**QUY TRÌNH KỸ THUẬT**

**GIẢI PHẪU BỆNH VÀ TẾ BÀO HỌC**

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BV ngày tháng năm 2022*

*của Bệnh viện ĐKKV Quảng Nam)*

1. [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ CÁC TỔN THƯƠNG VÚ KHÔNG DƯỚI HƯỚNG DẪN SIÊU ÂM 2](#_Toc117836890)

2. [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ CÁC TỔN THƯƠNG VÚ DƯỚI HƯỚNG DẪN SIÊU ÂM 5](#_Toc117836891)

3. [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ TUYẾN GIÁP 8](#_Toc117836892)

4. [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ (FNA) CÁC KHỐI SƯNG, KHỐI U DƯỚI DA 12](#_Toc117836893)

5 [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ (FNA) TUYẾN NƯỚC BỌT 15](#_Toc117836894)

6. [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ (FNA) CÁC HẠCH LYMPHÔ NGOẠI VI 18](#_Toc117836895)

7. [CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ CÁC TỔN THƯƠNG CỦA DA VÀ MÔ MỀM NÔNG 22](#_Toc117836896)

8. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC CÁC DỊCH MÀNG BỤNG, MÀNG PHỔI, MÀNG TIM 26](#_Toc117836897)

9. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH KHỚP 29](#_Toc117836898)

10. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC NƯỚC TIỂU 32](#_Toc117836899)

11. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH CHẢI PHẾ QUẢN 35](#_Toc117836900)

12. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH RỬA VÀ HÚT PHẾ QUẢN 38](#_Toc117836901)

13. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH CÁC TỔN THƯƠNG DẠNG U NANG 41](#_Toc117836902)

14. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH RỬA Ổ BỤNG 44](#_Toc117836903)

15. [KỸ THUẬT LẤY BỆNH PHẨM LÀM PHIẾN ĐỒ CỔ TỬ CUNG - ÂM ĐẠO 47](#_Toc117836904)

16. [NHUỘM PAPANICOLAOU 51](#_Toc117836905)

17. [NHUỘM GIEMSA TRÊN PHIẾN ĐỒ 54](#_Toc117836906)

18. [KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC ĐỜM 57](#_Toc117836907)

# CHỌC HÚT **BẰNG KIM NHỎ CÁC TỔN THƯƠNG VÚ KHÔNG DƯỚI HƯỚNG DẪN SIÊU ÂM**

**I. NGUYÊN TẮC**

Tất cả các các tổn thương vú có thể sờ nắn được. Dùng bơm tiêm gắn kim đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ tổn thương vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của vú.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện.**

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất.**

- Phòng để thực hiện kỹ thuật từ 15-20 mét vuông, đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.

- Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

- Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

- Kẹp không mấu (1), kéo (1).

- Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

- Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

- Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

- Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

- Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số Người bệnh.

- Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

- Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút trên phiến kính.

- Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷlệ1/1).

- Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff -Quik/HE/ PAP…).

- Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

- Các dung dịch sát khuẩn.

- Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết.

- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

- Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các BN tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc).

- Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

- Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.

- Khám người bệnh, xác định vị trí tổn thương trên vú cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

- Khám kiểm tra hạch nách (nếu có hạch, tiến hành chọc hút như đã nêu trong phần chọc hút hạch lymphô ngoại vi).

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm.**

- Người bệnh nằm hoặc ngồi.

- Bộc lộ vú cần chọc hút.

- Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

- Chọc hút để lấy bệnh phẩm: cố định vị trí tổn thương cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm xuyên qua da vào tổn thương, hút dưới áp lực âm để dịch chọc chui vào trong lòng kim, trước khi rút mũi kim ra khỏi mô, cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da.

Có thể hút nhiều vị trí trên tổn thương nếu u > 1,5cm.

Có nhiều dịch trong tổn thương (nang) nên hút hết dịch.

Tránh da núm vú và quầng vú.

Nếu tổn thương ở quầng hoặc núm vú nên gây tê tại chỗ trước khi chọc.

- Sát trùng lại vị trí đã chọc hút, băng lại (nếu cần).

2. Làm phiến đồ.

- Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

- Kéo pittông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

- Lắp kim vào bơm tiêm.

- Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

- Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

3. Cố định phiến đồ.

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

4. Nhuộm các phiến đồ.

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff -Quick hay May GrünwanldGiemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả.**

Trên kính hiển vi quang học, do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

- Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô tổn thương, cũng như các thành phần của tổn thương cần xác định.

- Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

- Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

- Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm khối di động: cần ấn ngón tay giữ chặt khối cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

- Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

- Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

- Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, …): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

- Tràn khí thành ngực: rất hiếm do kim xuyên qua phổi, cần chếch góc mũi kim, không đâm thẳng góc hoặc cố định khối cần chọc nằm trên xương sườn.

- Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho người bệnh nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

# CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ **CÁC TỔN THƯƠNG VÚ DƯỚI HƯỚNG DẪN SIÊU ÂM**

**I. NGUYÊN TẮC**

Tất cả các các tổn thương vú có thể sờ nắn được và khó sờ nắn được. Dưới hướng dẫn của Bác sĩ siêu âm, dùng bơm tiêm gắn kim đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ tổn thương vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của vú.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện.**

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

- Bác sĩ siêu âm: 01

- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất.**

- Máy siêu âm với các đầu dò chuyên dụng.

- Giấy in, máy in ảnh, hệ thống lưu trữ hình ảnh.

- Túi nylon vô trùng bọc đầu dò siêu âm.

- Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (3) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

- Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

- Kẹp không mấu (1), kéo (1).

- Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

- Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

- Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

- Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

- Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số Người bệnh.

- Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

- Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vịtrí chọc hút trên phiến kính.

- Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷlệ1/1).

- Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff -Quik/HE/ PAP…).

- Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

- Các dung dịch sát khuẩn.

- Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết.

- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

- Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các BN tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc).

- Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

- Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.

- Khám người bệnh, xác định v ịtrí tổn thương trên vú cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

- Khám kiểm tra hạch nách (nếu có hạch, tiến hành chọc hút như đã nêu trong phần chọc hút hạch lymphô ngoại vi).

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm.**

- Người bệnh nằm hoặc ngồi.

- Bộc lộ vú cần chọc hút.

- Đặt đầu dò tìm vị trí chọc kim thuận lợi nhất.

- Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

- Chọc hút để lấy bệnh phẩm: Dưới hướng dẫn của Bác sĩ siêu âm cố định vị trí tổn thương cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm xuyên qua da vào tổn thương, hút dưới áp lực âm để dịch chọc chui vào trong lòng kim, trước khi rút mũi kim ra khỏi mô, cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da.

Có thể hút nhiều vị trí trên tổn thương nếu u > 1,5cm.

Có nhiều dịch trong tổn thương (nang) nên hút hết dịch.

Tránh da núm vú và quầng vú.

Nếu tổn thương ở quầng hoặc núm vú nên gây tê tại chỗ trước khi chọc.

- Sát trùng lại vị trí đã chọc hút, băng lại (nếu cần).

**2. Làm phiến đồ.**

- Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

- Kéo pittông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

- Lắp kim vào bơm tiêm.

- Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

- Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**3. Cố định phiến đồ.**

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

**4. Nhuộm các phiến đồ.**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff -Quick hay May GrünwanldGiemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả.**

Trên kính hiển vi quang học, do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

- Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô tổn thương, cũng như các thành phần của tổn thương cần xác định.

- Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

- Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

- Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm khối di động: cần ấn ngón tay giữ chặt khối cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

- Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

- Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

- Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, …): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

- Tràn khí thành ngực: rất hiếm do kim xuyên qua phổi, cần chếch góc mũi kim, không đâm thẳng góc hoặc cố định khối cần chọc nằm trên xương sườn.

- Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho người bệnh nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

# CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ TUYẾN GIÁP

**I. NGUYÊN TẮC**

Tất cả các các tổn thương tuyến giáp có thể sờ nắn được. Dùng bơm tiêm gắn kim tiêm đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ tổn thương vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của tuyến giáp.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Phòng để thực hiện kỹ thuật từ 15-20 m2, đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.

 Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

 Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

 Kẹp không mấu (1), kéo (1).

 Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

 Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

 Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

 Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

 Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số người bệnh.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút trên phiến kính.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷ lệ 1/1).

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP…)

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các người bệnh tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc)

 Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

 Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, siêu âm, các xét nghiệm đánh giá tình trạng hormon tuyến giáp.

 Mạch nhanh > 100 lần/phút: không tiến hành thực hiện thủ thuật.

 Khám người bệnh xác định vị trí tổn thương cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Người bệnh nằm thẳng trên gường, có thể kê gối mỏng dưới đầu.

 Bộc lộ vị trí cần chọc hút

 Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

 Chọc hút để lấy bệnh phẩm:

+ Người bệnh không được nói, không được nuốt khi đang được làm thủ thuật.

