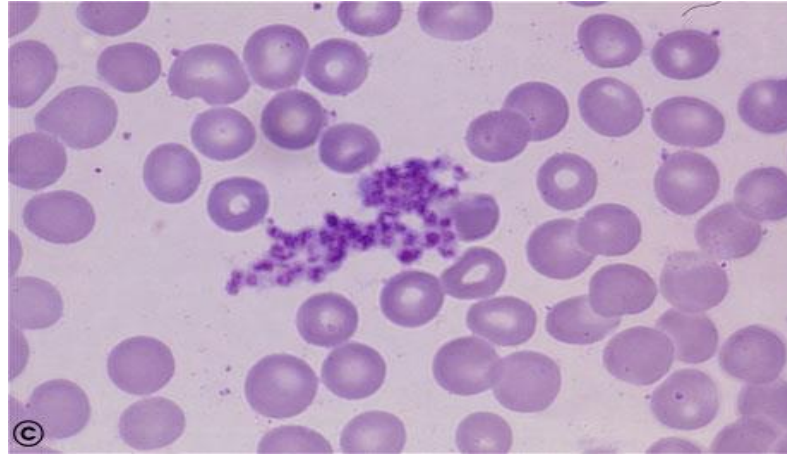
* **Mẫu tiểu cầu có hạt đang sinh tiểu cầu:** chiếm tỷ lệ ít hơn mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu trên tiêu bản tủy đồ người bình thường vì sự phóng thích tiểu cầu xảy ra rất nhanh. Hình thái của loại mẫu tiểu cầu này giống như mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu, nhưng màng bào tương không còn nguyên vẹn mà bị rách nhiều đoạn, qua đó tiểu cầu được phóng thích ra khỏi mẫu tiểu cầu. Sau khi phóng thích hết tiểu cầu, mẫu tiểu cầu chỉ còn lại một nhân trơ và nhân này sẽ bị thoái hoá rồi tiêu đi nhanh chóng.

Trung bình một mẫu tiểu cầu sẽ phóng thích ra khoảng 3000-4000 tiểu cầu.



Hình 3.5: Mẫu tiểu cầu có hạt đang sinh tiểu cầu

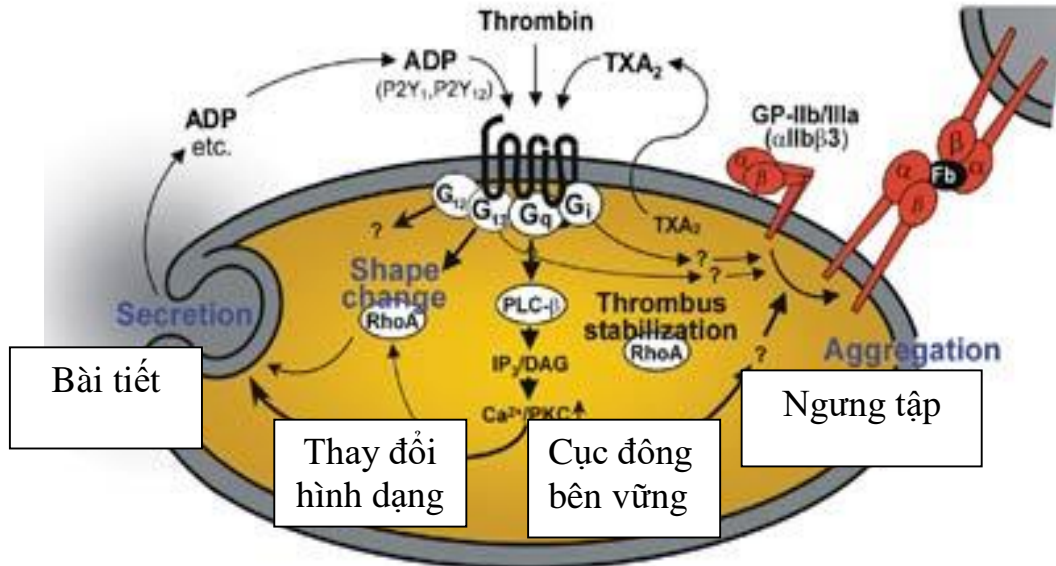
1.1.3. Giai đoạn tiểu cầu: tiểu cầu là tế bào máu nhỏ nhất, không có nhân, đường kính 3-4 μ . Thời gian từ lúc xuất hiện một nguyên mẫu tiểu cầu đến khi phóng thích ra tiểu cầu trung bình khoảng 10 ngày. Bình thường chỉ có khoảng 2/3 số lượng tiểu cầu lưu hành ở máu ngoại vi, tương đương 150-500 x 10⁹/l; 1/3 còn lại được tích tụ ở lách. Đời sống của tiểu cầu khoảng 8-10 ngày.



Hình 3.6: Đám tiểu cầu

1.2. Cấu trúc của tiểu cầu:

Quan sát dưới kính hiển vi điện tử cho thấy tiểu cầu có một siêu cấu trúc phức tạp gồm lớp màng, các hạt, hệ thống vi ống, hệ thống các kênh mở.



Hình 3.7. Cấu trúc tiểu cầu

1.2.1. Màng tiểu cầu:

Gồm 2 lớp lipid kép bao quanh tiểu cầu, là các glycoprotein quan trọng, đóng vai trò như các receptor bề mặt, là nơi diễn ra một số hoạt động đông máu của tiểu cầu.

Các thành phần quan trọng của màng tiểu cầu:

* **Glycoprotein Ib (GpIb):** là protein xuyên màng có nhiệm vụ liên kết với yếu tố Von-Willebrand (vWF) giúp cho tiểu cầu dính bám vào collagen.

* **Glycoprotein IIb/IIIa (GpIIb/IIIa):** là protein màng, hoạt động phụ thuộc vào ion Ca, có nhiệm vụ liên kết với fibrinogen, giúp cho tiểu cầu ngưng tập với nhau tạo thành đĩnh cầm máu.

* **Hệ thống vi ống và vi sợi:**

- **Vi ống:** Nằm ngay cạnh màng tiểu cầu tạo nên khung đỡ và tham gia vào hoạt động co rút khi tiểu cầu bị kích thích.

- **Vi sợi:** gồm các sợi actin, liên hệ chặt chẽ với các vi ống và tham gia vào hoạt động tạo giả túc của tiểu cầu.

* **Hệ thống ống dày đặc:**

Hệ thống ống dày đặc gắn với Canxi lưỡng cực một cách chọn lọc và đóng vai trò kho dự trữ canxi của tiểu cầu. Đây cũng là nơi tổng hợp men cyclooxygenase và prostaglandin tiểu cầu.

1.3. Hệ thống các hạt đặc hiệu:

1.3.1. Các hạt đặc: là các hạt dày đặc điện tử, chứa nhiều ADP, canxi, serotonin và các nucleotid khác. Các chất này được giải phóng khi tiểu cầu bị kích thích và tăng cường độ ngưng tập tiểu cầu.

1.3.2. Các hạt α : Chứa nhiều loại protein khác nhau là: yếu tố phát triển tiểu cầu (platelet derived growth factor- PDGF), fibrinogen, yếu tố V, vWF và nhiều protein quan trọng giúp cho hiện tượng dính của tiểu cầu như thrombospondin, fibronectin.

1.4. Hệ thống các kênh mở: gồm các kênh mở vào trong tiểu cầu như các không bào làm tăng diện tích bề mặt tiểu cầu, các hạt tiểu cầu phóng thích các chất qua hệ thống kênh này.

2. Chức năng tiểu cầu:

Chức năng chính của tiểu cầu là làm vững bền mạch máu, tạo nút cầm máu ban đầu và tham gia vào quá trình đông máu huyết tương. Tiểu cầu thực hiện các chức năng này nhờ các đặc tính sau

2.1. Chức năng dính bám:

Bình thường tiểu cầu không dính vào thành mạch (có thể do prostaglandin gây ức chế dính tiểu cầu). Khi thành mạch tổn thương thì lập tức tiểu cầu được hoạt hoá và dính vào nơi tổn thương. Tiểu cầu còn có thể dính vào các bề mặt lạ như thủy tinh, lam kính...

Các thành phần tham gia vào hiện tượng dính:

- Collagen: là chất quan trọng để tiểu cầu bám dính, kích thích tiểu cầu ngưng tập.

Collagen tồn tại ở vùng gian bào mạch máu

- GPIb: giúp cho hoạt động của chức năng dính
- vWF: gắn với tiểu cầu qua GPIb như cầu nối tiểu cầu với một lớp nội mô bị tổn thương
- Các yếu tố khác bao gồm: fibronectin, thrombospondin, ion Ca.

2.2. Chức năng ngưng tập tiểu cầu:

Đây là hiện tượng tiểu cầu dính với nhau thành từng đám (nút tiểu cầu). Hiện tượng dính hoạt hoá tiểu cầu, tạo điều kiện cho hiện tượng ngưng tập (aggregation) xảy ra. Một số chất có khả năng gây ngưng tập tiểu cầu là: ADP, thrombin, adrenalin, serotonin, acid arachidonic, thromboxan A₂, collagen, ristocetin..., trong đó ADP đóng vai trò quan trọng nhất.

Cơ chế ngưng tập là qua trung gian của liên kết fibrinogen - GPIIb/GPIIIa đã được hoạt hoá có mặt ở lớp ngoài bào tương.

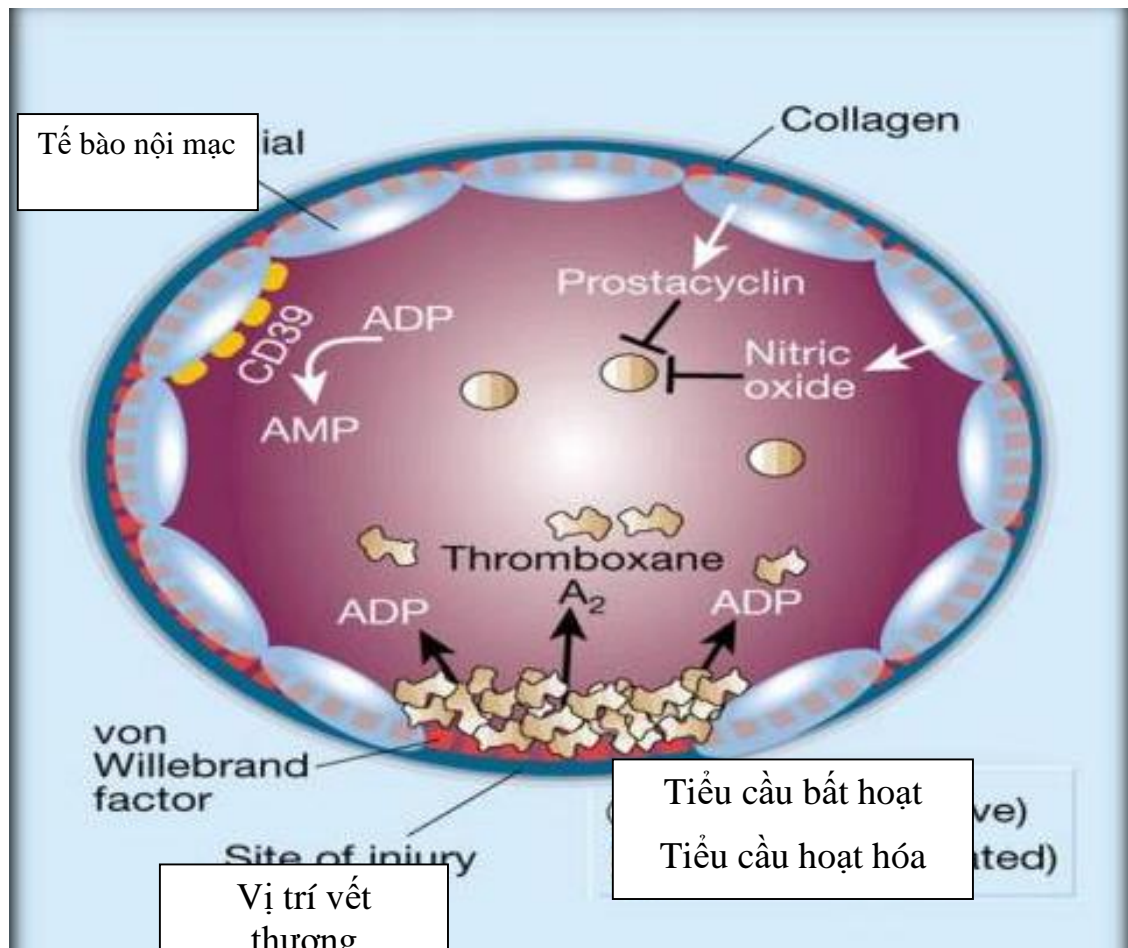
2.3. Chức năng phóng thích các chất của tiểu cầu:

Sau hiện tượng ngưng tập, tiểu cầu thay đổi hình dạng: phồng to, trải rộng, kết dính, ngưng tập, hình thành chân giả, mất hạt, co lại... và phóng thích các chất chứa bên trong tiểu cầu như ADP, serotonin, fibrinogen, men lysosome, β - thromboglobulin, heparin và nhiều loại men khác. Hiện tượng này có sự tham gia của thrombin, collagen và có tiêu hao năng lượng. Đây là hiện tượng có ý nghĩa vô cùng quan trọng trong việc tham gia hình thành đĩnh cầm máu khi thành mạch bị tổn thương.

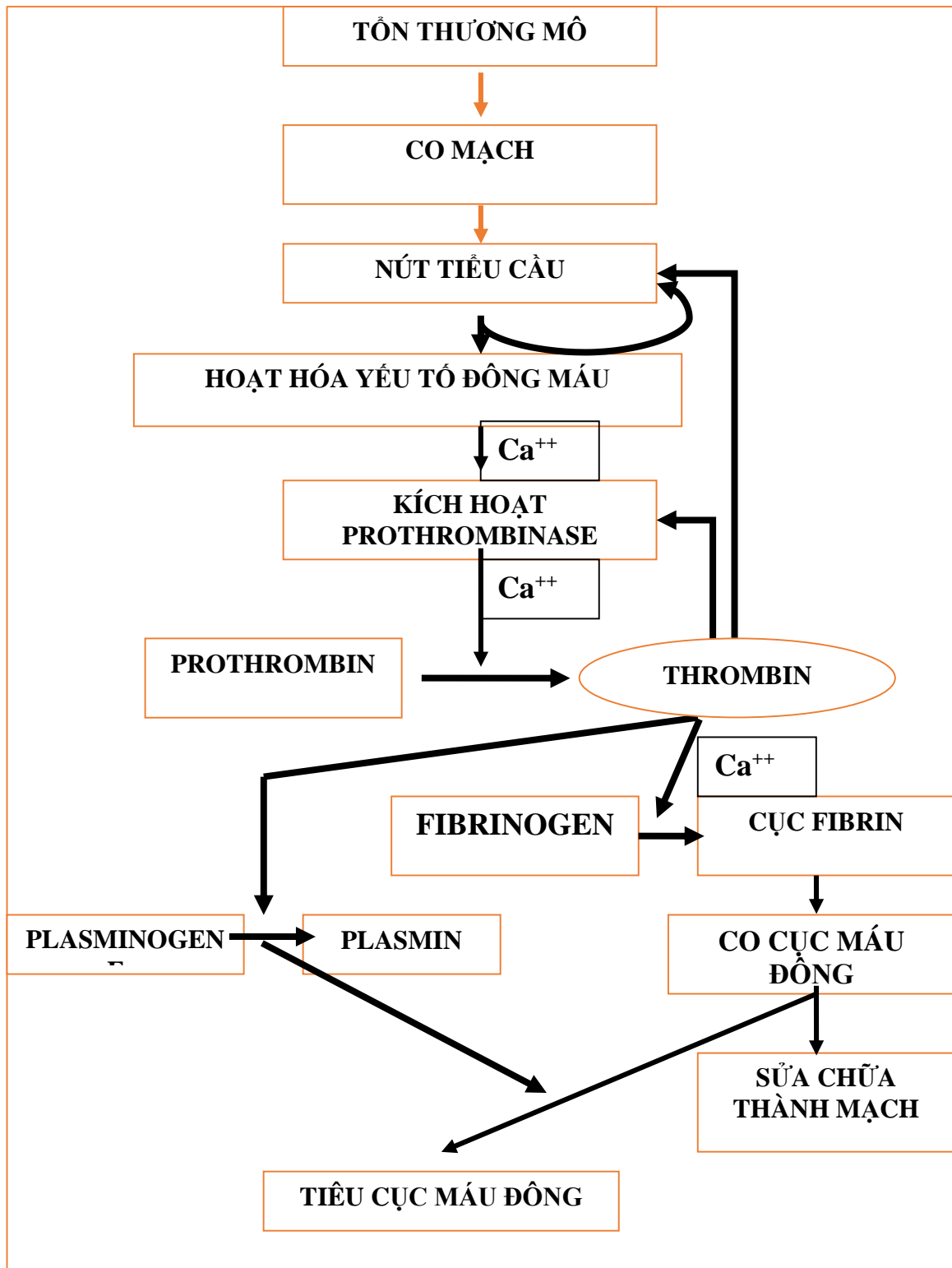
3. Vai trò của tiểu cầu trong đông cầm máu

3.1. Vai trò bảo vệ nội mô: tiểu cầu rất cần thiết cho sự toàn vẹn của mạch máu nhờ khả năng làm non hoá tế bào nội mạch và củng cố màng nội mạc thông qua hoạt động của yếu tố tăng trưởng nội mạc nguồn gốc từ tiểu cầu.

3.2. Tham gia vào quá trình cầm máu: nhờ có khả năng kết dính, ngưng tập và phóng thích các chất mà tiểu cầu tham gia rất tích cực vào quá trình cầm máu kỳ đầu. Sau giai đoạn co mạch, tiểu cầu kết dính và ngưng tập tạo đĩnh cầm máu Hayem (nút tiểu cầu).



Hình 3.8. Hoạt hóa tiểu cầu khi có vết thương mạch máu



Hình 3.9. Quá trình đông cầm máu

3.2. Tham gia vào quá trình đông máu:

Tiểu cầu cũng đóng một vai trò quan trọng trong quá trình đông máu thông qua các chức năng sau:

3.2.1. Sau khi có hiện tượng dính, ngưng tập để khởi động quá trình cầm máu thì đã có một quá trình hoạt hoá ngay tại màng tiểu cầu để chuyển yếu tố XI thành XIa.

3.2.2. Tiểu cầu cung cấp bề mặt điện tích âm tạo thuận lợi cho việc hoạt hoá yếu tố

XI nhờ kallikrein và HMWK, là bước đầu tiên trong dòng thác đông máu.

3.2.3. Sau khi có hiện tượng thay hình đổi dạng, tiểu cầu phóng thích các chất trong đó có yếu tố 3 tiểu cầu, đó là yếu tố có vai trò quan trọng trong hình thành phức hợp prothrombinase gồm Xa, Va, ion Ca và phospholipid (yếu tố 3 tiểu cầu).

3.2.4. Tiểu cầu gắn với yếu tố Xa làm tăng đáng kể tốc độ hoạt hoá prothrombin do yếu tố Xa.

3.2.5. Tiểu cầu còn liên quan đáng kể đến đông máu qua phức hệ yếu tố VIII và làm ổn định hoạt tính đông máu của yếu tố này.

3.3. Tham gia vào quá trình co cục máu đông: Tiểu cầu làm cho các sợi fibrin gắn chặt vào nhau. Ngoài ra tiểu cầu bị giam trong mạng lưới fibrin tiếp tục giải phóng ra yếu tố ổn định fibrin. Yếu tố này tạo nhiều mối dây nối bắt chéo các sợi fibrin với nhau. Tiểu cầu còn hoạt hoá thrombosthenin làm co các gai tiểu cầu đang gắn với fibrin. Các hiện tượng trên làm cục máu đông nhỏ lại và huyết thanh bị tiết ra ngoài. Sự co cục máu đông được hoạt hoá bởi thrombin và ion can xi. Các ion can xi lại do tiểu cầu giải phóng. Sự co cục máu đông làm lưu thông máu trở lại bình thường, kích thích sửa chữa các mô bị tổn thương và làm tan cục máu đông.

2. Các kỹ thuật xét nghiệm đánh giá dòng tiểu cầu

2.1. Kỹ thuật đếm số lượng tiểu cầu (PLT)

2.1.1. Nguyên tắc: Đếm số lượng tiểu cầu của máu toàn phần trong 1 thể tích máu đã biết bằng cách pha loãng máu với 1 dung dịch đẳng trương và nhuộm màu đặc biệt trong ống pha trộn hồng cầu (potain hồng cầu). Sau khi trộn đều, một phần mẫu thử được nhỏ vào buồng đếm và được đếm trong các ô có thể tích nhất định, tính được số lượng tiểu cầu trong thể tích buồng đếm đó, do vậy sẽ tính được số lượng tiểu cầu trong 1 ml máu hoặc 1 lít máu.

2.1.2. Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG TIỂU CẦU

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

2	Chuẩn bị dụng cụ, trang thiết bị	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamên khô sạch + Kính hiển vi quang học + Pipet, potain <ul style="list-style-type: none"> - Dung dịch Macano hoặc dung dịch Rees- Ecker trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.
	Chuẩn bị hóa chất		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên buồng đếm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên buồng đếm: Họ tên/ mã số người bệnh
5	Tráng potain hồng cầu bằng dung dịch Rees- Ecker	Tráng ống potain	Ống potain được hút đầy dung dịch Rees- Ecker, sau đó bơm hết ra để dung dịch Rees- Ecker được tráng đều mặt trong ống potain.
6	Lắc đều ống bệnh	Trộn đều các tế bào	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều

	phẩm	máu	đọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất
7	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	Để thuận lợi cho lấy máu vào potain	- Máu được hút liên tục đảm bảo không có bọt khí. Nhỏ đủ 3 - 4 giọt máu lên giữa lam kính
8	Lấy máu từ lam kính vào potain	Để pha trộn hồng cầu	Máu được hút lên đúng vạch 0,5 của potain. Máu liên tục không đứt đoạn trong potain ống potain được lau sạch máu phía ngoài
9	Hút dung dịch Macano vào potain	Pha loãng máu trong potain	Dung dịch Macano được hút đến vạch 101 để có độ pha loãng 200 lần
10	Lắc trộn đều dung dịch pha loãng và máu	Trộn đều các tế bào hồng cầu.	Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất. Có thể lắc bằng tay hoặc dùng máy lắc.
11	Lau buồng đếm và gắn lamên lên buồng đếm: - Dùng bông có thấm nước phết lên 2 bờ của buồng đếm - Gắn lamên lên buồng đếm - nghiêng buồng đếm để kiểm tra	Buồng đếm sạch để quan sát và có đủ kích thước về chiều cao của buồng đếm 1/10 (mm)	Buồng đếm được lau sạch và khô bằng gạc. lamên được gắn chặt lên 2 bờ buồng đếm
12	Nhỏ hỗn dịch trong potain vào buồng đếm:	Để đếm số lượng hồng cầu	- Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất

	<ul style="list-style-type: none"> - Lắc trộn đều và loại bỏ 4-5 giọt đầu potain - nhỏ lên cạnh bờ của lamén 		<ul style="list-style-type: none"> - 4-5 giọt đầu potain được loại bỏ - Dung dịch được mao dẫn đều và kín hết buồng đếm.
13	<p>Buồng đếm trên mặt phẳng giúp tiểu cầu lắng và soi kính để xác định vị trí đếm số lượng tiểu cầu:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Xác định đúng ô lớn tại vùng trung tâm và đếm ở cả 2 vùng đếm. 	Giúp đếm KQ chính xác số lượng hồng cầu	<ul style="list-style-type: none"> -Tiểu cầu được để lắng trong buồng đếm 15 phút. Quan sát vị trí đếm tiểu cầu trên buồng đếm bằng vật kính 10: có màu xanh dương nhạt, óng ánh, có thể hình tròn, bầu dục hoặc hình dầy phẩy. Kích thước 2-5μm
14	<p>Đếm số lượng tiểu cầu, xác định đúng tiêu chuẩn của các ô đếm:</p> <p>Đếm số lượng tiểu cầu ở ô vuông lớn và đếm cả ở 2 vùng</p> <p>Nguyên tắc chỉ đếm hồng cầu ở cạnh trên và trái</p>	Đảm bảo KQ chính xác	<ul style="list-style-type: none"> - Chuyển sang vật kính 40 để đếm tiểu cầu. - số lượng tiểu cầu được đếm chính xác ở tất cả các ô đã được xác định. Cho phép sai số <15% so với kết quả nhân viên y tế - Tiêu chuẩn các ô đếm được xác định đúng.
15	Tính và nhận định kết quả	Đảm bảo kết quả chính xác	<ul style="list-style-type: none"> - Tính đúng số lượng tiểu cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
16	<p>Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải</p> <ul style="list-style-type: none"> - Rửa tay 	Đảm bảo an toàn sinh học	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm

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

* Tiểu cầu có màu xanh dương, óng ánh, hình thể có thể hình tròn, hình dấu phẩy, hình bầu dục. Kích thước 2- 5 μm .

* Với buồng đếm Neubauer

- Diện tích buồng đếm: 1 mm

- Chiều cao huyết cầu kế: 1/10 mm

- Thể tích : 1/10 mm³

- Độ pha loãng 1/200

- Số tiểu cầu đếm được trong buồng đếm là X

Số tiểu cầu trong mm³ = X*10*200 = X* 2000

2.1.3. Giới hạn tham chiếu: 150 đến 400 G/ lít

2.1.4. Nhận định kết quả:

Số lượng tiểu cầu giảm: trong các bệnh lý xuất huyết giảm tiểu cầu, sốt xuất huyết Dengue...

2.1.5. Nguyên nhân sai số

+ Lấy máu không quy trình kỹ thuật như máu bị đông dây, máu mao mạch bị pha loãng do dịch gian bào do bốt nặn nhiều...

+ Dụng cụ không đủ tiêu chuẩn như thiếu nguyên vẹn của dụng cụ, dụng cụ ướt, không sạch...

+ Dung dịch pha loãng cạn, bẩn, hết hạn sử dụng.

+ Dung dịch Rees- Ecker cũ, không được lọc trước khi sử dụng.

+ Kỹ thuật pha loãng không đúng: hút máu không đủ hoặc thừa, dung dịch pha loãng thiếu hoặc thừa...

+ Pha trộn không đều giữa máu và dung dịch pha loãng

+ Đếm sai, tính kết quả sai

2.2. Kỹ thuật đánh giá độ tập chung của tiểu cầu

- Nguyên tắc

- Quy trình kỹ thuật: phương pháp thủ công và máy tự động

- Giới hạn tham chiếu
- Nhận định kết quả

2.3. Thể tích trung bình tiểu cầu (MPV)

- Nguyên tắc
- Công thức tính
- Nhận định kết quả

2.4. Thể tích khối tiểu cầu (PCT)

- Nguyên tắc
- Công thức tính
- Nhận định kết quả

2.5. Độ phân bố kích thước tiểu cầu (PDW)

- Nguyên tắc
- Công thức tính
- Nhận định kết quả

LƯỢNG GIÁ

Lựa chọn câu trả lời đúng nhất

1. Tế bào nào sau đây là tế bào non nhất
 - A. Mẫu tiểu cầu ưa ba zơ
 - B. Nguyên mẫu tiểu cầu
 - C. Mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu
 - D. Mẫu tiểu cầu có hạt sinh tiểu cầu
2. Nguyên sinh chất của mẫu tiểu cầu ưa ba zơ có màu
 - A. Xám
 - B. Xanh xám
 - C. Xanh
 - D. Xanh pha hồng
3. Nguyên sinh chất của mẫu tiểu cầu có hạt có màu:
 - A. Ưa ba zơ
 - B. Ưa acid
 - C. Đa sắc
 - D. Trung tính
4. Bào tương có hạt là bào tương của:
 - A. Nguyên mẫu tiểu cầu
 - B. Mẫu tiểu cầu ưa ba zơ
 - C. Mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu

- D. A và B
5. Trung bình một nguyên mẫu tiểu cầu sinh ra được:
- A. 10 000 tiểu cầu
 - B. 1000 tiểu cầu
 - C. 3000- 5000 tiểu cầu
 - D. 100- 500 tiểu cầu
6. Thời gian trung bình từ nguyên mẫu tiểu cầu đến tiểu cầu là:
- A. 20 ngày
 - B. 5 ngày
 - C. 10 ngày
 - D. 30 ngày
7. Số lượng tiểu cầu trung bình ở người bình thường là:
- A. 150- 500 G/l
 - B. 500 – 1000 G/l
 - C. 50- 100 G/l
 - D. 5- 10 G/l
8. Phân bố tiểu cầu bình thường:
- A. 2/3 ở lách và 1/3 ở máu ngoại vi
 - B. Tất cả ở máu ngoại vi
 - C. 1/3 ở lách và 2/3 ở máu ngoại vi
 - D. Ở máu ngoại vi, một phần nhỏ ở các mô sinh máu
9. Màng tiểu cầu là một cấu trúc bao gồm:
- A. Lớp lipid kép
 - B. Lớp lipid kép và hệ thống ống, vi sợi
 - C. Lớp lipid kép và glycoprotein
 - D. Lớp lipid kép và hệ thống ống, hệ thống các kênh dẫn
10. GP Ib có vai trò:
- A. Gắn tiểu cầu với von Willebrand
 - B. Giúp tiểu cầu gắn với collagen
 - C. Giúp cho chức năng kết dính của tiểu cầu
 - D. A, B và C
11. GP IIb/ IIIa có vai trò:
- A. Giúp cho chức năng ngưng tập của tiểu cầu
 - B. Giúp cho chức năng dính của tiểu cầu
 - C. Gắn tiểu cầu với fibrinogen

- D. A và C
12. Hệ thống vi ống và vi sợi có vai trò:
- A. Là khung xương của tiểu cầu
 - B. Giúp tăng bề mặt của tiểu cầu
 - C. Tham gia hoạt động giả túc của tiểu cầu
 - D. A và C
13. Các hạt đặc và các hạt alpha của tiểu cầu có vai trò:
- A. Tăng độ dính của tiểu cầu
 - B. Tăng độ ngưng tập của tiểu cầu
 - C. A và B
14. Hệ thống ống dày đặc của tiểu cầu có vai trò:
- A. Kho dự trữ can xi của tiểu cầu
 - B. Tổng hợp men cyclooxygenase và prostaglandin tiểu cầu.
 - C. Phóng thích các hạt của tiểu cầu
 - D. A và B
15. Hệ thống các kênh mở của tiểu cầu có vai trò:
- A. Tăng diện tích bề mặt tiểu cầu
 - B. Phóng thích các hạt tiểu cầu
 - C. Giải phóng can xi của tiểu cầu
 - D. A và B
16. Các thành phần tham gia vào hiện tượng dính của tiểu cầu:
- A. Collagen, GP Ib, von Willebrand
 - B. Fibronectin, ion Ca, thrombospondin
 - C. Fibrinogen, ADP, ristocetin
 - D. A và B
17. Các thành phần tham gia vào hiện tượng ngưng tập tiểu cầu:
- A. Fibrinogen, ADP, ristocetin, GP IIb/IIIa
 - B. GP Ib, von Willebrand
 - C. Fibronectin
 - D. A và C
18. Các chức năng của tiểu cầu là;
- A. Chức năng dính
 - B. Chức năng ngưng tập
 - C. Chức năng phóng thích
 - D. A, B và C

19/ Yếu tố 3 của tiểu cầu có vai trò:

- A. Hoạt hóa yếu tố XII
- B. Tham gia hình thành phức hợp prothrombinase
- C. Tăng tốc độ hoạt hóa prothrombin
- D. A và C

20/ Vai trò của tiểu cầu trong đông cầm máu là:

- A. Tạo đỉnh cầm máu
- B. Phóng thích yếu tố 3 của tiểu cầu tham gia quá trình đông máu
- C. Co cục máu đông
- D. A, B và C

BÀI 4. KỸ THUẬT NHẬN ĐỊNH HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG TỦY XƯƠNG

MỤC TIÊU CỦA BÀI

*** Kiến thức**

- Mô tả được đặc điểm hình thể bình thường của các tế bào máu trong tủy xương.
- Trình bày được đặc điểm 1 số bất thường về số lượng và hình thái của các tế bào máu trong tủy xương.

*** Kỹ năng**

- Nhận định và phân tích được sự thay đổi về số lượng và hình thái của các tế bào máu trong tủy xương trên hình ảnh tiêu bản mẫu.

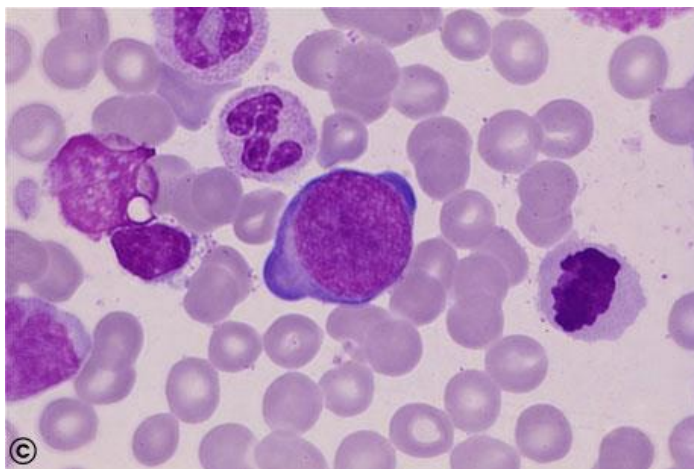
*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Đặc điểm hình thái dòng hồng cầu trong tủy xương

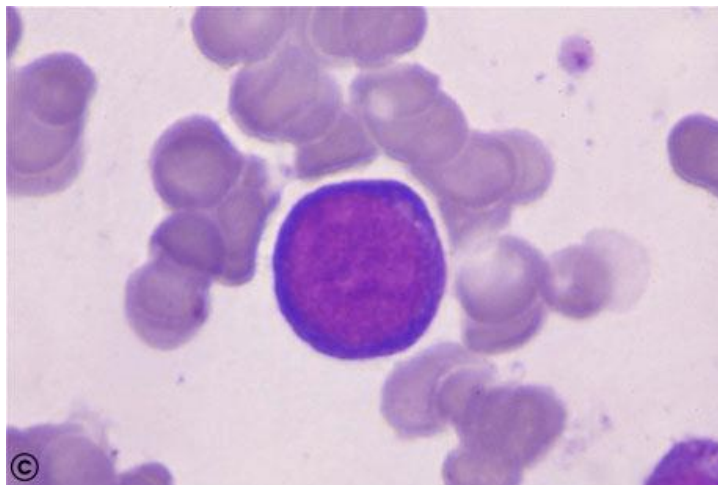
1.1. Nguyên tiền hồng cầu (proerythroblast): là tế bào sớm nhất của dòng hồng cầu, được phân chia từ CFE-U (đơn vị tạo cụm hồng cầu- nguyên bào máu), có đường kính 15-30 μm , hình tròn hoặc bầu dục, nhân chiếm 8/10 tế bào, lưới màu nhân thô, khối chất nhiễm sắc dày đặc, có 1- 2 hạt nhân, xung quanh nhân có thể có liềm sáng ngăn cách giữa nhân và nguyên sinh chất. Bào tương ưa base mạnh, bào tương không có hạt, có thể có 1- 2 giả túc. Tế bào này có khả năng phân bào mạnh. Trong tủy xương tế bào này chiếm khoảng 0- 0.5% tổng số tế bào tủy.



Hình 4.1. Nguyên tiền hồng cầu

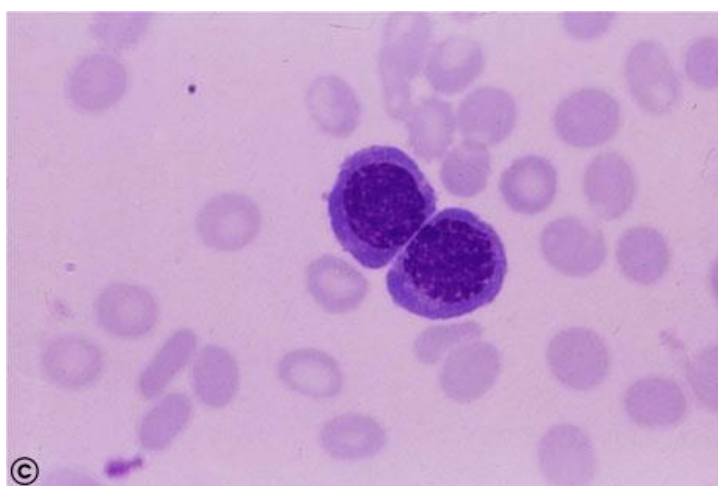
1.2. Nguyên hồng cầu ưa bazơ (basophilic erythroblast): Được phân chia từ nguyên tiền hồng cầu, kích thước nhân nhỏ hơn, khối nhiễm sắc dày và đặc, bắt

màu tím đỏ, nhân có đường nứt hình nan hoa xe đạp hay hình bàn cờ, không có hạt nhân. Nguyên sinh chất rất ưa baso, màu xanh da trời. Giai đoạn này tế bào phân chia rất mạnh, chiếm 1- 7% tế bào tủy.



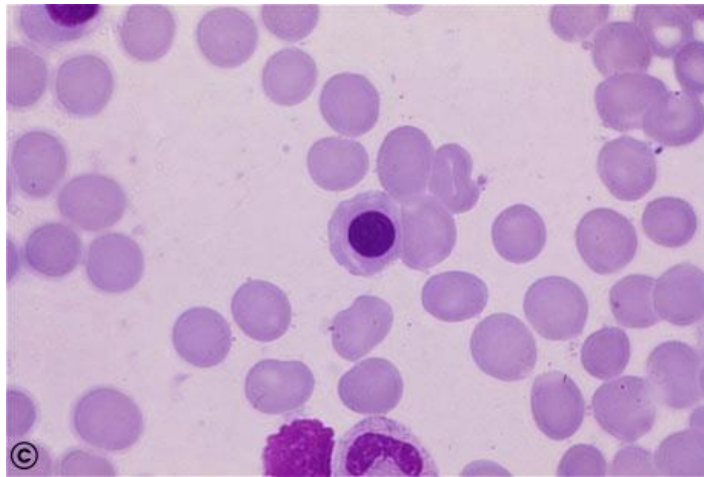
Hình 4.2. Nguyên hồng cầu ưa bazơ

1.3. Nguyên hồng cầu đa sắc (polychromatophilic erythroblast): Kích thước 9- 12 μm , không có khả năng phân chia, chỉ biệt hóa thành nguyên hồng cầu ưa acid và hồng cầu lưới. Bào tương có màu huyết sắc tổ pha trộn với màu ưa base. Nhân tế bào nhỏ dần, nằm ở trung tâm bào tương, lưới màu nhân bắt đầu đông vón lại tạo nên hình ảnh những "cục" đều đặn (khối chất nhuộm sắc rất thô). Chiếm 3- 14% tế bào tủy người bình thường.



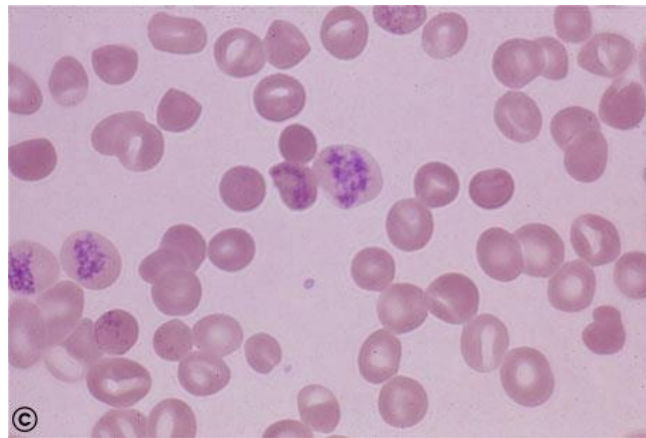
Hình 4.3. Nguyên hồng cầu đa sắc

1.4. Nguyên hồng cầu ưa acid (Acidophylic erythroblast): có đường kính 8- 9 μm . Nhân tròn nhỏ, lưới màu rất thô nằm ở chính giữa tế bào và bắt màu tím sẫm. Bào tương ưa base giảm, huyết sắc tố hình thành làm cho nguyên sinh chất có màu đỏ hồng gần giống màu của hồng cầu trưởng thành. Chiếm 10- 20% tế bào tủy.



Hình 4.4. Nguyên hồng cầu ưa acid

1.5. Hồng cầu lưới (Reticulocyte): Là hồng cầu đặc biệt chuyển từ hồng cầu có nhân thành hồng cầu trưởng thành không nhân, chỉ còn lại vết tích của nhân dưới dạng hạt hoặc lưới. Khi nhuộm xanh cresyl thấy giữa các lưới sợi có những hạt bắt màu xanh đen, còn gọi là hình hạt dây. Tế bào càng non hơn thì hạt lưới càng nhiều hơn. Trong máu ngoại vi bình thường có 0,5- 1 % và trong tủy có 1- 1,5%. Ở trẻ sơ sinh tỷ lệ này cao hơn. Số lượng hồng cầu lưới tăng nhiều hay ít tùy thuộc vào khả năng sinh máu của tủy xương. Trong trường hợp tan máu thì tỷ lệ này tăng cao.



Hình 4.5. Hồng cầu lưới

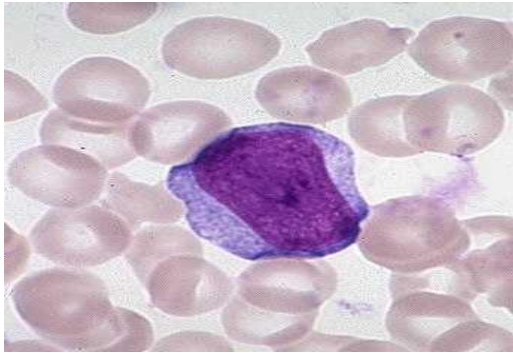
2. Đặc điểm hình thái dòng dòng bạch cầu

2.1. Hình thái bình thường của dòng bạch cầu hạt

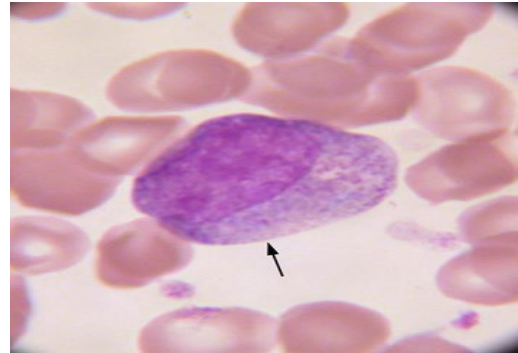
2.1.1. Nguyên tủy bào (Myeloblast): trong quá trình biệt hóa dòng bạch cầu hạt, đây là giai đoạn sớm nhất có thể xác định được dựa trên các đặc điểm hình thái. Các tế bào có đường kính trung bình từ 10-18 μm . Chất nhân mịn và đều với một đến vài hạt nhân nhạt màu. Bào tương hẹp, ưa bazơ và không có hạt. Que Auer – có dạng hình que bắt màu đỏ, bản chất là sự ngưng kết của các lysosome, có thể quan sát được trong các trường hợp bệnh lý.

2.1.2. Tiền tủy bào (Promyelocyte): là lứa tuổi biệt hóa thứ hai của dòng bạch cầu

hạt. Đặc điểm nổi bật của tiền tủy bào là hình ảnh các hạt bào tương dày đặc, đôi khi làm che lấp, lu mờ các đặc điểm hình thái khác của tế bào. Đó là những hạt nguyên phát, ưa azur và bản chất là các enzym myeloperoxidase và chloroacetate esterase. Về kích thước, tiền tủy bào lớn hơn nguyên tủy bào với đường kính trung bình khoảng 14 đến 20 μm và có tỷ lệ nhân và nguyên sinh chất thấp hơn. Chất nhân thô hơn, còn quan sát thấy hạt nhân và bào tương màu xanh xám nhạt.



Hình 4.6. Nguyên tủy bào



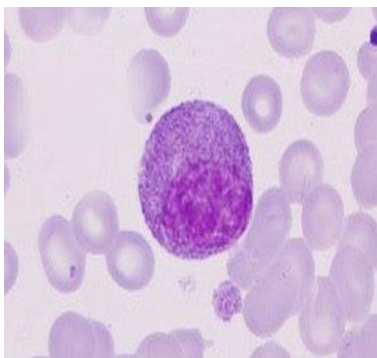
Hình 4.7. Tiền tủy bào

2.1.3. Tủy bào (myelocyte):

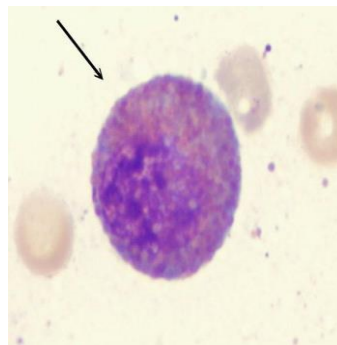
Đây là giai đoạn biệt hóa thứ ba của dòng bạch cầu hạt. Các tủy bào có thể dễ dàng nhận biết trên các tiêu bản vì trong bào tương có rất nhiều hạt thứ phát hay hạt đặc hiệu. Cũng từ giai đoạn này, dựa vào tính chất bắt màu thuốc nhuộm của các hạt bào tương để phân biệt các loại tủy bào trung tính, tủy bào ưa axit hay tủy bào ưa bazo.

Các tủy bào thường có đường kính trung bình khoảng 12 đến 18 μm . Tỷ lệ nhân so với nguyên sinh chất thấp hơn so với tiền tủy bào, nhân có dạng bầu dục rõ hơn, không còn thấy hạt nhân và chất màu nhân thô hơn.

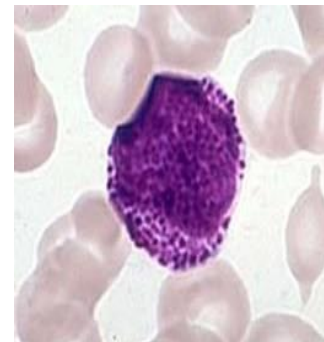
Các hạt trung tính khá mịn và bắt màu hồng nhạt trên tiêu bản nhuộm Wright. Các hạt ưa axit có kích thước lớn hơn hạt trung tính, hình tròn hoặc bầu dục, bắt màu vàng cam và chiết quang mạnh hơn. Các hạt ưa bazo bắt màu xanh đậm và phân bố dày đặc trong bào tương.



Hình 4.8. Tủy bào trung tính



Hình 4.9. Tủy bào ưa axit

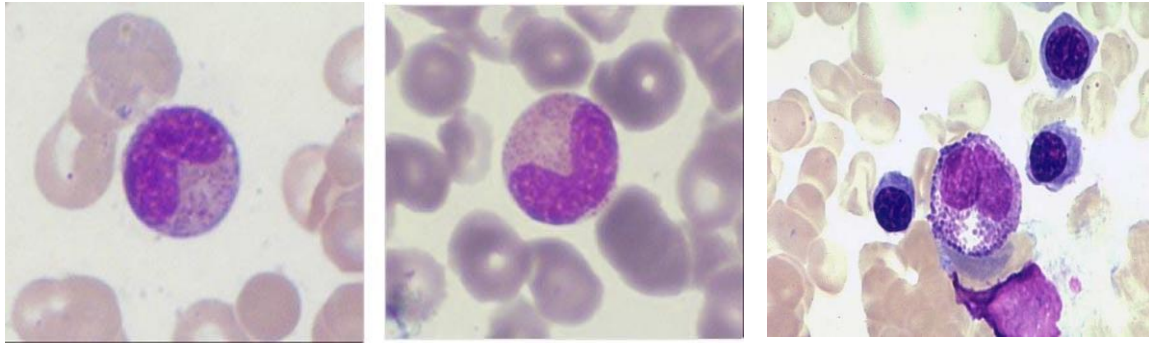


Hình 4.10. Tủy bào ưa

bazơ

2.1.4. Hậu tủy bào (metamyelocyte)

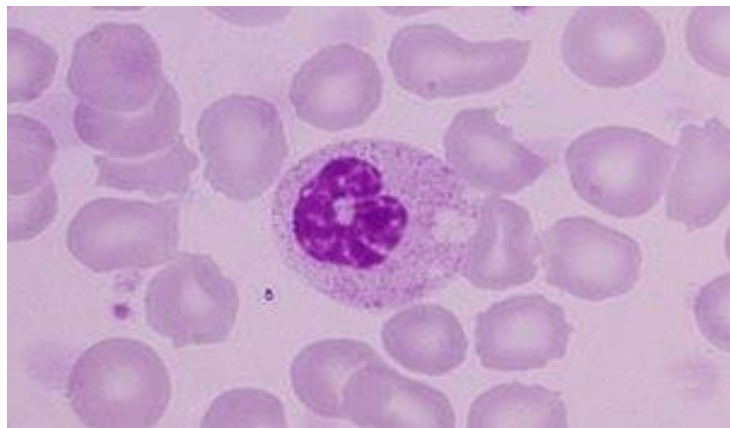
Là giai đoạn biệt hóa thứ tư của dòng bạch cầu hạt. Đặc trưng của các hậu tủy bào hình thái của nhân bắt đầu thắt lại và có dạng quả thận hoặc hình hạt đậu. Chất nhân thô hơn so với tủy bào. Màu của các hạt đặc hiệu trong bào tương trở nên khác biệt rất rõ ràng giữa màu trung tính, ưa acid hay ưa base.