+ Cố định vị trí tổn thương cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm đâm qua da vào tổn thương, hút dưới áp lực âm để dịch chọc vào trong lòng kim.

+ Cố định mũi kim trong khi hút để tránh chảy máu và làm đau người bệnh.

+ Tùy độ nông hay sâu của tổn thương mà giới hạn độ sâu của kim. Có thể xoay mũi kim theo nhiều hướng hoặc chọc hút nhiều vị trí trên tổn thương để lấy đủ bệnh phẩm (tổn thương > 1,5cm).

+ Trước khi rút mũi kim ra khỏi mô, cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da.

+ Nếu tổn thương là u nang, có nhiều dịch: nên hút hết dịch. Khi rút kim không cần giải phóng áp lực âm.

+ Sát trùng lại vị trí đã chọc hút, băng lại (nếu cần).

**2. Làm phiến đồ**

 Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

 Kéo pittông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

 Lắp kim vào bơm tiêm.

 Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

 Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**3. Cố định phiến đồ**

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

**4. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay

May Grünwanld Giemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học, do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô tổn thương, cũng như các thành phần của tổn thương cần xác định.

 Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

 Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm vùng tổn thương di động: cần ấn ngón tay giữ chặt vùng cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: nên sử dụng kim nhỏ, chỉ kéo pittông 3-5 lần, không đổi hướng mũi kim khi hút hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu (trừ trường hợp u nang chảy máu mới).

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

 Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

 Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

 Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay, hoặc

bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

 Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, khí quản…): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

 Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh

chóng cho người bệnh nằm xuống gường và xử trí chống choáng.

# CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ (**FNA) CÁC KHỐI SƯNG, KHỐI U DƯỚI DA**

**I. NGUYÊN TẮC**

Tất cả các tổn thương sờ nắn được trên cơ thể. Dùng bơm tiêm gắn kim đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào hạch đi vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của hạch.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện.**

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất.**

- Phòng để thực hiện kỹ thuật từ 15-20 mét vuông, đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.

- Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

- Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

- Kẹp không mấu (1), kéo (1).

- Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

- Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

- Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

- Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

- Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số người bệnh.

- Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

- Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút trên phiến kính.

- Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷlệ1/1).

- Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff -Quik/HE/ PAP…)

- Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút

- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

- Các dung dịch sát khuẩn.

- Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).

- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

- Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các người bệnh tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc).

- Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

- Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.

- Khám người bệnh xác định vị trí hạch cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm.**

- Bộc lộ vị trí tổn thương cần chọc hút (Người bệnh có thể nằm hoặc ngồi tùy vị trí tổn thương cần bộc lộ để làm thủ thuật cho thuận tiện).

- Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

- Chọc hút để lấy bệnh phẩm: cố định vị trí tổn thương cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm xuyên qua da vào hạch, hút dưới áp lực âm để dịch chọc vào trong lòng kim. Trước khi rút mũi kim ra khỏi vị trí tổn thương, cần giải phóng áp ực âm, rút nhanh kim qua da. Có thể chọc hút nhiều vị trí trên vị trí tổn thương (nếu tổn thương > 1,5) hoặc chọc hút nhiều vị trí tổn thương (cần đánh dấu thứ tự vị trí tổn thương hoặc vị trí tổn thương được chọc hút trên phiến kính).

- Sát trùng lại bị trí đã chọc hút hoặc băng lại nếu cần.

**2. Làm phiến đồ.**

- Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

- Kéo pitông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

- Lắp kim vào bơm tiêm.

- Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

- Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**3. Cố định phiến đồ.**

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

**4. Nhuộm các phiến đồ.**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff -Quick hay May Grünwanld Giemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả.**

Trên kính hiển vi quang học, do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

- Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần của tổn thương cần xác định.

- Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

- Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

- Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút: cần ấn ngón tay giữ chặt vị trí cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

- Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

- Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

- Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, khí quản…): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

- Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho người bệnh nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

# CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ (FNA) TUYẾN NƯỚC BỌT

**I. NGUYÊN TẮC**

Tất cả các tổn thương tuyến nước bọt sờ nắn được trên bề mặt cơ thể hoặc dưới hình ảnh của siêu âm. Dùng bơm tiêm gắn kim đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào đi vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của tuyến nước bọt.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện.**

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất.**

- Phòng để thực hiện kỹ thuật từ15-20 mét vuông, đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.

- Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

- Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

- Kẹp không mấu (1), kéo (1).

- Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

- Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

- Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

- Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

- Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số người bệnh.

- Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

- Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút trên phiến kính.

- Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷlệ1/1).

- Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff -Quik/HE/ PAP…)

- Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút

- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

- Các dung dịch sát khuẩn.

- Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).

- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

- Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

- Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các người bệnh tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc).

- Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

- Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.

- Khám người bệnh xác định vị trí hạch cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm.**

- Bộc lộ vị trí tuyến nước bọt cần chọc hút (Người bệnh có thể nằm hoặc ngồi tùy vị trí cần bộc lộ để làm thủ thuật cho thuận tiện).

- Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

- Chọc hút để lấy bệnh phẩm: cố định vị trí cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm xuyên qua da vào hạch, hút dưới áp lực âm để dịch chọc vào trong lòng kim. Trước khi rút mũi kim ra khỏi vị trí chọc, cần giải phóng áp ực âm, rút nhanh kim qua da. Có thể chọc hút nhiều vị trí trên tuyến nước bọt (nếu > 1,5).

- Sát trùng lại bị trí đã chọc hút hoặc băng lại nếu cần.

**2. Làm phiến đồ.**

- Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

- Kéo pitông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

- Lắp kim vào bơm tiêm.

- Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

- Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**3. Cố định phiến đồ.**

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

**4. Nhuộm các phiến đồ.**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff -Quick hay May Grünwanld Giemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả.**

Trên kính hiển vi quang học, dobác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

- Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô tuyến nước bọt, cũng như các thành phần của tổn thương cần xác định.

- Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

- Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

- Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm tuyến nước bọt di động: cần ấn ngón tay giữ chặt hạch cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

- Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

- Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

- Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, khí quản…): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

- Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho người bệnh nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

# CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ (FNA) CÁC HẠCH LYMPHÔ NGOẠI VI

**I. NGUYÊN TẮC**

Tất cả các hạch sờ nắn được trên bề mặt cơ thể. Dùng bơm tiêm gắn kim đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ mô hạch đi vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh của hạch.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Phòng để thực hiện kỹ thuật từ 15-20 m2, đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.

 Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

 Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

 Kẹp không mấu (1), kéo (1).

 Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

 Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

 Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

 Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

 Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số người bệnh.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút trên phiến kính.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷ lệ 1/1).

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP…)

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các người bệnh tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc)

 Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

 Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.

 Khám người bệnh xác định vị trí hạch cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Bộc lộ vị trí hạch cần chọc hút (Người bệnh có thể nằm hoặc ngồi tùy vị trí hạch cần bộc lộ để làm thủ thuật cho thuận tiện).

 Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

 Chọc hút để lấy bệnh phẩm: cố định vị trí hạch cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm xuyên qua da vào hạch, hút dưới áp lực âm để

dịch chọc vào trong lòng kim. Trước khi rút mũi kim ra khỏi hạch, cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da. Có thể chọc hút nhiều vị trí trên hạch (nếu hạch > 1,5) hoặc chọc hút nhiều hạch (cần đánh dấu thứ tự hạch hoặc vị trí hạch được chọc hút trên phiến kính).

 Sát trùng lại vị trí đã chọc hút hoặc băng lại nếu cần.

**2. Làm phiến đồ**

 Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

 Kéo pitông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

 Lắp kim vào bơm tiêm.

 Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

 Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**3. Cố định phiến đồ**

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

**4. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học, do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô hạch, cũng như các thành phần của tổn thương cần xác định.

 Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

 Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm hạch di động: cần ấn ngón tay giữ chặt hạch cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

 Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

 Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

 Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính

trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay,

hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

 Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, khí quản…): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

 Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh

chóng cho người bệnh nằm xuống gường và xử trí chống choáng.

# CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ CÁC TỔN THƯƠNG CỦA DA VÀ MÔ MỀM NÔNG

I. NGUYÊN TẮC

Tất cả các các tổn thương trên da và mô mềm có thể sờ nắn được. Dùng bơm tiêm có gắn kim tiêm, đưa kim qua da vào vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ tổn thương vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng đã được đào tạo về chọc hút kim nhỏ: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Phòng để thực hiện kỹ thuật từ 15-20 m2, đủ ánh sáng, thoáng, có vòi nước, chậu rửa và bàn để dụng cụ nhuộm.

 Bàn để dụng cụ (1), ghế ngồi cho bác sĩ và kỹ thuật viên (2) và ghế ngồi cho người bệnh (1), giường người bệnh nằm (1), gối kê gáy người bệnh (1).

 Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

 Kẹp không mấu (1), kéo (1).

 Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn để sát trùng vùng chọc (1).

 Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25G đến 21G.

 Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).

 Hộp bằng thép không rỉ đựng bơm, kim tiêm sạch.

 Hộp đựng kim đã dùng, dụng cụ đựng bơm đã sử dụng, dụng cụ đựng bông đã dùng.

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ để ghi mã số Người bệnh.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm (phiến đồ).

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút trên phiến kính.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn/ete tỷ lệ 1/1).

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP…)

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, người thực hiện kỹ thuật, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng Người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc hút, dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Hộp thuốc chống sốc, ống nghe, máy đo huyết áp.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**3. Chuẩn bị người bệnh** (với các NB tỉnh táo, giao tiếp được với thầy thuốc)

 Giải thích cho người bệnh (hoặc người nhà người bệnh) về quy trình thực hiện, mục đích, nguy cơ, lợi ích để người bệnh yên tâm và hợp tác làm xét nghiệm.

 Khai thác tiền sử bệnh và các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng.

 Khám người bệnh xác định vị trí tổn thương cần chọc hút, màu sắc, số lượng, mật độ, kích thước, sự di động.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Bộc lộ vị trí cần chọc hút.

 Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

 Chọc hút để lấy bệnh phẩm: cố định vị trí tổn thương cần chọc bằng hai ngón bàn tay trái, tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm đâm vào tổn thương, hút dưới áp lực âm

để dịch chọc vào lòng kim, trước khi rút mũi kim ra khỏi mô cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da.

Tổn thương trong da có thể gây tê tại chỗ hoặc dùng kim nhỏ hơn (26G), vị trí kim để song song với bề mặt da, đỉnh mũi kim đâm vào da của mô cần chọc tạo một góc nhọn, không đặt vuông góc với da.

Có thể hút nhiều vị trí trên tổn thương (nếu kích thước tổn thương > 1,5cm).

Đối với tổn thương của mô mềm, tùy độ sâu của tổn thương, lựa chọn chiều dài kim cũng như đâm kim qua da với độ sâu thích hợp để tới đúng vùng tổn thương.

 Sát trùng lại vị trí đã chọc hút, băng lại (nếu cần).

**2. Làm phiến đồ**

 Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.

 Kéo pittông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

 Lắp kim vào bơm tiêm.

 Nhanh chóng phụt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số người bệnh.

 Dùng một phiến kính khác dàn bệnh phẩm trên các phiến kính có bệnh phẩm để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**3. Cố định phiến đồ**

Bằng một trong các phương pháp cố định phiến đồ tế bào học (đã nêu ở phần cố định phiến đồ).

**4. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay

May Grünwanld Giemsa hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**5. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học, do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Phiến đồ chọc hút phải có được đúng, đủ các thành phần tế bào của mô, cũng như các thành phần của tổn thương cần xác định.

 Các phiến đồ được dàn mỏng, đều, không chồng chất lên nhau.

 Các tế bào được bảo tồn tốt đúng với hình thái của mô và tổn thương.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ không thỏa đáng:

+ Quá nghèo tế bào hoặc không lấy được tế bào của tổn thương:

Do mũi kim chọc quá nông hoặc quá sâu: cần đâm mũi kim trúng tổn thương, hoặc không cố định tốt vùng cần chọc trong khi hút làm khối cần chọc di động: cần ấn ngón tay giữ chặt khối cần chọc.

+ Quá nhiều hồng cầu: không đổi hướng mũi kim khi kim đã đâm vào mô, tránh chảy máu khi chọc hoặc chọc thêm 1 mũi ở vị trí khác (khối > 1,5cm) nếu thấy nhiều máu.

+ Phiến đồ dàn quá dày hoặc kéo quá mạnh làm các tế bào chồng chất hoặc bị kéo dài, nát: cần phụt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.

+ Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.

+ Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.

 Người bệnh không hợp tác: thuyết phục giải thích.

 Chảy máu nhỏ tại nơi chọc hút: chỉ cần băng ép lại.

 Dịch chọc bị khô trong lòng kim hoặc trong đốc kim hoặc khô trên phiến kính trước khi dàn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dàn ngay, hoặc

bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

 Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh, khí quản…): rút ngay kim ra, cố định tốt vị trí cần chọc hút và chọc hút lại.