H4.11. Hậu tủy bào trung tính H4.12. Hậu tủy bào ưa axit H 4.13. Hậu tủy bào ưa bazơ

2.1.5. Bạch cầu đĩa (Band hoặc Stab)

Đây là giai đoạn biệt hóa cuối cùng trước khi các tế bào trở nên thực sự trưởng thành thành bạch cầu hạt. Trong điều kiện bình thường, có một tỷ lệ nhỏ các bạch cầu đĩa cũng lưu hành trong máu. Về hình thái, các tế bào này có nhân kéo dài hình que, hình gậy...



Hình 4.14. Bạch cầu đĩa (stab)

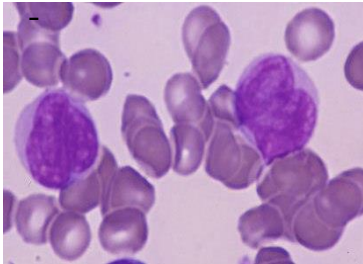
2.2. Dòng bạch cầu mono

Các nguyên bào mônô (monoblast), các tiền mônô (promonocyte) và mônô có nhiều hình dạng khác nhau. Tuy nhiên, chúng cũng có những đặc điểm riêng để nhận biết, như nhân hình tròn hoặc bầu dục, chất nhân thô, xốp, cuộn.

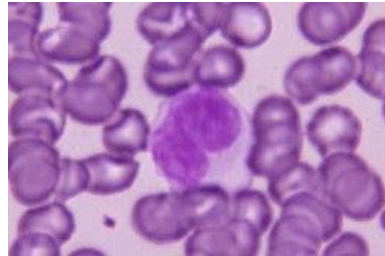
- Monoblast và promonocyte tương đối khó phân biệt, cùng có kích thước lớn

khoảng 12-18 μm , nhân lớn, chất nhân khá mịn, đôi khi có hạt nhân. Bào tương khá hẹp, ưa base.

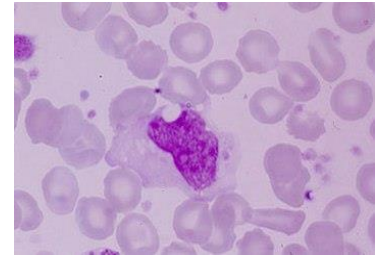
- Mônô có kích thước khá lớn, đường kính từ 10 đến 20 μm , đôi khi rất lớn (đến 50 μm). Nhân lớn, xốp, cuộn. Bào tương rộng, bắt màu xanh xám có chứa các hạt mịn màu đỏ cam, ranh giới không đều, đôi khi có một số giả túc, thường thấy các hốc bào tương.



Hình 4.15. Nguyên bào mônô



Hình 4.16. Tiền mônô



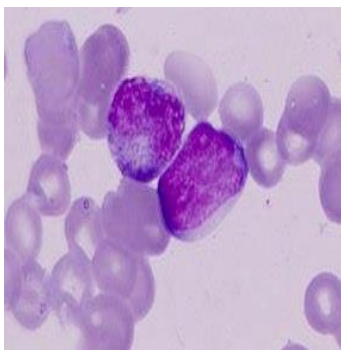
Hình 4.17. BC mônô

3. Dòng bạch cầu lympho

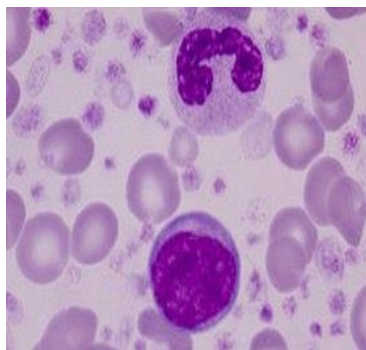
Các lymphô có vai trò quan trọng nhất trong hệ thống miễn dịch của cơ thể. Các loại tế bào lymphô được chia ra bao gồm: lymphô B và tương bào (plasmoxit) có chức năng sản xuất các kháng thể (Ig), lymphô T và tế bào diệt tự nhiên (NK: natural killer cell) có khả năng điều hòa, ức chế và diệt trực tiếp các tác nhân lạ.

- Nguyên bào lymphô: kích thước 15-20 μm , tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất là 4/1. Nhân tròn hoặc bầu dục, có thể có 1 đến 2 hạt nhân. Chất nhân mịn. Bào tương hẹp, ưa bazơ và không có hạt.

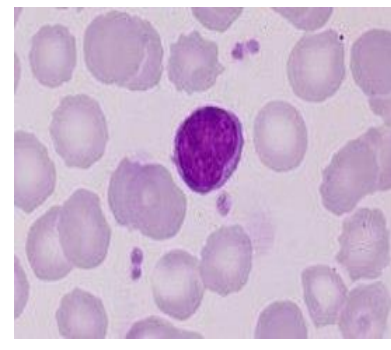
- Tiền lymphô: kích thước khá lớn, khoảng 15-18 μm , tỷ lệ nhân/nguyên sinh chất khoảng 4/1 đến 3/1. Nhân thường hình bầu dục, đôi khi có hạt nhân, chất nhân còn khá mịn. Bào tương hẹp, ưa bazơ nhẹ, và có vài hạt ưa azur.



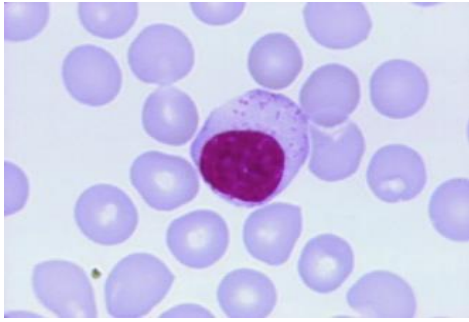
Hình 4.18. NB Lympho



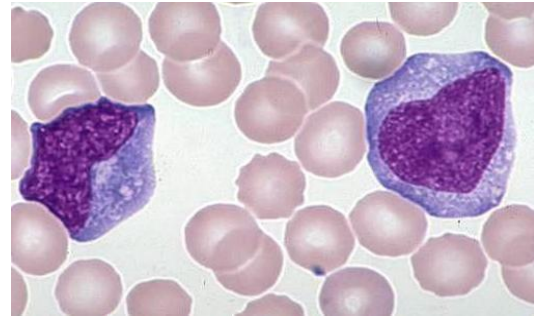
Hình 4.19. Tiền lymphô



Hình 4.20. Lymphô nhỏ



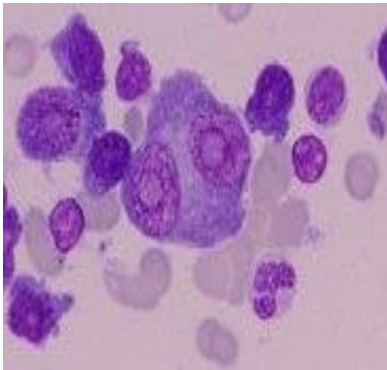
Hình 4.21. Lymphô lớn



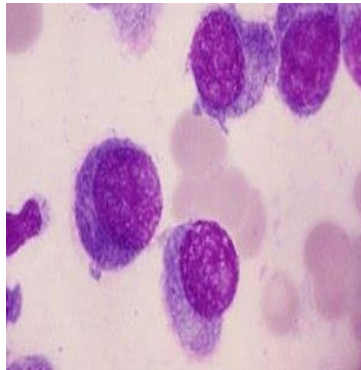
Hình 4.22. Lymphô kích thích

4. Dòng tương bào

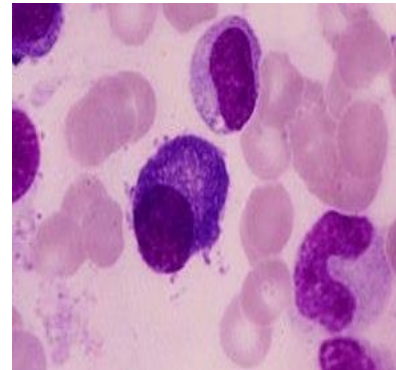
- Nguyên tương bào (plasmoblast): đường kính khoảng 14-18 μm , bào tương rất rộng, bắt màu xanh đậm. Nhân tròn, lệch hẳn về một phía, chất nhân thô, xếp từ trung tâm ra ngoài, có hạt nhân. Thường chỉ gặp trong bệnh đa u tủy xương hoặc lơ xê mi dòng tương bào.
- Tiền tương bào (proplasmocyte): đường kính khoảng 8-16 μm , bào tương rộng, màu xanh đậm. Nhân tròn nằm lệch và không có hạt nhân.
- Tương bào (plasmocyte): đường kính khoảng 6-10 μm , bào tương rất rộng, màu xanh đậm. Nhân rất tròn, nằm lệch về một phía. Chất nhân thô, xếp theo hình nan hoa. Bào tương có vùng sáng cạnh nhân do các thể Golgi hoạt động.



Hình 4.23. Nguyên tương bào



Hình 4.24. Tiền tương bào

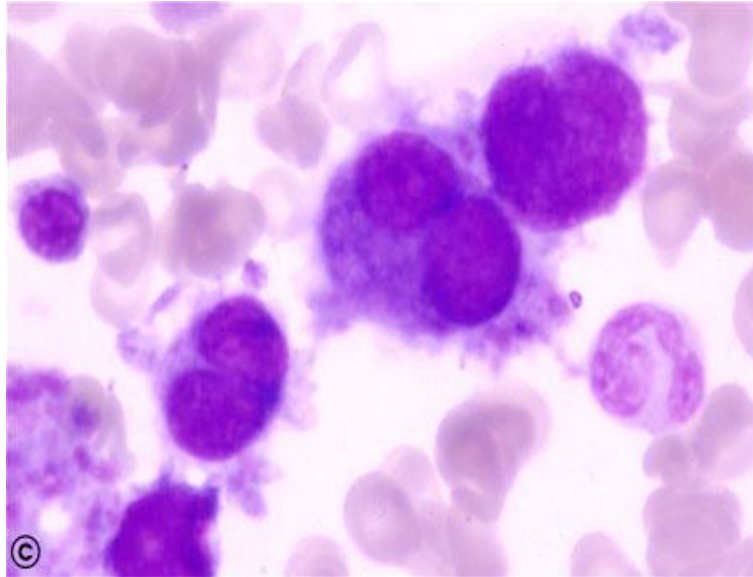


Hình 4.25. Tương bào

3. Đặc điểm hình thái dòng tiểu cầu

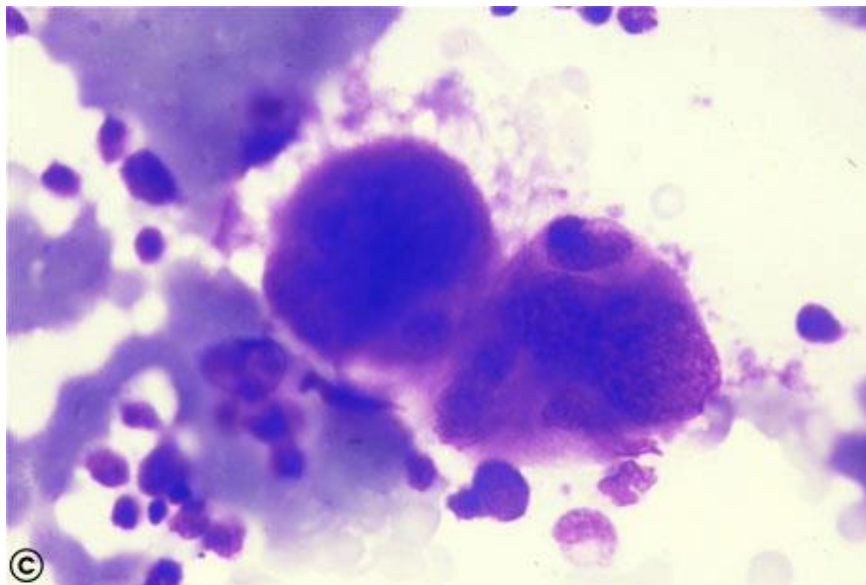
1.1. Giai đoạn mẫu tiểu cầu chưa có hạt

- 1.1.1. Nguyên mẫu tiểu cầu (Megakaryoblast):** chiếm khoảng 5% tổng số mẫu tiểu cầu trong tủy xương. Kích thước tế bào 20 - 50 μm , tỷ lệ nhân/ bào tương lớn hơn 1, lưới màu nhân thô, bào tương rất ưa ba zơ và không có hạt.



Hình 4.26. Nguyên mẫu tiểu cầu

1.1.2. Mẫu tiểu cầu ưa ba zơ: là tế bào thứ hai tiếp theo nguyên mẫu tiểu cầu. Kích thước tế bào to hơn nguyên mẫu tiểu cầu, chiếm khoảng 15% tổng số mẫu tiểu cầu trong tủy xương. Tỷ lệ nhân/ bào tương xấp xỉ 1. Bào tương ưa ba zơ nhẹ hơn nguyên mẫu tiểu cầu.

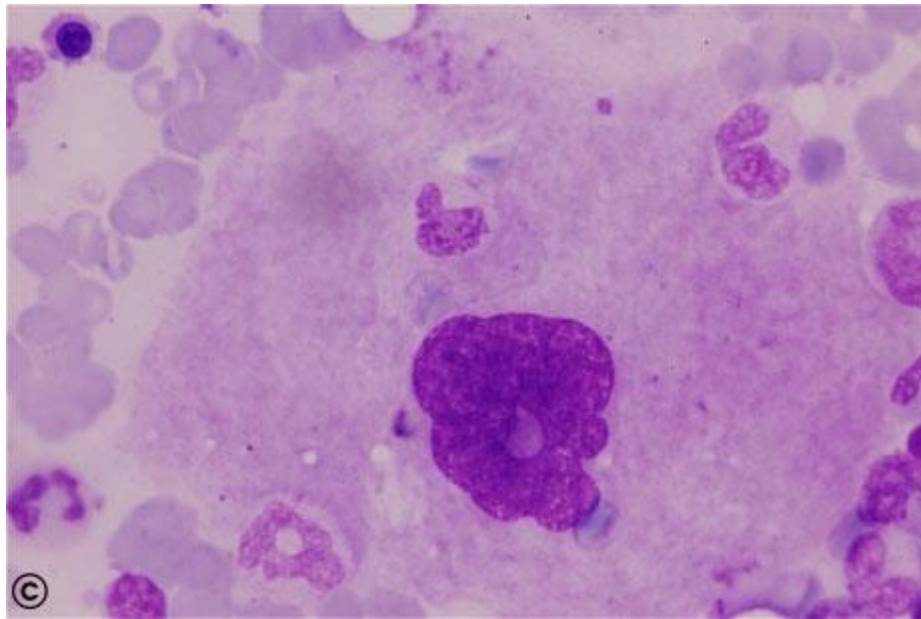


Hình 4.27: Mẫu tiểu cầu ưa ba zơ

1.2. Giai đoạn mẫu tiểu cầu có hạt

Bao gồm hai loại là mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu và mẫu tiểu cầu có hạt đang sinh tiểu cầu, chiếm khoảng 70-80% mẫu tiểu cầu.

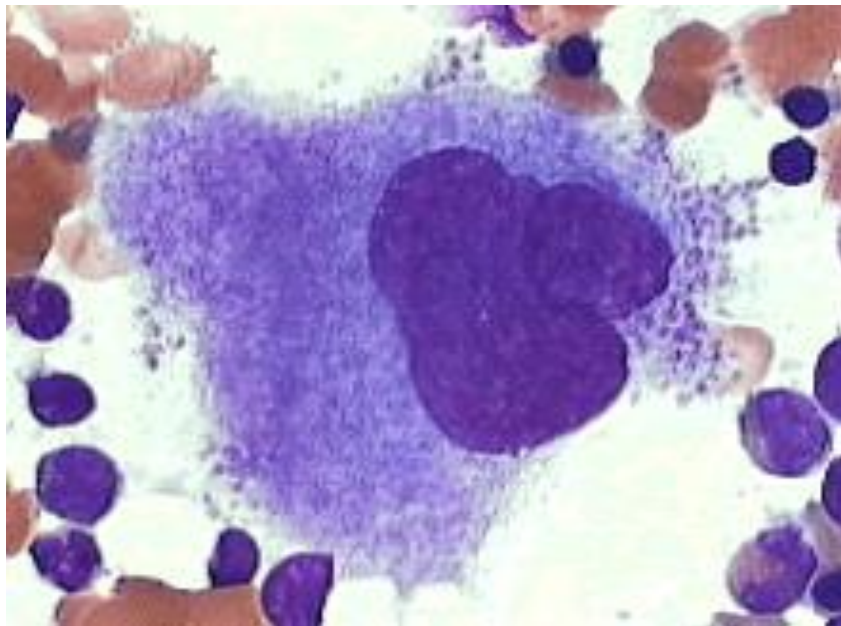
1.2.1. Mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu: có một nhân nhưng thường chia nhiều múi, thỉnh thoảng có gặp hạt nhân. Bào tương, bắt màu ưa acid trên tiêu bản nhuộm giemsa, có nhiều hạt màu tím. Màng bào tương còn nguyên vẹn.



Hình 4.28: Mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu

1.2.2. Mẫu tiểu cầu có hạt đang sinh tiểu cầu: chiếm tỷ lệ ít hơn mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu trên tiêu bản tủy đồ người bình thường vì sự phóng thích tiểu cầu xảy ra rất nhanh. Hình thái của loại mẫu tiểu cầu này giống như mẫu tiểu cầu có hạt chưa sinh tiểu cầu, nhưng màng bào tương không còn nguyên vẹn mà bị rách nhiều đoạn, qua đó tiểu cầu được phóng thích ra khỏi mẫu tiểu cầu. Sau khi phóng thích hết tiểu cầu, mẫu tiểu cầu chỉ còn lại một nhân trơ và nhân này sẽ bị thoái hoá rồi tiêu đi nhanh chóng.

Trung bình một mẫu tiểu cầu sẽ phóng thích ra khoảng 3000-4000 tiểu cầu.



Hình 4.29: Mẫu tiểu cầu có hạt đang sinh tiểu cầu

LƯỢNG GIÁ

1. Nhóm bạch cầu có chức năng thực bào bao gồm:

- A. Bạch cầu hạt và lymphô
 - B. Bạch cầu hạt và mônô.
 - C. Lymphô và mônô
 - D. Mônô và tương bào
2. Đặc điểm để phân biệt các loại bạch cầu hạt là:
- A. Kích thước tế bào
 - B. Hình thái nhân.
 - C. Kích thước của hạt bào tương
 - D. Màu của hạt bào tương.
3. Các giai đoạn biệt hóa của dòng bạch cầu hạt có trong tủy xương gồm
- A. Nguyên tủy bào, tiền tủy bào và tủy bào.
 - B. Nguyên tủy bào, tiền tủy bào, tủy bào và hậu tủy bào.
 - C. Nguyên tủy bào, tiền tủy bào, tủy bào, hậu tủy bào và bạch cầu đũa.
 - D. Nguyên tủy bào, tiền tủy bào, hậu tủy bào, bạch cầu đũa và bạch cầu hạt.
4. Trong khoang dự trữ-biệt hóa của tủy xương gồm các tuổi biệt hóa sau:
- A. Tủy bào và hậu tủy bào
 - B. Hậu tủy bào, bạch cầu đũa
 - C. Hậu tủy bào, bạch cầu đũa và bạch cầu hạt.
 - D. Hậu tủy bào, bạch cầu đũa, bạch cầu hạt và lymphô.
5. Quá trình giải phóng bạch cầu hạt từ tủy ra máu được khởi động bởi:
- A. Các yếu tố kích thích tạo máu
 - B. Interleukin
 - C. Interferon
 - D. Tất cả các yếu tố trên.
6. Các giai đoạn biệt hóa lần lượt của dòng bạch cầu hạt bao gồm:
- A. Tiền tủy bào, tủy bào, hậu tủy bào, bạch cầu đũa và bạch cầu hạt
 - B. Nguyên tủy bào, tủy bào, hậu tủy bào, bạch cầu đũa và bạch cầu hạt.
 - C. Nguyên tủy bào, tiền tủy bào, tủy bào, hậu tủy bào, bạch cầu đũa, bạch cầu hạt.
 - D. Tiền tủy bào, nguyên tủy bào, hậu tủy bào, tủy bào, bạch cầu đũa và bạch cầu hạt.
7. Chức năng bình thường chủ yếu của bạch cầu hạt là:
- A. Sản xuất kháng thể
 - B. Phá hủy các ký sinh trùng
 - C. Thực bào

- D. Ức chế quá trình viêm.
8. Nửa đời sống trung bình của bạch cầu hạt ở máu ngoại vi khoảng:
- A. 2,5 đến 5 giờ.
 - B. 7 đến 10 giờ.
 - C. Trên 24 giờ.
 - D. Vài ngày.
9. Tế bào nào có đặc điểm: đường kính trung bình 10-18 μm , chất nhân mịn, có hạt nhân, có thể có que Auer trong bào tương?
- A. Nguyên tủy bào
 - B. Tiền tủy bào
 - C. Tủy bào
 - D. Hậu tủy bào.
10. Tế bào nào có đặc điểm: đường kính trung bình 14-20 μm , các hạt nguyên phát dày đặc che phủ cả nhân tế bào?
- A. Nguyên tủy bào
 - B. Tiền tủy bào
 - C. Tủy bào
 - D. Hậu tủy bào.
11. Các hạt thứ phát (hạt đặc hiệu) có thể phân biệt được các loại hạt trung tính, acid, base sớm nhất ở giai đoạn biệt hóa nào của dòng bạch cầu hạt?
- A. Nguyên tủy bào
 - B. Tiền tủy bào
 - C. Tủy bào
 - D. Hậu tủy bào.
12. Các tuổi biệt hóa của tế bào dòng bạch cầu hạt trung tính có thể quan sát được ở máu ngoại vi trong điều kiện bình thường là:
- A. Chỉ các bạch cầu hạt trung tính
 - B. Bạch cầu hạt trung tính và bạch cầu đũa
 - C. Bạch cầu hạt trung tính, bạch cầu đũa và hậu tủy bào
 - D. Bạch cầu hạt trung tính, bạch cầu đũa, hậu tủy bào và tủy bào.
13. Các hạt đặc hiệu của bạch cầu hạt trung tính có chứa enzym:
- A. Hydrolase
 - B. Lysozyme
 - C. Myeloperoxidase
 - D. Tất cả các enzym trên.

14. Các hạt đặc hiệu của bạch cầu hạt ưa bazơ có chứa:
- A. Hydrolase
 - B. Lysozyme
 - C. Heparin và Histamine.
 - D. Tất cả các ý trên.
15. Tế bào bạch cầu có kích thước lớn nhất ở máu ngoại vi là:
- A. Bạch cầu hạt
 - B. Bạch cầu mônô
 - C. Bạch cầu lymphô
 - D. Tương bào
16. Giá trị bình thường của bạch cầu hạt trung tính ở máu ngoại vi là:
- A. 1,5 - 7,5 G/l
 - B. 4,5 - 10 G/l
 - C. 6,0 - 12 G/l
 - D. 10,0 - 15,0 G/l.
17. Tỷ lệ bình thường của bạch cầu mônô ở máu ngoại vi là:
- A. 0 - 2%
 - B. 1 - 7%
 - C. 1 - 10%
 - D. 2 - 10%
18. Hệ thống đại thực bào bao gồm các tế bào liên võng, có thể tìm thấy ở:
- A. Gan
 - B. Lách.
 - C. Hạch
 - D. Tất cả các ý trên.
19. Chức năng của bạch cầu mônô gồm:
- A. Thực bào
 - B. Tiết các cytokine
 - C. Tiết các Interleukin
 - D. Tất cả các chức năng trên
20. Thời gian biệt hóa trung bình của các tế bào dòng mônô là:
- A. 1,5 đến 2 ngày
 - B. 2 đến 2,5 ngày
 - C. 3 đến 3,5 ngày
 - D. 4 đến 5 ngày.

21. Trình trạng xuất hiện các tuổi chưa trưởng thành dòng bạch cầu hạt ở máu ngoại vi có thể gặp trong:
- A. Nhiễm trùng cấp tính
 - B. Nhiễm trùng mạn tính.
 - C. Bệnh máu ác tính
 - D. Tất cả các trường hợp trên
22. Bình thường, các bạch cầu hạt trung tính được dự trữ trong các khoang tủy khoảng :
- A. 12 giờ
 - B. 2,5 ngày
 - C. 4 đến 8 ngày
 - D. 7 đến 10 ngày
23. Các hạt nguyên phát ưa azur dày đặc, có khi che lấp cả nhân tế bào dòng bạch cầu hạt là đặc điểm nổi bật về hình thái của:
- A. Nguyên tủy bào
 - B. Tiền tủy bào
 - C. Tủy bào
 - D. Hậu tủy bào
24. Yếu tố ảnh hưởng làm tăng số lượng bạch cầu hạt ưa axit như:
- A. Chu kỳ kinh nguyệt
 - B. Hoạt động thể lực quá mức
 - C. Sang chấn tâm lý (stress)
 - D. Tất cả các yếu tố trên.
25. Tỷ lệ phần trăm bình thường của bạch cầu hạt ưa axit ở máu ngoại vi là:
- A. Từ 1 đến 7%
 - B. Từ 1 đến 10%
 - C. Từ 2 đến 7%
 - D. Từ 2 đến 10%
26. Nguyên nhân gây tăng số lượng bạch cầu hạt trung tính có thể là:
- A. Viêm hoặc nhiễm khuẩn
 - B. Do bông
 - C. Sau phẫu thuật
 - D. Tất cả các nguyên nhân trên.
27. Số lượng bạch cầu hạt ưa bazơ không tăng trong các trường hợp sau:
- A. Hoạt động thể lực quá mức

- B. Tăng mỡ máu
 - C. Lơ xê mi kinh dòng hạt
 - D. Viêm xoang mạn tính.
28. Tỷ lệ các lymphô T ở máu ngoại vi là:
- A. 20-40%
 - B. 40-60%
 - C. 60-80%
 - D. Trên 80 %
29. Đặc điểm về hình thái nào sau đây *không phải* của nguyên bào lymphô:
- A. Kích thước khá lớn, khoảng 15-20 μm
 - B. Nhân tròn hoặc bầu dục
 - C. Có hạt nhân
 - D. Có hạt ưa azur trong bào tương
30. Biến thể về hình thái của các lymphô có thể gồm các đặc điểm sau:
- A. Nhân lớn, có hạt nhân
 - B. Nhân chia thùy hoặc kéo dài
 - C. Bào tương có hốc, có hạt
 - D. Tất cả các đặc điểm trên.
31. Đời sống của lymphô B có thể kéo dài trong:
- A. Vài ngày
 - B. Vài tuần
 - C. Vài tháng
 - D. Vài năm
32. Trong đáp ứng miễn dịch, các lymphô B có chức năng:
- A. Thực bào
 - B. Trình diện kháng nguyên
 - C. Tiết kháng thể
 - D. Không có các chức năng trên
33. Trong đáp ứng miễn dịch, các tế bào diệt tự nhiên (NK) có chức năng:
- A. Thực bào
 - B. Trình diện kháng nguyên
 - C. Tiết kháng thể
 - D. Độc tế bào và diệt virus.
34. Tình trạng tăng số lượng tế bào lymphô thường gặp trong:
- A. Viêm không đặc hiệu

- B. Nhiễm virus
 - C. Điều trị corticoid
 - D. Do sang chấn tâm lý (stress).
35. Bất thường hình thái tế bào lymphô dạng hai nhân thường gặp do:
- A. Thiếu máu nặng
 - B. Nhiễm khuẩn mạn tính
 - C. Nhiễm virus
 - D. Cường giáp.
36. Đặc điểm hình thái nào sau đây *không phải* của nguyên tương bào:
- A. Kích thước lớn
 - B. Bào tương ưa base đậm
 - C. Nhân lệch về một phía
 - D. Không có hạt nhân
37. Đặc điểm hình thái nào sau đây *chỉ gặp* ở giai đoạn tương bào:
- A. Bào tương rộng
 - B. Bào tương ưa base đậm
 - C. Bào tương có vùng sáng cạnh nhân
 - D. Nhân lệch về một phía
38. Ở người lớn khỏe mạnh, các tế bào lymphô :
- A. Chiếm khoảng 25% tổng số bạch cầu ở máu, tương đương khoảng 2,5 G/l.
 - B. Chiếm khoảng 35% tổng số bạch cầu ở máu, tương đương khoảng 3,5 G/l. Không có hạt nhân.
 - C. Chiếm khoảng 35% tổng số bạch cầu ở máu, tương đương khoảng 2,5 G/l.
 - D. Chiếm khoảng 25% tổng số bạch cầu ở máu, tương đương khoảng 3,5 G/l.
39. Các tế bào lymphô T được trưởng thành tại:
- A. Tủy xương
 - B. Hạch lymphô
 - C. Tuyến ức
 - D. Hệ liên võng nội mô.
40. Số lượng bạch cầu mônô tăng trên 1 G/l kéo dài thường gặp trong:
- A. Nhiễm virus
 - B. Nhiễm ký sinh trùng

- C. Nhiễm vi khuẩn
- D. Bệnh tạo máu và ung thư.

BÀI 5. KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC TIỂU VÀ CÁC DỊCH

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

- Trình bày được các thành phần tế bào bình thường trong nước tiểu và các dịch của cơ thể.
- Trình bày được các tế bào bất thường trong nước tiểu và các dịch của cơ thể.
- Trình bày nguyên tắc, quy trình và nhận định kết quả tế bào trong nước tiểu và các dịch của cơ thể.

*** Kỹ năng**

- Nhận định và phân tích được kết quả bình thường hoặc bất thường về tế bào trong nước tiểu và các dịch của cơ thể trong tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

2.1. Nước tiểu

2.1.1. Tính chất chung của nước tiểu

2.1.2. Các thành phần tế bào bình thường của nước tiểu

- Tế bào

+ Hồng cầu

(Ít) : dưới 5 HC/ vi trường.

(+) : 5- 10 HC / vi trường.

(++) : 10 -20 HC / vi trường.

(+++): > 50 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.

+ Tế bào biểu mô niệu đạo: Tế bào to hình đa diện, nhân rõ.

+ Tế bào biểu mô bàng quang: Tế bào to bình vọt, nhân rõ.

+ Tế bào biểu mô thận: Tế bào to trung bình, hình bầu dục, nhân tròn rõ.

2.1.3. Các thành phần tế bào bất thường trong nước tiểu

- **Trichomonas**

Trong bệnh viêm âm đạo. Ký sinh trùng này có thể xâm nhập vào bàng quang rồi lẫn vào nước tiểu.

- **Trụ niệu**

Cấu tạo bởi chất nhầy, 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 hai loại trụ.

+ **Trụ không có tế bào**

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. Vì trụ tan trong nước nên hiếm gặp trong nước tiểu loãng.

Trụ sáp (trụ kéo): 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 nên tạo thành trụ sáp. Hiếm gặp

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 hoá, hoặc do mỡ trong máu bài tiết ra khi bệnh nhân tiểu ra lipid lắng đọng lại tạo thành. Thường gặp trong thận nhiễm mỡ.

+ **Trụ tế bào**

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 hoá 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 bạch cầu: do bạch cầu hạt thoái hoá tạo thành, thường đứt thành đoạn ngắn. Biểu hiện tình trạng viêm, nhiễm khuẩn, gặp trong viêm cầu thận.

Trụ hồng cầu còn gọi là trụ máu: Do hồng cầu kết tụ, bờ trụ thường lờ mờ không đều. Biểu hiện tình trạng chảy máu trong thận, trong viêm thận cấp tính, trong đợt tiến triển của viêm thận mạn tính.

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.

- Cận tinh thể

+ Sulfat calci: hình kim dài, hoa thị, không màu.

+ Calcium oxalat: Hình phong bì, hình tám góc, hình củ lạc thường rất nhỏ. Tan trong HCL. Nước tiểu hơi đục, cận lắng màu trắng. Nguyên nhân có thể do dùng nhiều thức ăn có oxalat, đái tháo đường, xơ gan, rối loạn thần kinh, sạn, sỏi thận.

+ Carbonat calci: Hình cầu, hình hạt không màu tan trong acid CH_3COOH 30% và cho bột.

+ Cận phosphat: Hình chữ nhật, lá dương xỉ, hình sao. Kích thước 30 – 50 μm . Không màu, chiết quang.

+ Amorphous urat (urat vô thể): thường là hạt màu đỏ gạch, bị hòa tan bởi sức nóng và tan trong NaOH đậm đặc. Xuất hiện ngay sau khi tiểu gặp trong sốt cao, suy tim, hay có sỏi urat.

+ Acid uric: Hình thoi, mũi giáo, hoa thị, hình ngôi sao, màu vàng hay nâu đến không màu. Gặp trong bệnh lý nặng của thận do phản ứng quá toan của nước tiểu.

+ Amonium urat: Hình cầu gai, xương rồng, hình bó kim, kích thước 20 μm , màu vàng. Tác dụng với HCl tạo thành acid uric.

+ Hippuric acid: Hình lăng trụ hay đĩa mỏng, không màu đến màu vàng. Tan trong CH_3COOH 30% và ether.

+ Calcium phosphat: Hình tam giác, hình hạt, góc nhọn, chụm thành hoa thị. Tan trong acid CH_3COOH 30%. Nước tiểu đục màu sữa có thể do mất nhiều chất điện giải và ở những người bị suy nhược thần kinh.

+ Tyrosin: Hình kim nhỏ, không màu, tan trong HCl. Hiếm gặp. Gặp trong suy dinh dưỡng, bệnh gan cấp tính, nôn nhiều do thai nghén.

+ Triple phosphate: Hình nắp quan tài, hình lăng trụ, hình lông chim, hình lá cây. tan trong HCl đậm đặc và CH_3COOH 30%.

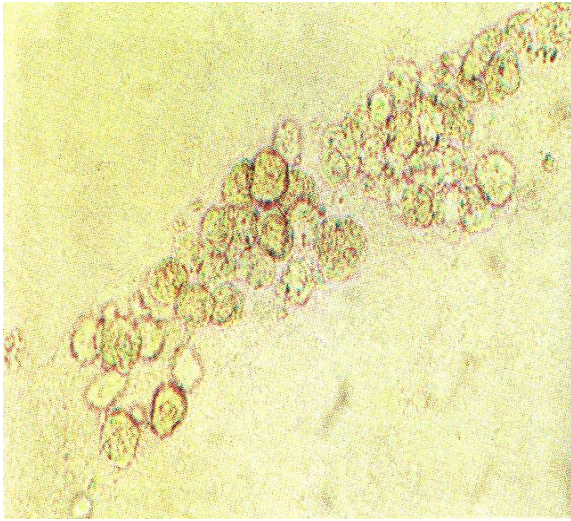
- Các tạp chất khác

+ Do lấy nước tiểu không đúng kỹ thuật.

+ Dụng cụ bẩn, tiêu bản bẩn.

+ Sợi chất nhầy.

+ Lông, sợi bông, bọt khí.



Hình 5.1. Trụ hồng cầu



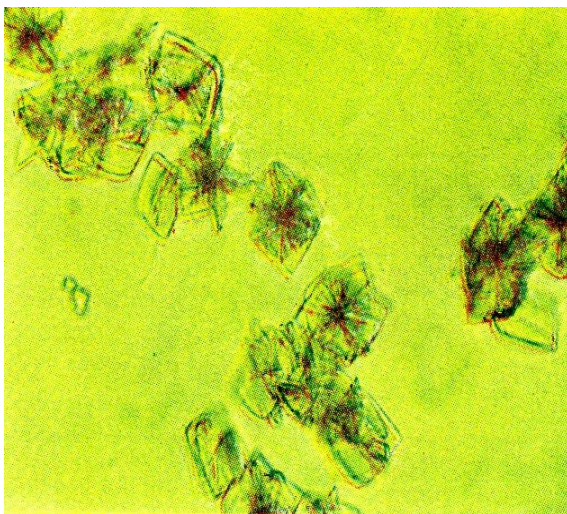
Hình 5.2. Tế bào bạch cầu, hồng cầu



Hình 5.3. Tế bào biểu mô thận



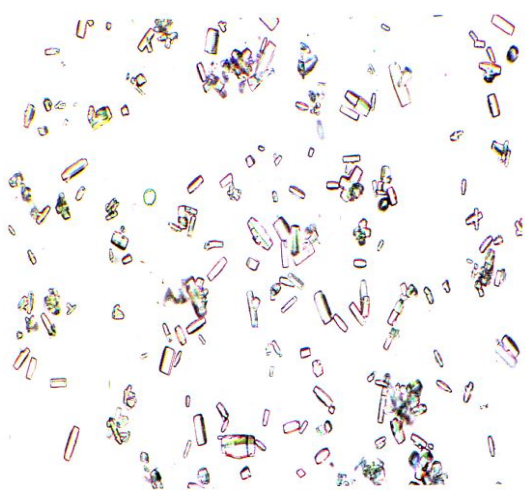
Hình 5.4. Trụ sáp



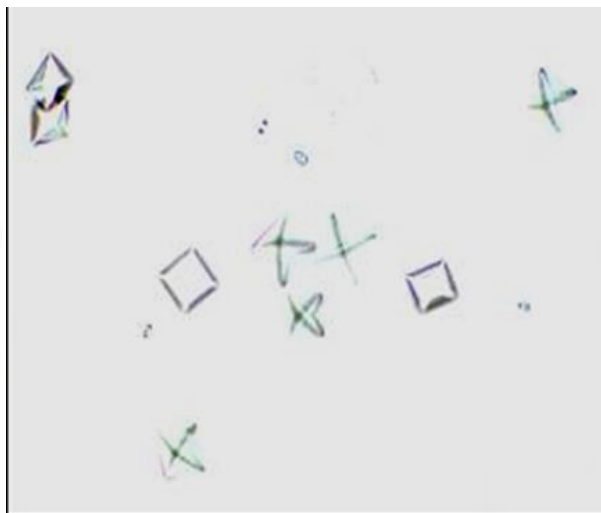
Hình 5.5. Acid uric



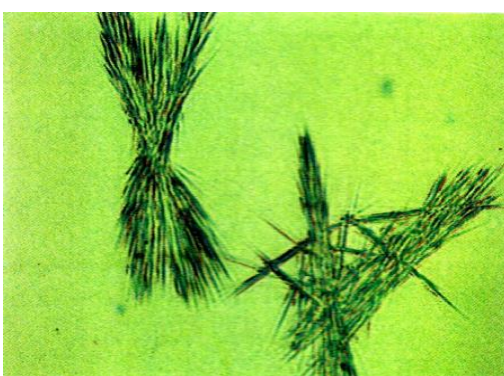
Hình 5.6. Amonium urat



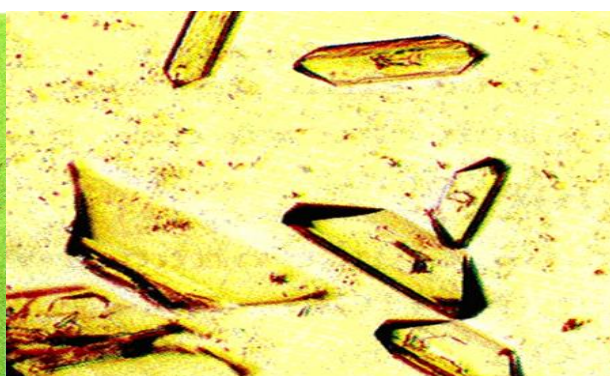
Hình 5.7. Hypuric acid



Hình 5.8. Calci oxalat



Hình 5.9. Tinh thể tyrosin



Hình 5.10. Triple phosphat

2.1.4. Kỹ thuật xét nghiệm tế bào trong nước tiểu

2.1.4.1. Nguyên tắc: Nước tiểu bình thường chỉ có một số tế bào biểu mô, tinh thể. khi thấy xuất hiện nhiều hồng cầu, bạch cầu, trụ cầu là bệnh lý.

2.1.4.3. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC TIỂU

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

2	Chuẩn bị dụng cụ	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, khăn lau kính, lam kính, lamên, pipet, ống nghiệm thủy tinh, máy ly tâm. Thùng rác thải y tế + Tranh mẫu hình thể cặn nước tiểu -Thuốc nhuộm Xanh metylen.
	Chuẩn bị hóa chất		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	Bệnh phẩm đạt yêu cầu và tránh nhầm lẫn	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm
5	<p>Ly tâm nước tiểu</p> <p>Lắc đều ống tiểu, cho vào ống nghiệm khoảng 5 ml, ly tâm 2000 vòng/ phút trong vòng tối thiểu 5 phút. Nếu không ly tâm thì để lắng 1-2 giờ.</p>	Lấy cặn nước tiểu	Cặn nước tiểu được lắng xuống đáy ống nghiệm.
6	<p>Làm tiêu bản</p> <p>Đổ phần trên, hút một giọt cặn, nhỏ lên lam kính. Đậy lamên</p>	Lấy được cặn để soi	Bệnh phẩm được dàn đều dưới lamên, không tràn ra ngoài lamên, không có bọt khí.

	lên bệnh phẩm lan đều dưới lamên.		
7	Đọc tiêu bản bằng vật kính x 10 hoặc x 40.	Quan sát được các hình thái bình thường và bất thường trong bệnh phẩm	- Kiểm tra khoảng 20 – 30 vi trường. Số vi trường không được ít hơn 10. - Nhận định được hình thái các tế bào có trong nước tiểu: hồng cầu, bạch cầu, các trụ, các cặn (nếu có)...
8	Nhận định kết quả	Kết quả chính xác	- Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	Đảm bảo an toàn sinh học	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay
10	Lưu kết quả	Lưu kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm

Lưu ý: Có thể nhuộm cặn lắng nước tiểu bằng thuốc nhuộm Sternheimer - malbin

2.1.4.4. Khảo sát dưới kính hiển vi quang học

2.1.4.5. Nhận định kết quả

2.2. Dịch

2.2.1. Tính chất chung của dịch

2.2.2. Các thành phần tế bào bình thường có trong dịch

2.2.3. Các thành phần tế bào bất thường có thể có trong dịch

2.2.4. Kỹ thuật xét nghiệm tế bào trong dịch

2.2.4.1. Nguyên tắc

2.2.4.2. Chuẩn bị

2.2.4.3. Quy trình kỹ thuật làm tiêu bản

2.2.4.4. Khảo sát dưới kính hiển vi quang học

2.2.4.5. Nhận định kết quả

LUỢNG GIÁ

Câu 1. Kể tên các tế bào, trụ có thể gặp trong nước tiểu?

Câu 2. Trình bày nguyên tắc của kỹ thuật xét nghiệm tìm tế bào trong nước tiểu?

BÀI 6. PHÂN TÍCH HUYẾT ĐỒ

MỤC TIÊU CỦA BÀI

*** Kiến thức**

- Trình bày nguyên tắc, tiến trình thực hiện kỹ thuật (các quy trình) và nhận định kết quả khảo sát của các dòng tế bào máu.
- Trình bày các nguyên nhân dẫn đến sai số khi thực hiện kỹ thuật.

*** Kỹ năng**

- Nhận định và giải thích được sự thay đổi khi khảo sát 3 dòng tế bào máu về số lượng và hình thái trong một số tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

21. Nguyên tắc

Nguyên tắc

Nhiều tình trạng sinh lý và bệnh lý của cơ thể được phản ánh qua số lượng, hình thái và thành phần các tế bào máu. Xét máu là sự tổng kết toàn bộ các biểu hiện đó nên giúp ích rất nhiều cho lâm sàng trong chẩn đoán bệnh lý.

Các thông số cần thiết gồm:

- Số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu.
- Hematocrit.
- Lượng huyết sắc tố.
- Tỷ lệ phần trăm hồng cầu lưới.
- Công thức bạch cầu, đặc điểm hình thái tế bào hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, độ tập trung tiểu cầu.
- Các chỉ số hồng cầu: MCV, MCH, MCHC.

2. Tiến trình thực hiện

- Kỹ thuật đếm số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu
- Kỹ thuật định lượng huyết sắc tố, đo thể tích khối hồng cầu
- Kỹ thuật làm tiêu bản giọt máu đàn để khảo sát hình thái 3 tế bào máu
- Kỹ thuật làm và nhuộm tiêu bản máu đếm số lượng hồng cầu lưới.
- Kỹ thuật đo tốc độ máu lắng
- Đối chiếu các thông số đo, đếm được với quan sát trực tiếp trên tiêu bản máu.

- So sánh các thông số với giá trị tham chiếu với giá trị của người khỏe mạnh, cần lưu ý với tuổi, giới của người bệnh.

2.3. Nhận định kết quả

2.3.1. Nhận xét dòng hồng cầu

- BN có thiếu máu không ? (Hb)
- Thiếu máu loại gì ? (MCV, MCH, MCHC)
- HC nhỏ (thiếu sắt, thalassemia, NT mãn tính,...)
- HC bình sắc (xuất huyết, suy tủy, bệnh thận,...)
- HC to (thiếu a.folic, B12, do thuốc,...)
- Độ phân tán hồng cầu?(RDW)
- Hình thái hồng cầu ? (HC đẳng sắc hay nhược sắc? có HC bia? HC nhân?,...)

2.3.2. Dòng bạch cầu:

- Số lượng bạch cầu: tăng? giảm?
- Công thức bạch cầu:
- Neutrophils hay Lymphocytes chiếm ưu thế ?
- Công thức BC chuyển trái? Có bạch cầu non ? Có khoảng trống BC?
- Tăng Eosinophil?
- Có Lymphocytes không điển hình?
- Có hạt độc, không bào, thể Döhle,...

2.3.3. Nhận xét dòng tiểu cầu

- Tiểu cầu: số lượng tăng, giảm hay bình thường ? Thể tích trung bình TC?

2.4. Một số lưu ý

- Thiết bị phân tích phải được hiệu chuẩn định kỳ và kiểm tra hàng ngày.
- Một số chỉ số do máy đếm trực tiếp bằng kỹ thuật điện trở kháng hay laser, các chỉ số còn lại là do thuật toán suy ra.
- Hiệu chỉnh số Bạch cầu khi có lẫn HC nhân.
- Biện luận kết quả luôn dựa vào trị số bình thường trẻ em theo lứa tuổi.
- Vai trò không thay thế được của nhà tế bào học.

2.5. Các bài tập tình huống

2.5.1. Dòng hồng cầu

Bài tập tình huống 1: Bệnh nhân nam 40 tuổi

Vào viện với lý do mệt mỏi, da xanh

Vào viện được chỉ định làm huyết đồ.

Kết quả như sau:

Các chỉ số	KQXN	Đơn vị
RBC	1,85	T/L
HGB	5,72	g/dL
HCT	16,8	%
MCV	89,9	fl
MCH	30,9	pg
MCHC	34,3	g/dL
RDW	17,5	%
Hồng cầu lưới	3	%
WBC	8,87	G/l
NEUT	1,9	G/l
	77,1	%
LYMPH	0,98	G/l
	11,1	%
MONO	0,7	G/l
	8,25	%
EOS	0,3	G/l
	3,17	%
BASO	0,03	G/l
	0,366	%
PLT	204	G/l
Tốc độ máu lắng	Sau 1 giờ: 8 mm	
	Sau 2 giờ: 12 mm	

Nhận xét huyết đồ trên?

Bài tập tình huống 2: Bệnh nhân nữ 52 tuổi

Vào viện với lý do mệt mỏi, da xanh

Vào viện được chỉ định làm huyết đồ.

Kết quả như sau:

Các chỉ số	KQXN	Đơn vị
RBC	2,85	T/L
HGB	8,72	g/dL
HCT	31,8	%
MCV	74,9	fl

MCH	30,9	pg
MCHC	29,3	g/dL
RDW	17,5	%
Hồng cầu lưới	2,5	%
WBC	8,87	G/l
NEUT	1,9	G/l
	77,1	%
LYMPH	0,98	G/l
	11,1	%
MONO	0,7	G/l
	8,25	%
EOS	0,3	G/l
	3,17	%
BASO	0,03	G/l
	0,366	%
PLT	204	G/l
Tốc độ máu lắng	Sau 1 giờ: 5 mm	
	Sau 2 giờ: 10 mm	

Nhận xét huyết đồ trên?

Bài tập tình huống 3: Bệnh nhân nữ 2 tuổi

Vào viện với lý do da xanh, niêm mạc nhợt, chậm lớn

Vào viện được chỉ định làm huyết đồ.

Kết quả như sau:

Các chỉ số	KQXN	Đơn vị
RBC	1,85	T/L
HGB	5,72	g/dL
HCT	16,8	%
MCV	73,5	fl
MCH	30,9	pg
MCHC	34,3	g/dL
RDW	17,5	%
Hồng cầu lưới	1,5	%
WBC	8,87	G/l
NEUT	1,9	G/l

	77,1	%
LYMPH	0,98	G/l
	11,1	%
MONO	0,7	G/l
	8,25	%
EOS	0,3	G/l
	3,17	%
BASO	0,03	G/l
	0,366	%
PLT	204	G/l
Tốc độ máu lắng	Sau 1 giờ: 8 mm	
	Sau 2 giờ: 12 mm	

Nhận xét huyết đồ trên?

2.5.2. Dòng bạch cầu

Bài tập tình huống 1: Bệnh nhân nữ 32 tuổi

Vào viện với lý do: sốt cao hai ngày nay có lúc sốt 40° kèm theo người bệnh có đau bụng vùng hạ sườn phải. Đại tiểu tiện bình thường.

Vào viện được chỉ định làm huyết đồ.

Kết quả như sau:

Các chỉ số	KQXN	Đơn vị
RBC	4,5	T/L
HGB	12,1	g/dL
HCT	35,4	%
MCV	78,7	fl
MCH	26,9	pg
MCHC	34,2	g/dL
RDW	14,6	%
Hồng cầu lưới	1	%
WBC	21,5	G/l
NEUT	19,6	G/l
	91,1	%
LYMPH	0,945	G/l
	4,39	%
MONO	0,951	G/l
	4,41	%

EOS	0,0	G/l
	0,0	%
BASO	0,0011	G/l
	0,051	%
PLT	183	G/l
Tốc độ máu lắng	Sau 1 giờ: 25 mm	
	Sau 2 giờ: 32 mm	

Nhận xét huyết đồ trên?

Bài tập tình huống 2: Bệnh nhân nữ 24 tuổi

Vào viện với lý do: sốt cao hai ngày nay có lúc sốt 40° kèm theo người bệnh có xuất hiện chảy máu chân răng.

Vào viện được chỉ định làm huyết đồ.

Kết quả như sau:

Các chỉ số	KQXN	Đơn vị
RBC	2,5	T/L
HGB	12,1	g/dL
HCT	35,4	%
MCV	78,7	fl
MCH	26,9	pg
MCHC	34,2	g/dL
RDW	14,6	%
Hồng cầu lưới	1	%
WBC	55,5	G/l
NEUT	66,6	G/l
	91,1	%
LYMPH	0,945	G/l
	4,39	%
MONO	0,951	G/l
	4,41	%
EOS	0,0	G/l
	0,0	%
BASO	0,0011	G/l
	0,051	%
PLT	183	G/l

Tốc độ máu lắng	Sau 1 giờ: 35 mm	
	Sau 2 giờ: 48 mm	

Nhận xét huyết đồ trên?

2.5.3. Dòng tiểu cầu.

Bài tập tình huống 1: Bệnh nhân nam 40 tuổi

Vào viện với lý do xuất huyết trên da

Vào viện được chỉ định làm huyết đồ.

Kết quả như sau:

Các chỉ số	KQXN	Đơn vị
RBC	4,73	T/L
HGB	13,8	g/dL
HCT	39,9	%
MCV	89,3	fl
MCH	29,1	pg
MCHC	34,6	g/dL
RDW	14,4	%
Hồng cầu lưới	3	%
WBC	5,86	G/l
NEUT	1,72	G/l
	29,4	%
LYMPH	3,63	G/l
	62	%
MONO	0,394	G/l
	6,72	%
EOS	0,068	G/l
	1,16	%
BASO	0,045	G/l
	0.0762	%
PLT	19	G/l
Tốc độ máu lắng	Sau 1 giờ: 8 mm	
	Sau 2 giờ: 12 mm	

Nhận xét huyết đồ trên?

LƯỢNG GIÁ

1. Liệt kê các chỉ số xét nghiệm của dòng hồng cầu và ý nghĩa của các chỉ số đó ?
2. Liệt kê các chỉ số xét nghiệm của dòng bạch cầu và ý nghĩa của các chỉ số đó ?

3. Liệt kê các chỉ số xét nghiệm của dòng tiểu cầu và ý nghĩa của các chỉ số đó ?

THỰC HÀNH

BÀI 7: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện đếm số lượng hồng cầu theo đúng quy trình kỹ thuật.
- Nhận định và giải thích được kết quả số lượng hồng cầu trong tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

* Dụng cụ: Đầy đủ và đúng yêu cầu

- + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamên khô sạch
- + Kính hiển vi quang học
- + Pipet, potain pha loãng hồng cầu

* Hóa chất:

- + Dung dịch pha loãng hồng cầu Macano trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.

* Mẫu bệnh phẩm

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

2. Các bước tiến hành

* Giới thiệu một số loại buồng đếm

Buồng đếm Neubauer

- + Gồm có 9 ô vuông lớn. Đếm hồng cầu ở ô vuông lớn trung tâm.
- + Ô vuông lớn trung tâm chia làm 25 ô trung bình. Đếm hồng cầu trong 5 ô: 4 ô ở 4 góc và 1 ô ở giữa.
- + Ô vuông trung bình chia làm 16 ô nhỏ.
- + Đếm lần lượt từng ô vuông trung bình.

- + Mỗi ô, đếm tất cả các tế bào nằm trong 10 ô vuông nhỏ.
- + Đếm từ trái qua phải, từ hàng đầu 4 ô nhỏ.
- + Rồi từ phải qua trái ở hàng kế tiếp và tiếp tục như thế.
- + Đối với tế bào nằm trên đường phân chia thì chỉ đếm tế bào nằm ở phía trên và bên trái. Không đếm những tế bào bên dưới và bên phải.
- + Ghi kết quả đếm được của từng ô, cộng lại kết quả 5 ô đếm.

Cách tính kết quả

- Tỷ lệ pha loãng: $0,5/100 = 1/200$
- Chiều sâu buồng đếm (h): $1/10\text{mm}$
- Diện tích đếm (s) của 5 khu vực $5/25 \text{ mm}^2$
- Thể tích 5 ô đếm được:

$$V = h \times s$$

$$= 1/10 \times 5/25 = 5/250 = 1/50 \text{ mm}^3$$

Gọi X là số hồng cầu đếm được trong $1/50 \text{ mm}^3$ máu, ta suy ra số hồng cầu đếm được trong mm^3 máu toàn phần là:

$$X \times 50 \times 200$$

$X \times 10.000 \text{ HC/ mm}^3 \text{ máu}$
--

Buồng đếm MALASSEZ

Đếm hồng cầu trong 4 ô của 4 góc:

- + 5 dãy ngang: $1/5 \text{ mm}$
- + 4 dãy dọc: $1/4 \text{ mm}$
- + Thể tích toàn phần: 1mm^3
- + Diện tích đếm được: $1/20 \times 4 = 4/20 = 1/5 \text{ mm}^2$
- + Chiều sâu buồng đếm: $1/5 \text{ mm}$
- + Thể tích hồng cầu đếm được /4 ô: $V = s \times h = 1/5 \times 1/5 = 1/25\text{mm}^3$
- + Hệ số pha loãng: $1/200$.
- + Gọi X là số hồng cầu đếm được trong 4 ô ($1/25 \text{ mm}^3$)
- + Ta suy ra được số hồng cầu đếm được trong 1mm^3 máu:

$X \times 5.000 \text{ HC/ mm}^3 \text{ máu}$

Buồng đếm THOMA

- + Đếm hồng cầu trong 5 ô vuông lớn.

- + Buồng đếm chia thành 16 ô vuông lớn (không kể đường viền).
- + 1 ô vuông lớn chia thành 16 ô vuông nhỏ.
- + Diện tích toàn buồng đếm là: 1mm^2
- + Diện tích 1 ô vuông nhỏ: $1/400\text{ mm}^2$ (cạnh $1/200\text{ mm}$ x $1/20\text{ mm}$).
- + Diện tích 1 ô vuông lớn: $1/400 \times 16 = 16/400 = 4/100\text{ mm}^2$.
- + Diện tích 5 ô vuông lớn đếm được $4/100 \times 5 = 20/100 = 1/5\text{ mm}^2$
- + Chiều cao buồng đếm : $1/10\text{mm}$.
- + Thể tích 5 ô vuông lớn đếm được : $V = 1/5 \times 1/10 = 1/50\text{ mm}^3$
- + Hệ số pha loãng: $1/200$.
- + Gọi X là số hồng cầu đếm được trong 5 ô vuông lớn.
- + Ta suy ra được số hồng cầu đếm được trong 1 mm^3 máu toàn phần.
 $X \times 50 \times 200$

*** Trị số bình thường**

- Trẻ sơ sinh : $5 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $6 \times 10^{12}/\text{L}$
- Trẻ em : $3,8 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $5,4 \times 10^{12}/\text{L}$
- Người lớn :
- + Nữ : $3,8 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $4,2 \times 10^{12}/\text{L}$
- + Nam : $4,2 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $5 \times 10^{12}/\text{L}$

3. Điều chỉnh

Trong trường hợp số lượng hồng cầu quá cao:

- Hút máu đến vạch số 0,3.
- Hút dung dịch pha loãng đến vạch 101.
- Hệ số pha loãng: $0,3/101 = 1/333$.

Trong trường hợp số lượng hồng cầu quá thấp:

- Hút máu đến vạch số 1.
- Hút dung dịch pha loãng đến vạch 101.
- Hệ số pha loãng: $1/100$.

4. Nguyên nhân sai lầm

- Buồng đếm bẩn hay có nước.
- Ống pipet ẩm, ướt, sứt mẻ.
- Dung dịch pha loãng nhiều cặn hay vẫn đục.
- Lấy máu không đúng quy cách, đông dây, máu mao mạch bị pha loãng bởi dịch gian bào do nặn bóp đầu ngón tay nhiều khi chích máu.
- Không trộn đều máu và dung dịch pha loãng, hút máu không đúng vạch, dung dịch pha loãng thiếu hoặc thừa.

- Dán lá kính không đúng cách.
- Đếm tế bào không đúng: đếm sai, đếm không đủ ô.
- Tính sai kết quả.
- Để mẫu bệnh phẩm trong phòng khô quá lâu. Dung dịch trong ống mẫu bệnh phẩm bay hơi làm giảm thể tích máu, máu cô đặc.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

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

7. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (mặc quần áo blu, đeo thẻ công tác, tóc gọn gàng, đội mũ, đeo khẩu trang, móng tay cắt ngắn, đi găng,)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamên khô sạch + Kính hiển vi quang học + Pipet, potain		
	Chuẩn bị hóa chất	- Dung dịch pha loãng hồng cầu Macano trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; còn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.		

3	Chuẩn bị bệnh phẩm Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và máu tĩnh mạch được chống đông bằng EDTA và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi XN < 2h. -Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên buồng đếm	Ghi đầy đủ thông tin trên buồng đếm: Họ tên/ mã số người bệnh		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất		
6	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	- Máu được hút liên tục đảm bảo không có bọt khí. Nhỏ đủ 3 - 4 giọt máu lên giữa lam kính		
7	Lấy máu từ lam kính vào potain	Máu được hút lên đúng vạch 0,5 của potain. Máu liên tục không đứt đoạn trong potain Ống potain được lau sạch máu phía ngoài		
8	Hút dung dịch Macano vào potain	Dung dịch Macano được hút đến vạch 111 để có độ pha loãng 200 lần		
9	Lắc trộn đều dung dịch pha loãng và máu	Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất.		
10	Lau buồng đếm và gắn lamên lên buồng đếm: - Dùng bông có thấm nước phết lên 2 bờ của buồng	Buồng đếm được lau sạch và khô bằng gạc. Lamên được gắn chặt lên 2 bờ buồng đếm		

	<p>đếm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Gắn lamên lên buồng đếm - Nghiêng buồng đếm để kiểm tra 			
11	<p>Nhỏ hỗn dịch trong potain vào buồng đếm:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Lắc trộn đều và loại bỏ 3-4 giọt dầu potain - Nhỏ lên cạnh bờ của lamên 	<ul style="list-style-type: none"> - Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất - 3- 4 giọt dầu potain được loại bỏ - Dung dịch được mao dẫn đều và kín hết buồng đếm. 		
12	<p>Xác định vị trí đếm số lượng hồng cầu:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Xác định đúng 5 ô lớn để đếm hồng cầu, tại 5 khu vực: trên trái, trên phải, dưới trái, dưới phải và ở giữa 	<p>Xác định đúng vị trí đếm số lượng hồng cầu trên buồng đếm bằng vật kính 10</p>		
13	<p>Đếm số lượng hồng cầu, xác định đúng tiêu chuẩn của các ô đếm:</p> <p>Đếm số lượng hồng cầu ở từng ô vuông nhỏ trong ô vuông lớn theo nguyên tắc chỉ đếm hồng cầu ở cạnh trên và trái</p> <ul style="list-style-type: none"> - Độ chênh số lượng hồng cầu của 5 ô vuông lớn không quá 10% (làm lại từ bước 6) 	<ul style="list-style-type: none"> - Số lượng hồng cầu được đếm chính xác ở tất cả các ô đã được xác định. Cho phép sai số <15% so với kết quả nhân viên y tế - Tiêu chuẩn các ô đếm được xác định đúng. 		
14	<p>Tính và nhận định kết quả</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Tính đúng số lượng hồng cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác 		

		sĩ khi cần		
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
16	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		
17	Ghi kết quả vào sổ lưu	Ghi kết quả đầy đủ, chính xác		

BÀI 8: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG BẠCH CẦU

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện đếm số lượng bạch cầu theo đúng quy trình kỹ thuật.
- Nhận định và giải thích được kết quả số lượng bạch cầu trong tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ:** Đầy đủ và đúng yêu cầu

- + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamén khô sạch
- + Kính hiển vi quang học
- + Pipet, potain pha loãng bạch cầu

*** Hóa chất:**

- + Dung dịch pha loãng bạch cầu Lazarus trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.

*** Mẫu bệnh phẩm**

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

2. Tiến hành theo quy trình

*** Giới thiệu các loại buồng đếm và cách sử dụng**

Buồng đếm Neubauer

- Đếm lần lượt từng ô vuông lớn.
- Mỗi ô đếm tất cả các tế bào nằm trong 16 ô nhỏ.
- Đếm từ trái qua phải bắt đầu từ hàng thứ nhất.
- Rồi từ phải qua trái ở hàng kế tiếp và tiếp tục như thế.

- Đối với tế bào nằm tiếp xúc với đường phân chia thì chỉ đếm tế bào nằm ở phía trên và bên trái. Không đếm tế bào nằm ở bên dưới và bên phải.

- Tỷ lệ pha loãng : $0,5/10 = 1/20$
- Chiều sâu buồng đếm: $1/10 \text{ mm}$
- Diện tích 1 ô vuông nhỏ: $1/400\text{mm}^2$
- Thể tích 1 ô vuông nhỏ: $1/4000\text{mm}^3$

Gọi X là số lượng bạch cầu đếm được trong 4 khu vực ($1/4000\text{mm}^3$) tương đương 1600 ô vuông nhỏ. Số lượng bạch cầu trong 1 ô nhỏ là: $X/1600$. Vậy số lượng bạch cầu trong 1mm^3 :

$$X/1600 \times 4000 \times 20 = X \times 50$$

$X \times 50 \text{ BC/ mm}^3 \text{ máu}$
--

Buồng đếm MALASSEZ

Đếm bạch cầu trong 1/2 buồng đếm tức là trong 5 dãy ngang 3,4,5 6,7.

- Thể tích buồng đếm là 1 mm^3 .
- Thể tích 5 dãy đếm được $1/2 \text{ mm}^3$.
- Gọi X là số bạch cầu đếm được trong 5 dãy ta có hệ số pha loãng là $1/20$.

$$X \times 2 \quad \text{BC/ } 1 \text{ mm}^3 \text{ máu pha loãng}$$

$$X \times 2 \times 20 \text{ BC/ mm}^3 \text{ máu nguyên}$$

$X \times 40 \text{ BC/ mm}^3 \text{ máu}$
--

Buồng đếm THOMA

Đếm bạch cầu trong toàn bộ buồng đếm gồm các dãy 1,2,3,4 kể cả những đường viền xung quanh và đường mép.

- Thể tích buồng đếm : $0,1 \text{ mm}^3 = 1/10 \text{ mm}^3$.
- Gọi X là số lần bạch cầu đếm được trong toàn bộ buồng đếm và với hệ số pha loãng là $1/20$.

Ta có : $X \times 10 \times 20$

$X \times 200 \text{ BC/ mm}^3 \text{ máu}$

*** Trị số bình thường**

- Trẻ sơ sinh: $9 \times 10^9 / \text{L}$ đến $30 \times 10^9 / \text{L}$
- Trẻ em: $6 \times 10^9 / \text{L}$ đến $14 \times 10^9 / \text{L}$
- Người lớn: $5 \times 10^9 / \text{L}$ đến $10 \times 10^9 / \text{L}$

3. Điều chỉnh

- trong trường hợp số bạch cầu quá cao như trong bệnh ung thư máu, phải pha

loãng với ống potain hồng cầu. Khi đó máu được hút lên đến vạch 1, hút dung dịch pha loãng 101. Hệ số pha loãng là 1/100.

- Nếu bạch cầu dưới $2.500/\text{mm}^3$ (trong suy tủy), hút máu đến vạch 1, hút dung dịch pha loãng vạch 11. Hệ số pha loãng là 1/10.

- Dung dịch pha loãng dùng để đếm bạch cầu làm tan tất cả các hồng cầu không nhân. Riêng hồng cầu có nhân không tan nên được đếm luôn trong khi đếm bạch cầu.

4. Nguyên nhân sai lầm

- Buồng đếm có bụi bẩn.
- Ống potain bẩn và bị mẻ đầu.
- Dung dịch pha loãng có cặn và vẩn đục.
- Lấy máu không đúng quy cách: máu bị đông hoặc máu mao quản bị pha loãng bởi dịch gian bào do nặn bóp nhiều khi lấy máu.
- Không trộn đều máu và dung dịch pha loãng.
- Hút máu không đúng vạch quy định.
- Dán lá kính không đúng quy cách, không khít.
- Đếm tế bào không đúng: đếm sai, đếm không đủ ô.
- Tính kết quả sai.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

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

7. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG BẠCH CẦU

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

2	Chuẩn bị dụng cụ	<ul style="list-style-type: none"> - Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamên khô sạch + Kính hiển vi quang học + Pipet, potain, thùng rác thải y tế 		
	Chuẩn bị hóa chất	<ul style="list-style-type: none"> - Dung dịch pha loãng bạch cầu Lazarus trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; còn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô. 		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên buồng đếm	Ghi đầy đủ thông tin trên buồng đếm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	<ul style="list-style-type: none"> - Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất 		

6	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	Nhỏ 3 giọt máu lên lam kính		
7	Hút máu vào potain pha trộn bạch cầu	Dùng potain bạch cầu hút máu lên đúng vạch 0,5. Cột máu liên tục không được đứt đoạn.		
8	Hút dung dịch Lazarus vào potain	Dung dịch Lazarus được hút đến vạch 11 để có độ pha loãng 20 lần		
9	Lắc trộn đều dung dịch Lazarus và máu	Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất.		
10	Lau buồng đếm và gắn lamên lên buồng đếm: - Dùng bông có thấm nước phết lên 2 bờ của buồng đếm - Gắn lamên lên buồng đếm - nghiêng buồng đếm để kiểm tra	Buồng đếm được lau sạch và khô bằng gạc. Lamên được gắn chặt lên 2 bờ buồng đếm		
11	Nhỏ hỗn dịch trong potain vào buồng đếm: - Lắc trộn đều và loại bỏ 3-4 giọt đầu potain - Nhỏ lên cạnh bờ của lamên	- Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất - 3-4 giọt đầu potain được loại bỏ - Dung dịch được mao dẫn đều và kín hết buồng đếm.		
12	Xác định vị trí đếm số lượng bạch cầu Xác định 4 ô lớn, tại 4 góc: Trên trái, trên phải, dưới	Xác định đúng vị trí đếm số lượng bạch cầu trên buồng đếm bằng vật kính 10		

	trái và dưới phải, để đếm bạch cầu Mỗi ô vuông lớn gồm 16 ô vuông nhỏ.			
13	Đếm số lượng bạch cầu, xác định đúng tiêu chuẩn của các ô đếm: Đếm số lượng bạch cầu ở từng ô vuông nhỏ trong ô vuông lớn theo nguyên tắc chỉ đếm bạch cầu ở cạnh trên và trái	- Số lượng bạch cầu được đếm chính xác ở tất cả các ô đã được xác định. Cho phép sai số <10% so với kết quả nhân viên y tế - Tiêu chuẩn các ô đếm được xác định đúng.		
14	Tính và nhận định kết quả	- Tính đúng số lượng bạch cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải; Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
16	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 9: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG TIỂU CẦU

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện đếm số lượng tiểu cầu theo đúng quy trình kỹ thuật.
- Nhận định và giải thích được kết quả số lượng tiểu cầu trong tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ: Đầy đủ và đúng yêu cầu**

- + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamên khô sạch
- + Kính hiển vi quang học
- + Pipet, potain pha loãng hồng cầu

*** Hóa chất:**

- + Dung dịch pha loãng tiểu cầu Marciano hoặc Rees- Ecker trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín, bông khô.

*** Mẫu bệnh phẩm**

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

2. Tiến hành theo quy trình

*** Giới thiệu một số loại buồng đếm**

Buồng đếm Neubauer

- + Gồm có 9 ô vuông lớn. Đếm hồng cầu ở ô vuông lớn trung tâm.
- + Ô vuông lớn trung tâm chia làm 25 ô trung bình. Đếm hồng cầu trong 5 ô: 4 ô ở 4 góc và 1 ô ở giữa.

- + Ô vuông trung bình chia làm 16 ô nhỏ.
- + Đếm lần lượt từng ô vuông trung bình.
- + Mỗi ô, đếm tất cả các tế bào nằm trong 10 ô vuông nhỏ.
- + Đếm từ trái qua phải, từ hàng đầu 4 ô nhỏ.
- + Rồi từ phải qua trái ở hàng kế tiếp và tiếp tục như thế.
- + Đối với tế bào nằm trên đường phân chia thì chỉ đếm tế bào nằm ở phía trên và bên trái. Không đếm những tế bào bên dưới và bên phải.
- + Ghi kết quả đếm được của từng ô, cộng lại kết quả 5 ô đếm.

Cách tính kết quả

- Tỷ lệ pha loãng: $0,5/100 = 1/200$
- Chiều sâu buồng đếm (h): $1/10\text{mm}$
- Diện tích đếm (s) của 5 khu vực $5/25 \text{ mm}^2$
- Thể tích 5 ô đếm được:

$$V = h \times s$$

$$= 1/10 \times 5/25 = 5/250 = 1/50 \text{ mm}^3$$

Gọi X là số hồng cầu đếm được trong $1/50 \text{ mm}^3$ máu, ta suy ra số hồng cầu đếm được trong mm^3 máu toàn phần là:

$$X \times 50 \times 200$$

$X \times 10.000 \text{ HC/ mm}^3 \text{ máu}$
--

Buồng đếm MALASSEZ

Đếm hồng cầu trong 4 ô của 4 góc:

- + 5 dãy ngang: $1/5 \text{ mm}$
- + 4 dãy dọc: $1/4 \text{ mm}$
- + Thể tích toàn phần: 1mm^3
- + Diện tích đếm được: $1/20 \times 4 = 4/20 = 1/5 \text{ mm}^2$
- + Chiều sâu buồng đếm: $1/5 \text{ mm}$
- + Thể tích hồng cầu đếm được /4 ô: $V = s \times h = 1/5 \times 1/5 = 1/25\text{mm}^3$
- + Hệ số pha loãng: $1/200$.
- + Gọi X là số hồng cầu đếm được trong 4 ô ($1/25 \text{ mm}^3$)
- + Ta suy ra được số hồng cầu đếm được trong 1mm^3 máu:

$X \times 5.000 \text{ HC/ mm}^3 \text{ máu}$

Buồng đếm THOMA

- + Đếm hồng cầu trong 5 ô vuông lớn.
- + Buồng đếm chia thành 16 ô vuông lớn (không kể đường viền).
- + 1 ô vuông lớn chia thành 16 ô vuông nhỏ.
- + Diện tích toàn buồng đếm là: 1mm^2
- + Diện tích 1 ô vuông nhỏ: $1/400\text{ mm}^2$ (cạnh $1/200\text{ mm}$ x $1/200\text{ mm}$).
- + Diện tích 1 ô vuông lớn: $1/400 \times 16 = 16/400 = 4/100\text{ mm}^2$.
- + Diện tích 5 ô vuông lớn đếm được $4/100 \times 5 = 20/100 = 1/5\text{ mm}^2$
- + Chiều cao buồng đếm : $1/10\text{mm}$.
- + Thể tích 5 ô vuông lớn đếm được : $V = 1/5 \times 1/10 = 1/50\text{ mm}^3$
- + Hệ số pha loãng: $1/200$.
- + Gọi X là số hồng cầu đếm được trong 5 ô vuông lớn.
- + Ta suy ra được số hồng cầu đếm được trong 1 mm^3 máu toàn phần.
 $X \times 50 \times 200$

*** Trị số bình thường**

- Trẻ sơ sinh : $5 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $6 \times 10^{12}/\text{L}$
- Trẻ em : $3,8 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $5,4 \times 10^{12}/\text{L}$
- Người lớn :

 - + Nữ : $3,8 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $4,2 \times 10^{12}/\text{L}$
 - + Nam : $4,2 \times 10^{12}/\text{L}$ đến $5 \times 10^{12}/\text{L}$

3. Điều chỉnh

Trong trường hợp số lượng hồng cầu quá cao:

- Hút máu đến vạch số 0,3.
- Hút dung dịch pha loãng đến vạch 101.
- Hệ số pha loãng: $0,3/101 = 1/333$.

Trong trường hợp số lượng hồng cầu quá thấp:

- Hút máu đến vạch số 1.
- Hút dung dịch pha loãng đến vạch 101.
- Hệ số pha loãng: $1/100$.

4. Nguyên nhân sai lầm

- Buồng đếm bẩn hay có nước.
- Ống pipet ẩm, ướt, sứt mẻ.
- Dung dịch pha loãng nhiều cặn hay vẩn đục.
- Lấy máu không đúng quy cách, đông dây, máu mao mạch bị pha loãng bởi dịch gian bào do nặn bóp đầu ngón tay nhiều khi chích máu.

- Không trộn đều máu và dung dịch pha loãng, hút máu không đúng vạch, dung dịch pha loãng thiếu hoặc thừa.
- Dán lá kính không đúng cách.
- Đếm tế bào không đúng: đếm sai, đếm không đủ ô.
- Tính sai kết quả.
- Để mẫu bệnh phẩm trong phòng khô quá lâu. Dung dịch trong ống mẫu bệnh phẩm bay hơi làm làm giảm thể tích máu, máu cô đặc.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

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

7. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG TIỂU CẦU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ buồng Neubauer, lam kính sạch, lamen khô sạch + Kính hiển vi quang học + Pipet, potain		
	Chuẩn bị hóa chất	- Dung dịch Macano hoặc dung dịch Rees- Ecker trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng đựng trong ống nghiệm 2ml; dung dịch nước muối sinh lý 0,9% trong không vẩn đục và còn hạn sử dụng; cồn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ		

		kín, bông khô.		
3	Chuẩn bị bệnh phẩm Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và máu tĩnh mạch được chống đông bằng EDTA và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi XN < 2h. - Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Máu không đông, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên buồng đếm	Ghi đầy đủ thông tin trên buồng đếm: Họ tên/ mã số người bệnh		
5	Tráng potain hồng cầu bằng dung dịch Rees-Ecker	Ống potain được hút đầy dung dịch Rees- Ecker, sau đó bơm hết ra để dung dịch Rees- Ecker được tráng đều mặt trong ống potain.		
6	Lắc đều ống bệnh phẩm	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất		
7	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	- Máu được hút liên tục đảm bảo không có bọt khí. Nhỏ đủ 3 - 4 giọt máu lên giữa lam kính		

8	Lấy máu từ lam kính vào potain	Máu được hút lên đúng vạch 0,5 của potain. Máu liên tục không đứt đoạn trong potain ống potain được lau sạch máu phía ngoài		
9	Hút dung dịch Rees-Ecker vào potain	Dung dịch Rees- Ecker được hút đến vạch 101 để có độ pha loãng 200 lần		
10	Lắc trộn đều dung dịch pha loãng và máu	Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất. Có thể lắc bằng tay hoặc dùng máy lắc.		
11	Lau buồng đếm và gắn lamên lên buồng đếm: - Dùng bông có thấm nước phết lên 2 bờ của buồng đếm - Gắn lamên lên buồng đếm - nghiêng buồng đếm để kiểm tra	Buồng đếm được lau sạch và khô bằng gạc. lamên được gắn chặt lên 2 bờ buồng đếm		
12	Nhỏ hỗn dịch trong potain vào buồng đếm: - Lắc trộn đều và loại bỏ 4-5 giọt dầu potain - nhỏ lên cạnh bờ của lamên	- Potain được lắc trộn đều và nhẹ nhàng theo chiều dọc đến khi dung dịch có màu đồng nhất - 4-5 giọt dầu potain được loại bỏ - Dung dịch được mao dẫn đều và kín hết buồng đếm.		
13	Buồng đếm trên mặt phẳng giúp tiểu cầu lắng và soi kính để xác định vị trí đếm số lượng tiểu cầu: - Xác định đúng ô lớn tại	-Tiểu cầu được để lắng trong buồng đếm 15 phút. Quan sát vị trí đếm tiểu cầu trên buồng đếm bằng vật kính 10		

	vùng trung tâm và đếm ở cả 2 vùng đếm.			
14	Đếm số lượng tiểu cầu, xác định đúng tiêu chuẩn của các ô đếm: Đếm số lượng tiểu cầu ở ô vuông lớn và đếm cả ở 2 vùng Nguyên tắc chỉ đếm hồng cầu ở cạnh trên và trái	- Chuyển sang vật kính 40 để đếm tiểu cầu. - Số lượng tiểu cầu được đếm chính xác ở tất cả các ô đã được xác định. Cho phép sai số <15% so với kết quả nhân viên y tế - Tiêu chuẩn các ô đếm được xác định đúng.		
15	Tính và nhận định kết quả	- Tính đúng số lượng tiểu cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
16	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
17	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 10: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐẾM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU LƯỚI

Mục tiêu

*** Kỹ năng**

- Thực hiện đếm hồng cầu lưới theo đúng quy trình kỹ thuật.
- Nhận định được kết quả số lượng hồng cầu lưới trong tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ:** Đầy đủ và đúng yêu cầu

- Lam kính, lam kéo.
- Ống nghiệm khô và sạch.
- Pipette Pasteur.
- Bình cách thủy hoặc tủ ấm 37⁰.
- Kính hiển vi quang học.

*** Hóa chất**

- Thuốc nhuộm Brilliant Cresyl Blue (BCB): Cách pha

+ Brilliant Cresyl Blue:	1g
+ Natri citrate (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O):	0,4g
+ NaCl 0,9%:	100ml
- Dung dịch BCB trong nước muối:	
+ Brilliant Cresyl Blue (BCB):	1g
+ Natri citrate 3,8%:	20ml
+ NaCl 0,9%:	80ml

*** Mẫu bệnh phẩm**

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

2. Tiến hành theo quy trình

* Tính kết quả

- Tỷ lệ phần trăm hồng cầu lưới

Thí dụ: Trong 1.000 hồng cầu -> có 5 hồng cầu lưới

Suy ra trong 100 hồng cầu -> có 0,5 hồng cầu lưới

Vậy tỷ lệ phần trăm hồng cầu lưới là 0,5%

- Số lượng hồng cầu lưới trong 1mm³ máu

Trên tiêu bản hồng cầu lưới có kích thước hơi lớn hơn hồng cầu trưởng thành (hồng cầu lưới 8-10μm, hồng cầu trưởng thành từ 7-8μm). Hồng cầu lưới bắt màu xanh lá cây nhạt, hạt và dây lưới (ARN) bắt màu xanh dương đậm.

Phải kết hợp với đếm số lượng hồng cầu có trong 1mm³ máu của bệnh nhân.

Thí dụ:

Trong 1.000 hồng cầu -> có 5 hồng cầu lưới.

Suy ra trong 4.000.000 hồng cầu -> có 20.000 hồng cầu lưới/ 1mm³ máu.

Vậy số lượng hồng cầu lưới là 20.000 hồng cầu lưới/ 1mm³ máu.

3. Trị số bình thường

* Người lớn:

- Tỷ lệ phần trăm: 0,5% - 2% hồng cầu lưới.

- Số lượng hồng cầu lưới tương đương: 25.000 - 75.000/ mm³ máu.

* Trẻ sơ sinh:

- Tỷ lệ phần trăm từ: 2% - 6%.

- Số lượng hồng cầu lưới tương đương: 100.000 - 300.000/ mm³ máu.

3. Biện luận

3.1. Hồng cầu lưới tăng: Tủy xương có khả năng đáp ứng tốt trước tình trạng thiếu hụt hồng cầu ở máu ngoại vi. Hồng cầu lưới tăng trong một số trường hợp:

- Giai đoạn đầu của bệnh thiếu máu.

- Mất máu:

+ Do xuất huyết: sau chấn thương, tai nạn, phẫu thuật,...

+ Do tán huyết: nhiễm ký sinh trùng sốt rét, nọc rắn hổ mang, miễn dịch...

- Tăng nhẹ ở phụ nữ sau chu kỳ kinh.

3.2. Hồng cầu lưới giảm hoặc không tăng: Khả năng đáp ứng của tủy xương kém trước tình trạng thiếu hụt hồng cầu ở máu ngoại vi. Hồng cầu lưới giảm trong những bệnh lý:

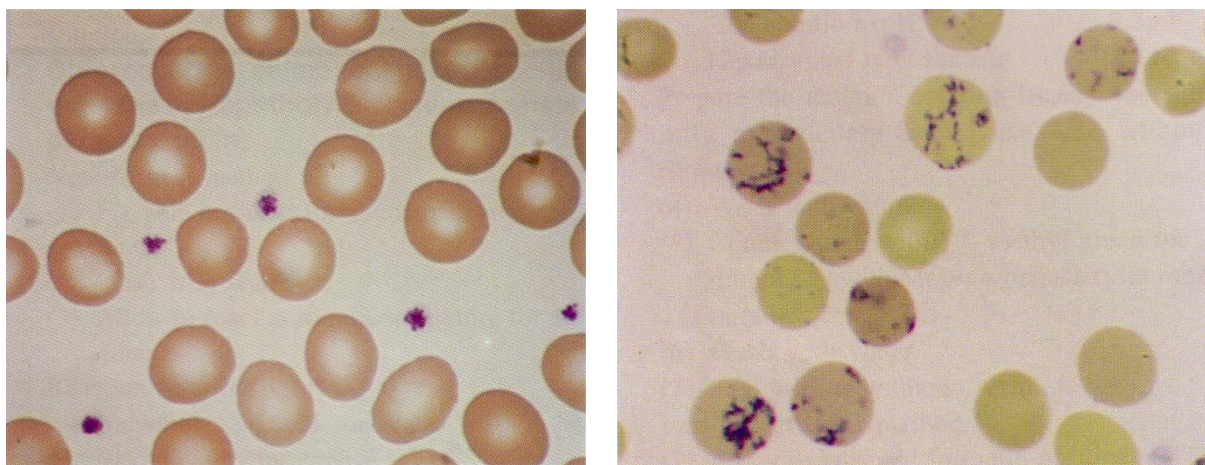
- Suy tủy.

- Rối loạn sinh tủy.

- Leukemia.
- Thiếu nguyên liệu tạo hồng cầu: Thiếu máu do thiếu sắt, thiếu vitamin B12, thiếu acid folic hay thiếu máu ác tính.
- Bệnh nhân điều trị hoá chất, tia xạ.

4. Nguyên nhân sai lầm

- Đọc nhầm cặn thuốc nhuộm với các mảnh ARN trên hồng cầu lưới. Do đó nên lọc kỹ thuốc nhuộm trước khi dùng.
- Cần chú ý phân biệt hồng cầu lưới với hồng cầu có thể Heinz, vì thể Heinz cũng bắt màu xanh cresyl nhưng nhạt hơn, kích thước to và thường nằm ở rìa hồng cầu.
- Lắc không đều khi lấy máu để ủ làm tiêu bản.



A

B

Hình 10.1:

A: Hồng cầu trưởng thành bình thường, màu hồng nhạt, kích cỡ đều nhau.

B: Hình ảnh hồng cầu lưới khi nhuộm xanh cresyl

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

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

7. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐEM SỐ LƯỢNG HỒNG CẦU LƯỚI BẰNG KHV

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không

				đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, bình ủ 37°C + Lam kính, lam kéo, pipets sạch khô, ống nghiệm thủy tinh khô sạch.		
	Chuẩn bị hóa chất	+ Bông thấm nước, bông không thấm nước, thùng rác thải y tế - Thuốc nhuộm xanh cresyl hoặc xanh metylen blue bảo quản trong lọ màu, còn hạn sử dụng, còn sát khuẩn đựng trong lọ kín. + Dầu soi kính		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm thủy tinh	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất		
6	Nhỏ máu của người bệnh ống nghiệm thủy	Dùng pipet hút 2 giọt máu của người bệnh vào ống nghiệm thủy		

	tinh	tinh đã chuẩn bị		
7	Nhỏ dung dịch thuốc nhuộm Xanh cresyl hoặc Xanhmetylen vào ống nghiệm.	Dùng pipet hút 2 giọt dung dịch thuốc nhuộm Xanh cresyl hoặc Xanhmetylen vào ống nghiệm đã có máu người bệnh		
8	Nhuộm màu tế bào máu: lắc trộn đều bằng cách lắc tròn ống nghiệm 8-10 lần. Đặt vào bình ủ 37 ⁰ C trong vòng 20-30 phút	Lắc trộn đều cho đến khi máu và thuốc nhuộm có màu xanh đồng nhất. Đặt vào bình ủ 37 ⁰ C đủ thời gian		
9	Kéo tiêu bản giọt đàn Giọt máu được hút bằng pipet có kích thước 2-3μl, nhỏ lên lam kính sạch ở 1/3 trên của lam kính. Dùng lam kéo dàn mỏng giọt máu để có được tiêu bản giọt đàn - Để khô	Giọt máu có chiều dài 2,5- 3 cm, máu dàn đều từ đầu đến cuối giọt máu, không vấp, không xước. Giọt máu được để khô ở nhiệt độ phòng.		
10	Soi kính hiển vi quan sát hình thể hồng cầu lưới bằng kính hiển vi vật kính x 100: Nhỏ đầu soi và quan sát hình thể của hồng cầu lưới	Hồng cầu lưới có kích thước 8-10μm và thấy rõ hạt hoặc mạng lưới sợi bắt màu xanh.		
11	Đếm số lượng hồng cầu lưới	- Số lượng hồng cầu lưới được đếm chính xác trong 1000 hồng cầu. Cho phép sai số <10% so với kết quả nhân viên y tế		
12	Tính số lượng hồng cầu lưới và nhận định kết	- Tính đúng số lượng hồng cầu lưới của mẫu xét nghiệm theo công thức		

	quả	ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
14	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 11: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG HUYẾT SẮC TỎ

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện kỹ thuật định lượng huyết sắc tố theo đúng quy trình.
- Nhận định và giải thích được kết quả kỹ thuật định lượng huyết sắc tố trong một số tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ: Đầy đủ và đúng yêu cầu**

- Bộ huyết sắc kế Sahli gồm:

+ Hộp so màu (tỷ sắc kế).

+ Ống nghiệm định lượng có khắc số (chỉ sử dụng số ở mặt có ghi đơn vị từ 2- 4 g%).

+ Pipette Sahli.

+ Đũa thủy tinh.

*** Hóa chất**

- Dung dịch HCl 0,1N (bảo quản không quá một tháng).

- Nước cất.

*** Mẫu bệnh phẩm**

+ Phiếu yêu cầu xét nghiệm và máu tĩnh mạch được chống đông bằng EDTA và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi XN < 2h.

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

+ Máu không đông, huyết tương không có màu hồng.

2. Tiến hành theo quy trình

3. Trị số bình thường

Nam: $\geq 130\text{g/l}$

Nữ : - Không có thai $\geq 120\text{g/l}$

- Có thai $\geq 130\text{g/l}$

* **Biện luận**

- Cần lưu ý những mẫu máu có số lượng bạch cầu cao, khi định lượng huyết sắc tố bằng phương pháp Sahli kết quả sẽ tăng so với giá trị thực. Mẫu máu có số lượng bạch cầu $>100 \times 10^9/\text{L}$ sẽ làm cho acid hematin đục hơn và tăng kết quả nồng độ huyết sắc tố từ 5% - 10%.

- Kỹ thuật định lượng huyết sắc tố bằng phương pháp Sahli là kỹ thuật so màu bằng mắt thường, kết quả sẽ bị sai số từ 15 - 20%.

4. Nguyên nhân sai lầm

- Pipette hoặc ống nghiệm định lượng nhiễm bẩn.
- Mẫu thủy tinh của tỷ sắc kế không đúng chuẩn.
- Dung dịch HCl để quá lâu hoặc không pha đúng nồng độ 0,1 N.
- Không lắc đều ống máu.
- Lấy máu không chính xác.
- Giỏ nước cất quá nhanh, sau 2- 3 giọt mới khuấy, hoặc khuấy không đều.
- Làm nổi bọt trong ống nghiệm.
- Đọc kết quả sai, đọc kết quả vội vã hoặc không đủ điều kiện ánh sáng.

5. Các bước cần lưu ý

6. Tổ chức thực hiện

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

7. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG HUYẾT SẮC TỐ

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Bộ huyết sắc tố Sahli, bông thấm nước, gạc khô sạch, lam kính khô sạch.		

	Chuẩn bị hóa chất	+ Thùng rác y tế - Dung dịch HCl 0,1N còn hạn sử dụng, không vẩn đục, đựng trong lọ thủy tinh có nút mài; còn sát khuẩn 70°C đựng trong lọ kín.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên nghiệm thủy tinh	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất		
6	Nhỏ máu lên lam kính: Dùng pipet hút máu trong ống nghiệm và nhỏ lên lam kính.	- Máu được hút bằng pipets và nhỏ lên lam kính 3 - 4 giọt.		
7	Cho HCl 0,1 N vào ống nghiệm: Dùng bằng pipet thủy tinh khô sạch hút HCl 0,1 N cho vào ống nghiệm Sahli.	Dung dịch HCl 0,1 N được hút liên tục không có bọt khí và được cho vào ống nghiệm Sahli đến vạch 2g%		
8	Hút máu cho vào ống nghiệm Sahli: Dùng pipet Sahli hút máu đến vạch 0,02 ml. Cho máu vào ống nghiệm định lượng	Máu được hút liên tục không đứt đoạn. Lau sạch máu dính ngoài pipette cho máu vào ống nghiệm định lượng có sẵn HCl 0,1 N		

	có sẵn HCl 0,1 N			
9	Tráng pipet Sahli bằng dung dịch HCl	Pipette được tráng 3 lần bằng dung dịch HCl 0,1 N phía trên ống nghiệm và trộn đều, sạch ống nghiệm và không có bọt khí trong ống nghiệm.		
10	Cho ống nghiệm vào hộp so màu	Ống nghiệm được đặt vào hộp so màu để đủ 10 phút.		
11	Pha loãng acid hematin và so sánh màu trong ống nghiệm với huyết sắc kế	Acid hematin được pha loãng bằng nước cất và nhỏ nước cất từ từ vào trộn đều, so màu cho đến khi trùng màu với ống chuẩn.		
12	Đọc và nhận định kết quả	<ul style="list-style-type: none"> - Tính được lượng huyết sắc tố của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần 		
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay 		
14	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 12: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐO THỂ TÍCH KHỐI HỒNG CẦU

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được kỹ thuật đo thể tích khối hồng cầu bằng phương pháp vi lượng đúng quy trình.
- Nhận định và giải thích được kết quả thể tích khối hồng cầu trong tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ: Đầy đủ và đúng yêu cầu**

- Dụng cụ lấy máu mao quản hay tĩnh mạch.
- Ống vi thể tích loại có tráng heparin hay loại thường.
- Máy ly tâm vi thể tích.
- Đất sét hay chất matis.
- Thước đo kết quả kèm theo máy.

*** Mẫu bệnh phẩm**

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

2. Tiến hành theo quy trình

3. Trị số bình thường

Nam: 40% - 54% hay 0.4 L/L - 0.54 L/L

Nữ: 37%- 47% hay 0.37 L/L - 0.47 L/L

4. Biện luận

4.1. Thể tích khối hồng cầu tăng trong các trường hợp

- Đa hồng cầu.

- Mất nước, mất huyết tương.
- Hồng cầu ứ nước.

4.2. Thể tích khối hồng cầu giảm trong các trường hợp

- Thiếu máu suy dinh dưỡng.
- Suy tủy.
- Loxêmi.

* **Ưu điểm:** đơn giản, thời gian nhanh, lượng máu sử dụng ít.

5. Nguyên nhân sai lầm

- Ống vi thể tích bị gãy, vỡ. Tốt nhất là luôn luôn thực hiện hai ống vi thể tích cho mỗi bệnh nhân để phòng khi ly tâm bị vỡ.
- Thước đo và thể tích không đạt tiêu chuẩn.
- Máy ly tâm vi thể tích chưa được điều chỉnh vận tốc và thời gian phù hợp.
- Máy cồng để lâu (quá 6 giờ) kết quả sẽ không chính xác do bị tiêu huyết hoặc huyết tương bay hơi.
- Lắc máu không đều trước khi mao dẫn.
- Đọc kết quả không chính xác:
 - + Nhận nhầm ống máu.
 - + Đọc nhầm mức lắng đọng của hồng cầu.
- Sau khi ly tâm, nếu không đọc kết quả ngay thì phải đặt các ống vi thể tích ở tư thế thẳng đứng. Nếu để các ống vi thể tích nằm ngang trong máy ly tâm quá 30 phút, lớp tế bào sẽ bị nghiêng đi.

6. Các bước cần lưu ý

7. Tổ chức thực hiện

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

8. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỂ TÍCH KHỐI HỒNG CẦU

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

2	Chuẩn bị dụng cụ và vật tư tiêu hao	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Bảng vi thể tích, ống vi thể tích có chống đông hoặc không có chống đông. + Bông thấm nước, gạc sạch, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín, đất sét hoặc matis. + Thùng rác thải y tế 		
3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	<p>Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần.</p> <p>- Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất</p>		
6	Lấy máu vào ống vi thể tích	Máu được mao dẫn vào 3/4 chiều dài của ống vi thể tích, máu được mao dẫn liên tục và không bị đứt đoạn. Máu không được đông dây		
7	Lau máu ở ngoài ống vi thể tích	Máu được lau sạch ở đầu ống vi thể tích bằng gạc sạch.		
8	Bịt 1 đầu của ống vi thể tích	Ống vi thể tích được bịt kín 1 đầu bằng matis hay đất sét, bịt ở đầu đầu không lấy máu		
9	Ly tâm 10.000v/phút x 5 phút	Các tế bào máu và huyết tương được tách thành 2 lớp rõ rệt		
10	Tính và nhận định kết	Đọc chiều cao của cột tế bào máu so		

	quả	với cột huyết tương bằng bảng vi thể tích - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần.		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
12	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 13: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐO TỐC ĐỘ MÁU LẮNG

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện được kỹ thuật đo tốc độ máu lắng bằng phương pháp Pachenkop theo đúng quy trình.

- Nhận định và giải thích được kết quả máu lắng trong tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

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

- Biểu lộ tác phong cẩn thận, tỉ mỉ, chính xác, trung thực trong khi thực hiện xét nghiệm.

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

Theo phương pháp Pachenkop

- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu

+ Ống Panchenkov khô sạch, giá cài ống Panchenkov, ống nghiệm thủy tinh sạch.

+ Bông thấm nước, gạc, đồng hồ bấm giờ

+ Thùng rác y tế

* Hóa chất

Dung dịch Natricitrat 3,8%, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín.

* Mẫu bệnh phẩm

+ Phiếu yêu cầu xét nghiệm và máu tĩnh mạch được chống đông bằng EDTA và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi XN < 2h.

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

+ Máu không đông, huyết tương không có màu hồng.

2. Tiến hành theo quy trình

* Trị số bình thường

Phương pháp	Pachenkow	
	1 giờ	2 giờ
Nam giới	1 - 10 mm	7 - 15 mm
Nữ giới	2 - 13 mm	12 - 17mm

* Biện luận

- Tốc độ máu lắng là một xét nghiệm không đặc hiệu, nó thay đổi tăng hoặc giảm trong nhiều nguyên nhân sinh lý cũng như bệnh lý. Do đó, đây không phải là một xét nghiệm có giá trị chẩn đoán bệnh nhưng rất có ý nghĩa trong việc theo dõi diễn tiến một số bệnh.

Tốc độ máu lắng tăng trong bất kỳ bệnh nào có phản ứng viêm hay mô bị thoái hóa, sinh mủ, hoại tử.

Giá trị lớn nhất của tốc độ máu lắng là dùng nó như một bằng chứng hiển nhiên biểu thị sự thuyên giảm hay phát triển của một số diễn tiến bệnh lý.

Tốc độ máu lắng được ứng dụng một cách hữu hiệu trong theo dõi điều trị lao, thấp khớp, nhiễm trùng mạn tính. Khi tốc độ máu lắng tăng biểu hiện bệnh đang tiến triển và ngược lại.

- Bình thường, tốc độ máu lắng ở nữ cao hơn nam. Trong thời kỳ mang thai, tốc độ máu lắng tăng dần trong ba tháng đầu và trở lại bình thường sau khi sinh.

3. Nguyên nhân sai lầm

- Ống lắng bẩn, ướt, sứt mẻ.
- Kháng đông nhiều so với tỷ lệ máu.
- Tỷ lệ pha loãng thiếu chính xác.
- Lắc trộn máu không đều.
- Máu để quá lâu. Tốc độ lắng máu nên thực hiện trong vòng 2 giờ đầu sau khi lấy máu, càng để lâu tốc độ lắng máu càng tăng.
- Lấy máu không đủ đến vạch số không.
- Nhiệt độ thích hợp là 20 - 27⁰ C. Nếu tiến hành xét nghiệm ở nơi có nhiệt độ cao, tốc độ lắng máu sẽ tăng.
- Ống lắng đựng trên giá bị nghiêng, sẽ làm tốc độ lắng máu tăng.
- Trong ống lắng có bọt không khí.
- Đọc kết quả không đúng mức hồng cầu lắng hoặc không đúng thời gian.

4. Các bước cần lưu ý

5. Tổ chức thực hiện

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

6. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐO TỐC ĐỘ MÁU LẮNG

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	ĐÁNH GIÁ	
			Đạt	Không

				đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Ống Panchenkov khô sạch, giá cài ống Panchenkov, ống nghiệm thủy tinh sạch. + Bông thấm nước, gạc, đồng hồ bấm giờ + Thùng rác y tế		
	Chuẩn bị hóa chất	- Dung dịch Natricitrat 3,8%, còn sát khuẩn đựng trong lọ kín.		
3	Kiểm tra bệnh phẩm - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm	Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. Máu chống đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm		
5	Lắc đều ống bệnh phẩm	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần. - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất		
6	Tráng ống Pachenkov bằng dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% đến vạch K (0)	Dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% được tráng đều khắp ống Pachenkov.		

7	Lấy dung dịch chống đông Natricitrat 3,8% đến vạch P (50)	Dung dịch Natricitrat 3,8% được hút liên tục, không đứt đoạn và được cho vào ống nghiệm.		
8	Lấy máu cho vào ống nghiệm đến vạch K(0) và lắc trộn đều.	Máu được mao dẫn liên tục đến vạch K(0) 2 lần bằng ống Pachenkov và cho vào ống nghiệm đã có sẵn Natricitrat 3,8%. Lắc đều máu và chất chống đông theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần, cho đến khi máu và chất chống đông được trộn đều thành hỗn dịch có màu đỏ đồng nhất		
9	Mao dẫn hỗn dịch máu ở trên vào ống Pachenkov.	Hỗn dịch máu được mao dẫn vào ống Pachenkov đến vạch K(0), hỗn dịch máu và chất chống đông liên tục, không đứt đoạn.		
10	Lên giá Pachenkov	Lau máu dính ngoài thành ống. Dựng ống Pachenkov trên giá ở tư thế thẳng đứng.		
11	Đọc và nhận định kết quả	- Kết quả được đọc là chiều cao của cột huyết tương sau 1 giờ và sau 2 giờ và nhận xét kết quả - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
12	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng. Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
13	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 14: THỰC HÀNH KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN VÀ NHẬN ĐỊNH HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG MÁU NGOẠI VI

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được kỹ thuật làm và nhuộm tiêu bản giọt máu dàn theo đúng quy trình.
- Quan sát và nhận định được hình thái tế bào máu trong máu ngoại vi của 1 số tiêu bản mẫu và tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ**

- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Lam kính khô sạch không mỡ, lam kéo khô sạch, bông thấm nước, không xước. cốc có mỏ, pipet.
- + Kính hiển vi quang học
- + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu
- + Thùng rác thải y tế.

*** Hóa chất**

- Thuốc nhuộm Giemsa cốt đựng trong lọ màu, dung dịch đệm phosphats, nước muối cát, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín.
- Cồn tuyệt đối, giá lam, cốc đồng.
- Dầu soi, dung dịch xylen lau kính, khăn lau kính.

*** Bệnh phẩm**

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

2. Tiến hành theo quy trình

3. Nguyên nhân sai lầm

- Trên tiêu bản quá dày hay quá mỏng.
- Cố định không đạt yêu cầu, thuốc nhuộm không đảm bảo chất lượng, nhiều căn tua, thời gian nhuộm sai.
- Chọn vùng nhận diện bạch cầu không đúng.
- Nhận diện tế bào sai.
- Một bạch cầu đọc hai lần.
- Đọc tế bào dễ, bỏ qua tế bào khó.

4. Các bước cần lưu ý

5. Tổ chức thực hiện

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

6. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN MÁU NGOẠI VI

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Lam kính khô sạch không mỡ, lam kéo khô sạch, bông thấm nước, không xước. cốc có mỏ, pipet. + Thùng rác thải y tế.		
	Chuẩn bị hóa chất	- Thuốc nhuộm Giemsa cốt đựng trong lọ màu, dung dịch đệm phosphats, nước muối cất, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín.		

3	<p>Kiểm tra bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. - Kiểm tra chất lượng bệnh phẩm 	<p>Trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.</p> <p>Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.</p>		
4	<p>Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh trên lam kính</p>	<p>Ghi đầy đủ thông tin trên lam kính: Họ tên/ mã số người bệnh và trùng với thông tin trên ống mẫu bệnh phẩm</p>		
5	<p>Lắc đều ống bệnh phẩm</p>	<p>Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm 8-10 lần.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Máu và huyết tương được trộn đều thành màu đỏ đồng nhất 		
6	<p>Nhỏ máu lên lam kính</p>	<p>Máu được hút bằng pipet và nhỏ lên chính giữa của 1/3 đầu của lam kính 1 giọt máu khoảng 3µl.</p>		
7	<p>Kéo tiêu bản giọt đàn</p> <p>Dùng cạnh lam kéo đặt phía trước giọt máu và nghiêng 1 góc 30-45° so với lam kính, kéo ngược lại cho máu dàn đều lên cạnh của lam kéo và đẩy đều tay hết chiều dài của lam kính.</p>	<p>Giọt máu có chiều dài 2,5 đến 3 cm, cách đều 2 mép lam kính 1mm. Máu được dàn đều từ đầu đến cuối giọt máu, không vấp không xước, không mờ</p>		
8	<p>Đề khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng</p>	<p>Tiêu bản máu khô</p>		
9	<p>Cố định tiêu bản</p> <p>Cố định tiêu bản bằng cách nhỏ 1-2 giọt cồn tuyệt đối trên máu đàn và để khô tự nhiên.</p>	<p>Hình thái tế bào máu giữ nguyên không thay đổi, quan sát được rõ các hạt đặc hiệu của bạch cầu.</p>		

10	Pha thuốc nhuộm giemsa 10% : theo tỷ lệ 1 ml thuốc nhuộm giemsa cốt và 9 ml dung dịch đệm.	Thuốc nhuộm giem sa 10%, được trộn đều bằng pipet tạo thành dung dịch màu xanh đồng nhất. Pha đủ cho mỗi tiêu bản cần 2 ml thuốc nhuộm.		
11	Nhuộm tiêu bản - Xếp lam máu đàn cần nhuộm lên giá nhuộm. - Phủ lên khắp lam máu đàn dung dịch giemsa 10%. Hoặc nhúng vào cốc nhuộm giemsa 10%.	Xếp tiêu bản lên giá nhuộm nên xếp cách các tiêu bản, không xếp sát các tiêu bản. Thuốc nhuộm được phủ kín lên trên phần bệnh phẩm, không có bọt khí. Đảm bảo cho mỗi tiêu bản có đủ 2 ml thuốc nhuộm. Thời gian nhuộm 10- 15 phút.		
12	Rửa tiêu bản Điều chỉnh vòi nước chảy vừa phải không quá mạnh, đưa tiêu bản xuống dưới vòi nước chảy, không nghiêng tiêu bản để nước tự đẩy thuốc nhuộm cho đến khi nước trong thì dừng lại.	Tiêu bản được rửa sạch cho đến khi nước trong thì thôi, không còn cặn thuốc nhuộm		
13	Làm khô tiêu bản	Đề nghiêng tiêu bản trên giá nhuộm và khô ở nhiệt độ phòng.		
14	Nhận định tiêu bản bằng quan sát đại thể	Màu của tiêu bản bắt màu xanh tím đều khắp tiêu bản		
15	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
16	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào		

		số/phần mềm		
--	--	-------------	--	--

**BẢNG KIỂM KỸ THUẬT QUAN SÁT HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG
TIÊU BẢN MÁU NGOẠI VI**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu + Thùng rác thải y tế - Dầu soi, dung dịch xylene lau kính, khăn lau kính.		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu tiêu bản nhuộm với phiếu yêu cầu xét nghiệm.	Đúng thông tin của người bệnh và phiếu yêu cầu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa.		
4	Xác định vị trí soi	Soi ở 1/3 vị trí giữa giọt đàn		
5	Nhỏ dầu lên tiêu bản máu	Nhỏ 1 giọt dầu lên vị trí xác định soi ở 1/3 giữa tiêu bản		
6	Soi tiêu bản: Sử dụng kính hiển vi quang học vật kính 100 để lấy vi trường	Di chuyển vi trường từ trái sang phải, từ trên xuống dưới theo hình zích zắc		
7	Nhận biết hình thể tế bào hồng cầu	Hồng cầu bắt màu xanh tím. Đường kính 8 µm. Nhận xét mức độ đồng đều về kích thước của các tế bào hồng cầu và phát hiện các bất thường về hình thể, kích thước.		
8	Nhận biết hình thể tế	Bạch cầu hạt trung tính: Nhân chia đoạn,		

	bào bạch cầu hạt trung tính	các hạt đặc hiệu nhỏ, mịn và bắt màu đỏ. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước của các tế bào bạch cầu hạt trung tính.		
9	Nhận biết hình thể tế bào bạch cầu hạt ưa acid	Bạch cầu đoạn ưa acid: nhân chia đoạn, các hạt đặc hiệu bắt màu vàng cam, kích thước lớn xếp đều đặn trong nguyên sinh chất của tế bào. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước.		
10	Nhận biết hình thể tế bào các loại bạch cầu hạt ưa bazo và nhận xét	Bạch cầu đoạn ưa bazo: nhân chia đoạn, các hạt đặc hiệu ưa bazo có màu xanh đen, kích thước to nhỏ không đều, nằm đè lên cả nhân. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước		
11	Nhận biết hình thể bạch cầu monocyte và nhận xét	Bạch cầu monocyte; Kích thước lớn, nhân không chia đoạn, nhân có hình ngọn lửa hoặc hình móng ngựa, chất nhân xốp, có thể có hốc bào. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước		
12	Nhận biết hình thể bạch cầu lympho và nhận xét	Bạch cầu lympho: kích thước nhỏ nhân tròn, chiếm gần hết kích thước của tế bào. Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước		
13	Nhận biết hình thể dòng tiểu cầu và nhận xét kết quả tiêu bản	Tế bào nhỏ, không nhân có màu hồng xốp Phát hiện được các bất thường về hình thể, kích thước, độ tập trung tiểu cầu.		
14	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định.		

		- Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		
15	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		

BÀI 15: THỰC HÀNH KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN VÀ NHẬN ĐỊNH HÌNH THÁI TẾ BÀO MÁU TRONG TỦY XƯƠNG

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện được kỹ thuật làm và nhuộm tiêu bản giọt máu tủy xương theo đúng quy trình.
- Quan sát và nhận định chính xác được hình thái các tế bào máu trong tủy xương của 1 số tiêu bản mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Lam kính khô sạch không mỡ, lam kéo khô sạch, bông thấm nước, không xước. cốc có mỏ, pipet.
- + Kính hiển vi quang học
- + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu tủy xương
- + Thùng rác thải y tế.

* Hóa chất

- Thuốc nhuộm Giemsa cốt đựng trong lọ màu, dung dịch đệm phosphats, nước muối cát, cồn sát khuẩn đựng trong lọ kín.
- Cồn tuyệt đối, giá lam, cốc đồng.
- Dầu soi, dung dịch xylen lau kính, khăn lau kính.

* Bệnh phẩm

- Tiêu bản máu đàn đã nhuộm giem sa đạt yêu cầu
- **Hoặc** lọ đựng bệnh phẩm (máu tủy xương) trùng khớp thông tin của ống máu và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.

Máu không đông bằng EDTA, thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h, huyết tương không có màu hồng.

2. Tiến hành theo quy trình

3. Nguyên nhân sai lầm

- Trên tiêu bản quá dày hay quá mỏng.
- Cố định không đạt yêu cầu, thuốc nhuộm không đảm bảo chất lượng, nhiều cặn tủa, thời gian nhuộm sai.
- Chọn vùng nhận diện bạch cầu không đúng.
- Nhận diện tế bào sai.
- Một bạch cầu đọc hai lần.
- Đọc tế bào dễ, bỏ qua tế bào khó.

4. Các bước cần lưu ý

5. Tổ chức thực hiện

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

6. Lượng giá: bảng bảng kiểm

Bảng kiểm làm tiêu bản máu tủy xương thực hiện giống như quy trình làm tiêu bản máu ngoại vi (đã học bài 14)

* BẢNG KIỂM KỸ THUẬT QUAN SÁT HÌNH THÁI DÒNG HỒNG CẦU TRONG TIÊU BẢN MÁU TỬ XƯƠNG

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu		
	Chuẩn bị hóa chất, bệnh phẩm	+ Kính hiển vi quang học, + Dầu soi, dung dịch xylen lau kính, khăn lau kính, dầu soi. Tranh mẫu hình thể các tế bào máu - Tiêu bản máu đàn đã nhuộm giem sa đạt yêu cầu		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu tiêu bản đã	Đúng thông tin của người bệnh và phiếu yêu cầu xét nghiệm: Họ và tên,		

	nhuộm với phiếu yêu cầu xét nghiệm.	tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Xác định vị trí soi	Soi ở 1/3 vị trí giữa giọt đàn		
5	Nhỏ dầu lên tiêu bản máu	Nhỏ 1 giọt dầu lên vị trí xác định soi ở 1/3 giữa tiêu bản		
6	Soi tiêu bản	Di chuyển vi trường từ trái sang phải, từ trên xuống dưới theo hình zích zắc		
7	Nhận biết hình thể nguyên tiền hồng cầu	Nguyên tiền hồng cầu có hình tròn hoặc bầu dục, đk 15-30 μm , nhân chiếm 8/10 tế bào, lưới màu nhân thô, khối chất nhiễm sắc dày đặc, có 1- 2 hạt nhân. Bào tương ưa base mạnh, bào tương không có hạt, có thể có 1- 2 giả túc		
8	Nhận biết hình thể nguyên hồng cầu ưa bazo	Nguyên hồng cầu ưa bazo có kích thước nhân nhỏ hơn, khối nhiễm sắc dày và đặc, bắt màu tím đỏ, nhân có đường nứt hình nan hoa xe đạp hay hình bàn cờ, không có hạt nhân. Nguyên sinh chất rất ưa bazo, màu xanh da trời.		
9	Nhận biết hình thể nguyên hồng cầu đa sắc	Nguyên hồng cầu đa sắc có đường kính 9- 12 μm . Bào tương có màu huyết sắc tổ pha trộn với màu ưa base. Nhân tế bào nhỏ dần, nằm ở trung tâm bào tương, lưới màu nhân bắt đầu đông vón lại tạo nên hình ảnh những "cục" đều đặn.		
10	Nhận biết hình thể nguyên hồng cầu ưa acid	Nguyên hồng cầu ưa acid có đường kính 8- 9 μm . Nhân tròn nhỏ, lưới màu rất thô nằm ở chính giữa tế bào và bắt màu tím sẫm. Bào tương ưa base giảm, huyết sắc tố hình thành làm cho nguyên sinh chất có màu đỏ hồng		
11	Nhận biết hình thể	Hồng cầu lưới có đường kính 7-8 μm		

	hồng cầu lưới	chỉ còn lại vết tích của nhân dưới dạng hạt hoặc lưới. Khi nhuộm xanh cresyl thấy giữa các lưới sợi có những hạt bắt màu xanh đen, còn gọi là hình hạt dây		
12	Đề kính về tư thế nghỉ	- Hạ thấp mâm kính lấy tiêu bản ra, đưa ánh sáng đèn về mức tối thiểu tắt công tắc đèn, Lấy khăn mềm khô lau sạch dầu trên vật kính và tiêu bản. Lau kính		
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		

*** BẢNG KIỂM KỸ THUẬT QUAN SÁT HÌNH THÁI DÒNG BẠCH CẦU TRONG TIÊU BẢN MÁU TỬY XƯƠNG**

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất, bệnh phẩm	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, tranh mẫu hình thể các tế bào máu + Khăn lau kính - Dầu soi, dung dịch xylen lau kính. - Tiêu bản máu tủy xương đã nhuộm giem sa đạt yêu cầu		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu tiêu bản nhuộm với phiếu yêu cầu xét nghiệm.	Đúng thông tin của người bệnh và phiếu yêu cầu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		

4	Xác định vị trí soi	Tiêu bản được soi ở ở 1/3 giữa giọt đàn		
5	Nhỏ dầu lên tiêu bản máu	1 Giọt dầu được nhỏ lên lên 1/3 giữa tiêu bản giọt đàn		
6	Soi tiêu bản	Tiêu bản được di chuyển vi trường từ trái sang phải, từ trên xuống dưới theo hình zích zắc để đảm bảo các vi trường không bỏ sót.		
7	Nhận biết hình thể nguyên tủy bào (Myeloblast)	-Nguyên tủy bào: ĐK 10-18 μm . Chất nhân mịn và đều với một đến vài hạt nhân nhạt màu. Bào tương hẹp, ưa bazơ và không có hạt.		
8	Nhận biết hình thể tiền tủy bào (Promyelocyte)	- Tiền tủy bào: ĐK 14 đến 20 μm và có tỷ lệ nhân và nguyên sinh chất thấp hơn. Chất nhân thô hơn, còn quan sát thấy hạt nhân và bào tương màu xanh xám nhạt. Có nhiều hạt trong bào tương		
9	Nhận biết hình thể tủy bào (myelocyte):	- Tủy bào: ĐK 12 đến 18 μm . Tỷ lệ nhân so với nguyên sinh chất thấp hơn so với tiền tủy bào, nhân có dạng bầu dục rõ hơn, không còn thấy hạt nhân và chất màu nhân thô hơn. Cso các hạt đặc hiệu trung tính, acid, bazo		
10	Nhận biết hình thể hậu tủy bào (metamyelocyte)	Hậu tủy bào: Nhân bắt đầu thắt lại và có dạng quả thận hoặc hình hạt đậu. Chất nhân thô hơn so với tủy bào. Màu của các hạt đặc hiệu trong bào tương trở nên khác biệt rất rõ ràng giữa màu trung tính, ưa acid hay ưa base		
11	Nhận biết hình thể bạch cầu dũa (Band hoặc Stab)	Bạch cầu dũa: Nhân kéo dài hình que, hình gậy...		
12	Đề kính về tư thế nghỉ	- Hạ thấp mâm kính lấy tiêu bản ra, đưa ánh sang đèn về mức tối thiểu tắt công tắc đèn. Lấy khăn mềm khô lau sạch dầu trên vật		

		kính và tiêu bản. Lau kính		
13	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		

BÀI 16: THỰC HÀNH KỸ THUẬT ĐỊNH CÔNG THỨC BẠCH CẦU PHỔ THÔNG

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

- Thực hiện được kỹ thuật xác định công thức bạch cầu theo đúng quy trình.
- Nhận định và phân tích được kết quả công thức bạch cầu trong một số tiêu bản mẫu và tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Kính hiển vi quang học, khăn lau kính
- + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu
- + Máy đếm công thức bạch cầu hoặc 100 viên sỏi.

* Hóa chất

- Dầu soi, dung dịch xylene lau kính, khăn lau kính.

* Bệnh phẩm

Tiêu bản máu đàn đã nhuộm giem sa 10% đạt yêu cầu

2. Tiến hành theo quy trình

- Quan sát dưới kính hiển vi quang học VK x100, nhận dạng hình thái các loại bạch cầu, đếm và tính tỷ lệ % các loại bạch cầu trong tiêu bản máu ngoại vi.

* Trị số bình thường

- Tính bằng tỷ lệ phần trăm

Tên bạch cầu	Người trưởng thành (tỷ lệ phần trăm)	Trẻ em 10 tuổi (tỷ lệ phần trăm)	Trẻ sơ sinh
Bạch cầu dũa	1 – 4	4	6
Bạch cầu đoạn trung tính	55 – 75	45 - 60	54 – 86

Bạch cầu ái toan	2 – 6	1 – 4	0 -2
Bạch cầu ái kiềm	0,1	0,1	0,0
Lympho	25 – 35	40 – 59	10 – 38
Mono	1 – 4	6	0 – 7

- **Tính bằng trị số tuyệt đối (#)** (số lượng mỗi loại bạch cầu có trong 1 mm³ máu):
Để có trị số tuyệt đối này, ta nhân tỷ lệ phần trăm của mỗi loại số lượng bạch cầu có trong 1mm³ máu.

Ví dụ: Lympho = 20% = 0,2

Số lượng bạch cầu/ 1mm³ = 5000 mm³

Trị số tuyệt đối của Lympho (Lym #) = 0,2 x 5000 = 1000/ mm³

- Chú ý: Khi làm công thức bạch cầu cần nhớ quan sát:

+ Nếu hồng cầu có nhân xuất hiện ở máu ngoại vi, phải ghi nhận số lượng hồng cầu nhân trên tổng số 100 bạch cầu.

+ Lưu ý và ghi nhận những thể bất thường của hồng cầu như: thể Howell - Jolly.

+ Cách phân bố của hồng cầu: có hiện tượng chuỗi tiền, hồng cầu tụ kết cụm hay không.

+ Màu sắc và kích thước của hồng cầu.

- Kiểm tra chi tiết cấu trúc hình thái bạch cầu, hồng cầu phải chọn những chỗ hồng cầu trải đều không được dính hay chồng lên nhau.

- Tiểu cầu: ước lượng số lượng tiểu cầu trung bình có trong một quang trường giúp chúng ta có một ý niệm đại khái về sự tăng, giảm tiểu cầu. Đồng thời khảo sát về sự thay đổi kích thước của hồng cầu, có sự hiện diện của tiểu cầu khổng lồ hay không (giant platelets).

3. Nguyên nhân sai lầm

- Trên tiêu bản quá dày hay quá mỏng.

- Cố định không đạt yêu cầu, thuốc nhuộm không đảm bảo chất lượng, nhiều cặn tủa, thời gian nhuộm sai.

- Chọn vùng nhận diện bạch cầu không đúng.

- Nhận diện tế bào sai.

- Một bạch cầu đọc hai lần.

- Đọc tế bào dễ, bỏ qua tế bào khó.

4. Các bước cần lưu ý

5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

6. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐỊNH CÔNG THỨC BẠCH CẦU PHỔ THÔNG

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, khăn lau kính + Tranh mẫu hình thể các tế bào máu		
	Chuẩn bị hóa chất, bệnh phẩm	- Dầu soi, dung dịch xylen lau kính, khăn lau kính. - Tiêu bản máu đàn đã nhuộm giem sa 10% đạt yêu cầu		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu tiêu bản nhuộm với phiếu yêu cầu xét nghiệm.	Đúng thông tin của người bệnh và phiếu yêu cầu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Xác định vị trí soi	Tiêu bản được soi ở ở 1/3 giữa giọt đàn		
5	Nhỏ dầu lên tiêu bản máu	1 Giọt dầu được nhỏ lên lên 1/3 giữa tiêu bản giọt đàn		
6	Soi tiêu bản	Tiêu bản được di chuyển vi trường từ trái sang phải, từ trên xuống dưới theo hình zích zắc để đảm bảo các vi trường không bỏ sót.		

7	<p>Đếm công thức bạch cầu</p> <p>Soi kính hiển vi vật kính x100:</p> <p>Đếm 100 bạch cầu theo đường zic zac, không đi lại các vùng đã soi và nhận định được 5 loại bạch cầu trong máu ngoại vi.</p>	<p>Số lượng bạch cầu hạt trung tính</p> <p>số lượng bạch cầu hạt ưa acid,</p> <p>BC hạt ưa bazơ</p> <p>BC Lympho,</p> <p>BC monocyte.</p> <p>Cho phép sai số <10% so với kết quả của nhân viên y tế.</p>		
8	<p>Tính và nhận định kết quả</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Tính đúng số lượng hồng cầu của mẫu xét nghiệm theo công thức ra ml và lít máu. - Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần 		
9	<p>Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải</p> <p>- Rửa tay</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay 		
10	<p>Lưu kết quả</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm 		

BÀI 17: THỰC HÀNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC TIÊU

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được kỹ thuật xét nghiệm tế bào trong nước tiêu theo đúng quy trình.
- Nhận định và giải thích được kết quả tế bào trong nước tiêu của một số tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ, hóa chất**

- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu
- + Kính hiển vi quang học, máy ly tâm.
- + khăn lau kính, lam kính, lamén, pipet, ống nghiệm thủy tinh.
- + Thùng rác thải y tế
- + Tranh mẫu hình thể cặn nước tiêu

*** Hóa chất**

- Thuốc nhuộm Xanh metylen.

*** Bệnh phẩm**

- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và trùng khớp thông tin của ống bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng.
- Kiểm tra mẫu bệnh phẩm: bệnh phẩm được lấy vào lọ đựng bệnh phẩm. Số lượng bệnh phẩm là 10-15 ml và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h. Nếu để quá thời gian phải cho chất bảo quản.

2. Tiến hành theo quy trình

*** Nhận định kết quả**

- Tế bào

- + Hồng cầu
 - (Ít) : dưới 5 HC/ vi trường.
 - (+) : 5 - 10 HC / vi trường.
 - (++) : 10 - 20 HC / vi trường.
 - (+++) : > 50 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.

+ Tế bào biểu mô niệu đạo: Tế bào to hình đa diện, nhân rõ.

+ Tế bào biểu mô bàng quang: Tế bào to bình vọt, nhân rõ.

+ Tế bào biểu mô thận: Tế bào to trung bình, hình bầu dục, nhân tròn rõ.

- Trichomonas

Trong bệnh viêm âm đạo. Ký sinh trùng này có thể xâm nhập vào bàng quang rồi lẫn vào nước tiểu.

- Trụ niệu

Cấu tạo bởi chất nhầy, 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 hai loại trụ.

+ *Trụ không có tế bào*

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. Vì trụ tan trong nước nên hiếm gặp trong nước tiểu loãng.

Trụ sáp (trụ kéo): 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 nên tạo thành trụ sáp. Hiếm gặp

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 hoá, hoặc do mỡ trong máu bài tiết ra khi bệnh nhân tiểu ra lipid lắng đọng lại tạo thành. Thường gặp trong thận nhiễm mỡ.

+ *Trụ tế bào*

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 hoá 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 bạch cầu: do bạch cầu hạt thoái hoá tạo thành, thường đứt thành đoạn ngắn. Biểu hiện tình trạng viêm, nhiễm khuẩn, gặp trong viêm cầu thận.

Trụ hồng cầu còn gọi là trụ máu: Do hồng cầu kết tụ, bờ trụ thường lờm chờm không đều. Biểu hiện tình trạng chảy máu trong thận, trong viêm thận cấp tính, trong đợt tiến triển của viêm thận mạn tính.

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.
- (+++)
- (++++)

- Cận tinh thể

+ Sulfat calci: hình kim dài, hoa thị, không màu.

+ Calcium oxalat: Hình phong bì, hình tám góc, hình củ lạc thường rất nhỏ. Tan trong HCL. Nước tiểu hơi đục, cận lắng màu trắng. Nguyên nhân có thể do dùng nhiều thức ăn có oxalat, đái tháo đường, xơ gan, rối loạn thần kinh, sạn, sỏi thận.

+ Carbonat calci: Hình cầu, hình hạt không màu tan trong acid CH_3COOH 30% và cho bọt.

+ Cận phosphat: Hình chữ nhật, lá dương xỉ, hình sao. Kích thước 30 – 50 μm . Không màu, chiết quang.

+ Amorphous urat (urat vô thể): thường là hột màu đỏ gạch , bị hòa tan bởi sức nóng và tan trong NaOH đậm đặc. Xuất hiện ngy sau khi tiểu gặp trong sốt cao, suy tim, hay có sỏi urat.

+ Acid uric: Hình thoi, mũi giáo, hoa thị, hình ngôi sao, màu vàng hay nâu đến không màu. Gặp trong bệnh lý nặng của thận do phản ứng quá toan của nước tiểu.

+ Amonium urat: Hình cầu gai, xương rồng, hình bó kim, kích thước 20 μm , màu vàng. Tác dụng với HCl tạo thành acid uric.

+ Huppuric acid: Hình lăng trụ hay đĩa mỏng, không màu đến màu vàng. Tan trong CH_3COOH 30% và ether.

+ Calcium phosphat: Hình tam giác, hình hạt, góc nhọn, chụm thành hoa thị. Tan trong acid CH_3COOH 30%. Nước tiểu đục màu sữa có thể do mất nhiều chất

điện giải và ở những người bị suy nhược thần kinh.

+ Tyrosin: Hình kim nhỏ, không màu, tan trong HCl. Hiếm gặp. Gặp trong suy dinh dưỡng, bệnh gan cấp tính, nôn nhiều do thai nghén.

+ Triple phosphate: Hình nắp quan tài, hình lăng trụ, hình lông chim, hình lá cây. tan trong HCl đậm đặc và CH_3COOH 30%.

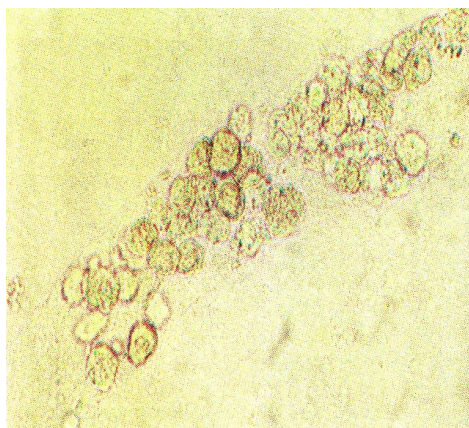
- Các tạp chất khác

+ Do lấy nước tiểu không đúng kỹ thuật.

+ Dụng cụ bẩn, tiêu bản bẩn.

+ Sợi chất nhầy.

+ Lông, sợi bông, bọt khí.



Trụ hồng cầu



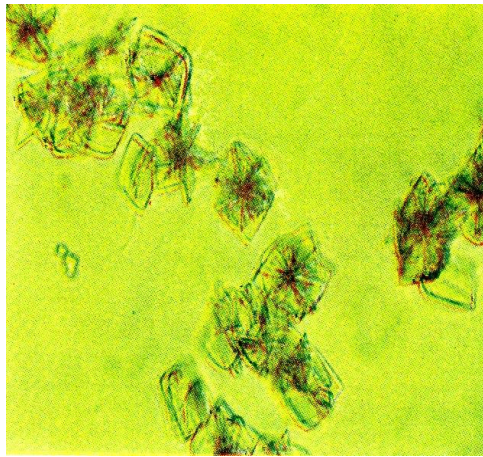
Trụ bạch cầu, trụ hồng cầu



Tế bào biểu mô thận



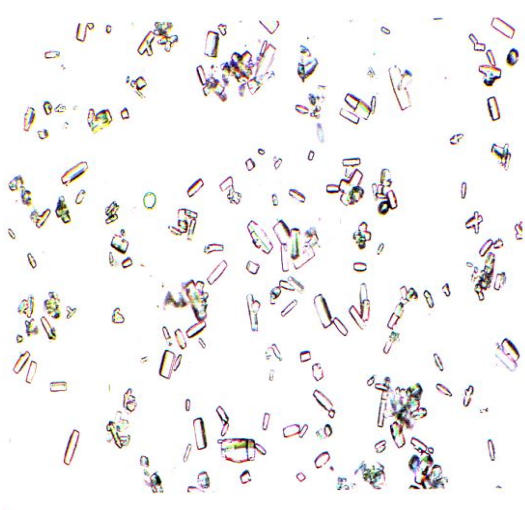
Trụ sáp



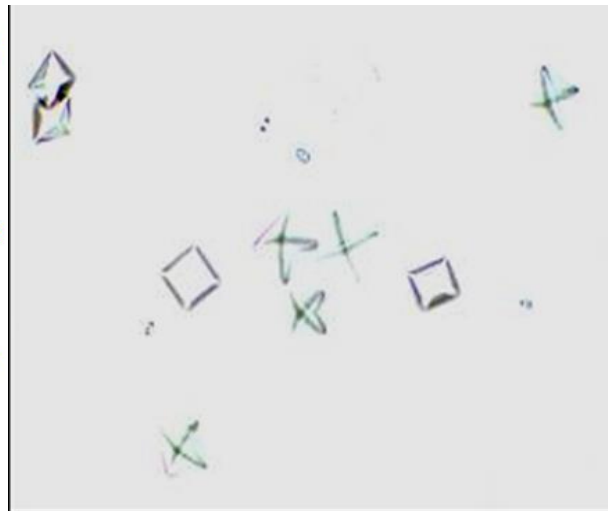
Acid uric



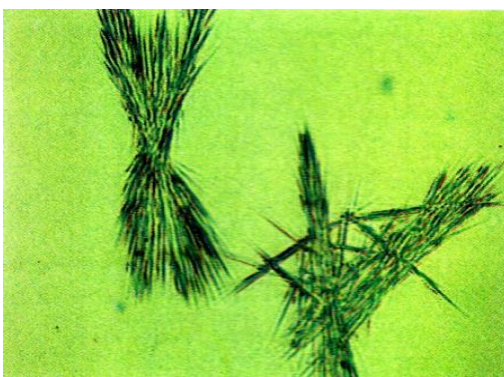
Amonium urat



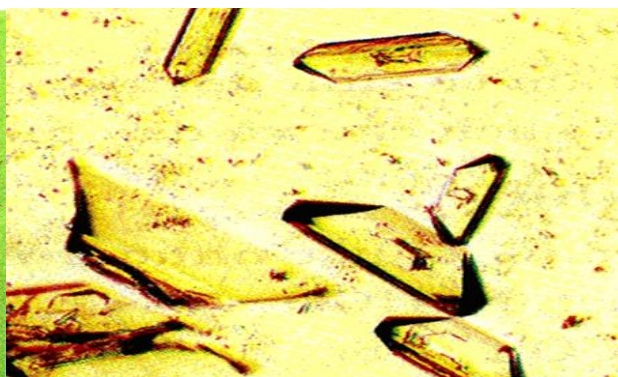
Hypuric acid



Calci oxalat



Tinh thể tyrosin



Triple phosphat

3. Các bước cần lưu ý

- Phải ghi rõ ràng loại mẫu, cách lấy mẫu: Mẫu lấy tự nhiên, mẫu lấy qua đặt sonde, mẫu lấy đầu, giữa hay cuối bãi, mẫu lấy sau khi phẫu thuật đường tiết niệu...
- Vệ sinh sạch sẽ trước khi lấy mẫu nước tiểu.
- Dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo khô, sạch.

- Mẫu xét nghiệm phải được đưa ngay đến labo sau khi lấy, nếu để lâu hồng cầu, bạch cầu, tế bào biểu mô và trụ sẽ giảm trong khi vi khuẩn và men tăng. Tốt nhất là trong vòng 2 giờ.

- Luôn luôn nhớ điều tra về kinh nguyệt vì có thể gây sai sót nghiêm trọng do hồng cầu, tế bào biểu mô và vi khuẩn có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm trọng và sau hành kinh vài ngày.

- Ống nước tiểu phải đậy nút kín để tránh đổ vãi và lẫn tạp khuẩn.

4. Tổ chức thực hiện

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

5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG NƯỚC TIỂU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng (đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng, tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn, đeo thẻ công tác)		
2	Chuẩn bị dụng cụ	- Dụng cụ đầy đủ và đúng yêu cầu + Kính hiển vi quang học, khăn lau kính, lam kính, lamén, pipet, ống nghiệm thủy tính, máy ly tâm. Thùng rác thải y tế		
	Chuẩn bị hóa chất	+ Tranh mẫu hình thể cặn nước tiểu - Thuốc nhuộm Xanh metylen.		
3	Chuẩn bị bệnh phẩm Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu yêu cầu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh. Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm	- Phiếu yêu cầu xét nghiệm và trùng khớp thông tin của ống bệnh phẩm và phiếu chỉ định xét nghiệm: Họ và Tên, tuổi, giới, mã số, khoa/phòng. - Kiểm tra mẫu bệnh phẩm: bệnh phẩm được lấy vào lọ đựng bệnh phẩm. Số lượng bệnh phẩm là 10-		

		15 ml và thời gian lấy bệnh phẩm đến khi thực hiện XN < 2h.		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên người bệnh lên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin trên ống nghiệm: Họ tên/ mã số người bệnh		
5	Ly tâm nước tiểu Lắc đều ống tiểu, cho vào ống nghiệm khoảng 5 ml, ly tâm 2000 vòng/ phút trong vòng tối thiểu 5 phút. Nếu không ly tâm thì để lắng 1-2 giờ.	Cặn nước tiểu được lắng xuống đáy ống nghiệm.		
6	Làm tiêu bản Đổ phần trên, hút một giọt cặn, nhỏ lên lam kính. Đậy lamen lên bệnh phẩm lan đều dưới lamen.	Bệnh phẩm được dàn đều dưới lamen, không tràn ra ngoài lamen, không có bọt khí.		
7	Đọc tiêu bản bằng vật kính x 10 hoặc x 40.	- Kiểm tra khoảng 20 – 30 vi trường. Số vi trường không được ít hơn 10. - Nhận định được hình thái các tế bào có trong nước tiểu: hồng cầu, bạch cầu, các trụ, các cặn (nếu có)...		
8	Nhận định kết quả	- Xác định được kết quả bình thường hay bất thường, báo bác sĩ khi cần		
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải - Rửa tay	- Dụng cụ và hóa chất để đúng vị trí. - Lau bề mặt bàn xét nghiệm bằng dung dịch khử trùng - Thu gom và phân loại rác thải đúng quy định. - Thực hiện đúng 6 bước rửa tay		

10	Lưu kết quả	- Kết quả được lưu vào sổ/phần mềm		
----	-------------	---------------------------------------	--	--

BÀI 18: THỰC HÀNH PHÂN TÍCH HUYẾT ĐỒ

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

- Thực hiện được kỹ thuật đọc huyết đồ theo quy trình.
- Nhận định và phân tích được kết quả huyết đồ trong một số tình huống bình thường và bệnh lý.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ**

- Dụng cụ lấy máu tĩnh mạch.
- Dụng cụ dùng đếm số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu.
- Dụng cụ đo thể tích khối hồng cầu, kéo lam, nhuộm Wright.
- Dụng cụ định lượng huyết sắc tố, máu lắng, máy đếm bạch cầu
- Kính hiển vi quang học.

*** Hóa chất**

- Dung dịch pha loãng để đếm hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu.
- Thuốc nhuộm giemsa.
- Nước cất.
- Dầu soi, còn tuyệt đối, còn sát khuẩn.

*** Bệnh phẩm**

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

3. Tiến hành

- * Thực hiện xét nghiệm huyết đồ trên các mẫu bệnh phẩm đã chuẩn bị trước, có thể thực hiện bằng các kỹ thuật xét nghiệm thủ công hoặc chạy trên máy huyết học tự

động.

* Khảo sát tính chất lam máu hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu của các mẫu bệnh phẩm trên/ có thể có các tiêu bản đã nhuộm sẵn.

- Khảo sát dòng hồng cầu

+ Số lượng: Bình thường, tăng hay giảm mức độ tăng giảm, đặc điểm phân bố (bình thường, ngưng kết, chuỗi tiền).

+ Hồng cầu nhược sắc hay bình sắc.

+ Kích thước có đồng đều hay không.

+ Hình dạng hồng cầu có bình thường không, có hồng cầu hình bia, hồng cầu hình liềm, hồng cầu hình giọt nước, có sự hiện diện của hồng cầu non hay không?

+ Tỷ lệ phần trăm hồng cầu lưới bình thường, tăng hay giảm?

- Khảo sát dòng bạch cầu

+ Số lượng bạch cầu: Bình thường, tăng hoặc giảm.

+ Hình dáng bạch cầu có bình thường không (có sự hiện diện của bạch cầu đa nhân nhiều múi, hoặc có sự hiện diện của hạt độc trong nguyên sinh chất).

+ Nhận xét từng loại bạch cầu quan sát trên tiêu bản máu, xác định được mức độ biệt hóa của từng loại tế bào, có sự xuất hiện của tế bào blast không?

- Khảo sát dòng tiểu cầu

+ Hình dạng và kích thước có bình thường hay không, có tiểu cầu khổng lồ hay không?

+ Độ tập trung của tiểu cầu có bình thường hay không, tăng hay giảm?

+ Số lượng tiểu cầu có bình thường không?

- Kết luận và đề xuất các xét nghiệm (nếu cần)

Bài tập tính huống 1: Bệnh nhân nam 35 tuổi, vào viện với lý do sốt cao, mệt mỏi.

Chỉ định làm công thức máu

Câu hỏi:

1. Liệt kê các xét nghiệm cần thực hiện theo chỉ định xét nghiệm trên?
2. Thực hiện các xét nghiệm trên?
3. Đọc và nhận định kết quả xét nghiệm trên và các đề xuất xét nghiệm bổ sung nếu cần?

Bài tập tính huống 2: Bệnh nhân nam 65 tuổi, vào viện với lý do đau khớp.

Chỉ định làm công thức máu

Câu hỏi:

1. Liệt kê các xét nghiệm cần thực hiện theo chỉ định xét nghiệm trên?
2. Thực hiện các xét nghiệm trên?

3. Đọc và nhận định kết quả xét nghiệm trên và các đề xuất xét nghiệm bổ sung nếu cần?

Bài tập tính huống 3: Bệnh nhân nam 35 tuổi, vào viện với lý do sốt cao, mệt mỏi. Chỉ định làm công thức máu

Câu hỏi:

1. Liệt kê các xét nghiệm cần thực hiện theo chỉ định xét nghiệm trên?
2. Thực hiện các xét nghiệm trên?
3. Đọc và nhận định kết quả xét nghiệm trên và các đề xuất xét nghiệm bổ sung nếu cần?

Bài tập tính huống 4: Bệnh nhân nữ 58 tuổi, vào viện với lý do: Da xanh, mệt mỏi khi vận động.

Chỉ định làm huyết đồ

Câu hỏi:

1. Liệt kê các xét nghiệm cần thực hiện theo chỉ định xét nghiệm trên?
2. Thực hiện các xét nghiệm trên?
3. Đọc và nhận định kết quả xét nghiệm trên và các đề xuất xét nghiệm bổ sung nếu cần?

Bài tập tính huống 5: Bệnh nhân nữ, 10 tháng tuổi, vào viện với lý do trẻ chậm lên cân, da xanh.

Chỉ định làm huyết đồ

Câu hỏi:

1. Liệt kê các xét nghiệm cần thực hiện theo chỉ định xét nghiệm trên?
2. Thực hiện các xét nghiệm trên?
3. Đọc và nhận định kết quả xét nghiệm trên và các đề xuất xét nghiệm bổ sung nếu cần?

Bài tập tính huống 6: Bệnh nhân nữ, 22 tuổi, vào viện với lý do sốt cao, chảy máu cam.

Chỉ định làm huyết đồ

Câu hỏi:

1. Liệt kê các xét nghiệm cần thực hiện theo chỉ định xét nghiệm trên?
2. Thực hiện các xét nghiệm trên?
3. Đọc và nhận định kết quả xét nghiệm trên và các đề xuất xét nghiệm bổ sung nếu cần?

4. Các bước cần lưu ý

5. Tổ chức thực hiện

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

IV. ĐIỀU KIỆN THỰC HIỆN CHƯƠNG TRÌNH

- Phòng học: Tại giảng đường, phòng thực hành huyết học.
- Trang thiết bị dụng cụ, hoá chất, máy móc: Kính hiển vi quang học, máy huyết học tự động, kính hiển vi truyền hình, bệnh phẩm, tiêu bản mẫu, thuốc nhuộm, giá lam, lam kính, lameten ...
- Học liệu: Giáo trình huyết học, tài liệu phát tay, tài liệu tham khảo.

V. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ

VI. HƯỚNG DẪN THỰC HIỆN MÔ ĐUN

1. Phạm vi áp dụng mô đun

Chương trình mô đun huyết học được sử dụng để giảng dạy trình độ cao đẳng nghề trong trường Cao đẳng y tế Hà Nội.

2. Hướng dẫn về phương pháp giảng dạy, học tập mô đun

- Đối với giảng viên:

+ Chuẩn bị giáo trình, kế hoạch bài giảng, giáo án điện tử...

+ Sử dụng các phương pháp giảng dạy tích cực.

Lý thuyết: thuyết trình, phát vấn, đọc và bình luận tài liệu, ...

Thực hành tại phòng thực hành: thực hiện thao tác mẫu, phát vấn, chia nhóm thực tập..

Đối với sinh viên

+ Chuẩn bị bài, đọc trước bài tại nhà.

+ Đọc quy trình kỹ thuật trước khi học thực hành tại phòng thực hành.

+ Thực hiện theo quy trình theo nhóm, bảng kiểm, làm bài tập...

3. Tài liệu học tập

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG GIÁO TRÌNH

Giáo trình có 193 trang, được chia làm 2 phần.

Phần I: Lý thuyết về huyết học tế bào

Phần II: Thực hành là các xét nghiệm đánh giá số lượng và chất lượng của các tế bào máu cơ bản.

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

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

Rất mong nhận được sự góp ý và đóng góp cho giáo trình ngày càng hoàn thiện hơn!

TÀI LIỆU THAM KHẢO

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