 Nên yêu cầu người bệnh không nhịn ăn trước khi tiến hành thủ thuật. Giải thích để người bệnh yên tâm. Nếu người bệnh bị choáng khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh

chóng cho người bệnh nằm xuống gường và xử trí chống choáng.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC CÁC DỊCH MÀNG BỤNG, MÀNG PHỔI, MÀNG TIM

**I. NGUYÊN TẮC**

Khi có tràn dịch, trong các dịch chứa các tế bào bong của màng phổi/màng tim/ màng bụng cũng như các tế bào từ các tổn thương có trên các màng này bong vào trong dịch. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Máy ly tâm.

 Ống hút (pipet) nhựa hoặc ống hút tự động.

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn etanol 95%).

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, Ziehl -Neelsen…)

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và để viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí dịch chọc và kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

Việc hút dịch và lấy dịch được thực hiện bởi các bác sĩ lâm sàng và gửi bệnh phẩm là dịch chọc hút được về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

Yêu cầu:

 Dịch chọc hút ra nên gửi ngay, nếu không gửi được ngay phải để trong tủ lạnh

4oC (không quá 48 giờ).

 Dịch phải được đặt trong ống hoặc lọ có sẵn chất chống đông.

 Số lượng dịch: phải đủ (thường trên 100ml).

 Phải quan sát và ghi rõ màu sắc, tính chất, số lượng dịch vào phiếu xét nghiệm.

**2. Kỹ thuật tập trung tế bào**

 Dịch để trong tủ lạnh cho lắng cặn, gạn bỏ phần trong, lấy phần cặn cho vào ống nghiệm, đặt vào máy ly tâm với tốc độ 1500 – 2000 vòng/phút x10 phút.

 Gạn bỏ phần trong bên trên, lấy phần lắng cặn tế bào bên dưới làm phiến đồ.

**3. Làm phiến đồ**

 Lắc nhẹ, đều dịch cặn trong ống

 Dùng ống hút hút dịch cặn dưới ống, nhỏ lên các phiến kính sạch (1-2 giọt/phiến kính) đã ghi sẵn mã người bệnh.

 Dùng một phiến kính khác áp trên giọt bệnh phẩm, dàn bệnh phẩm trên các phiến kính để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**4. Cố định phiến đồ**

Các phiến đồ được để khô 10-30 phút trong không khí ở môi trường sạch, cố định bằng cồn ethanol 95% trong 10 phút rồi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl -Neelsen hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào học.=

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: nên rửa thuốc nhuộm dưới vòi nước nhỏ, nên dùng phiến kính đã phủ chất kết dính (albumin).

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

 Tế bào thoái hóa tan rã không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể nên làm xét nghiệm càng sớm càng tốt hoặc phải để trong tủ lạnh.

Phiến đồ sau khi dàn và để khô cần cố định ngay.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt, nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt.

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH KHỚP

**I. NGUYÊN TẮC**

Khi có tràn dịch, trong dịch chứa các tế bào của màng hoạt dịch, ổ khớp cũng như các tế bào và các thành phần hữu hình khác từ các tổn thương có trong ổ khớp bong vào trong dịch. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Bơm và kim tiêm dùng để chọc hút.

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Máy ly tâm.

 Ống hút (pipet) nhựa hoặc ống hút tự động

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn etanol 95%).

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff Quik/HE/ PAP…)

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết.

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương, vị trí chọc lấy dịch và kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Người bệnh nằm hoặc ngồi.

 Bộc lộ vị trí khớp cần chọc hút.

 Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.

 Chọc hút để lấy bệnh phẩm: tay phải cầm kim có gắn bơm tiêm, đâm qua da vào khe khớp, hút dưới áp lực âm để dịch chọc chui vào trong lòng kim và kéo dịch vào

trong bơm tiêm. Nếu dịch nhiều, một tay giữ kim, một tay tháo bơm tiêm khỏi kim, thay bằng một bơm tiêm sạch khác để hút tiếp hoặc để kỹ thuật viên bơm dịch ra một lọ chứa có sẵn chất chống đông rồi lắp lại vào mũi kim, hút tiếp cho đến khi không còn dịch thì rút nhanh kim qua da (trước khi rút mũi kim ra khỏi khớp, không cần giải phóng áp lực âm do đẩy dịch trong bơm tiêm trở lại khớp).

 Sát trùng lại vị trí đã chọc hút, băng lại.

 Việc hút dịch và lấy dịch có thể được các bác sĩ lâm sàng thực hiện và gửi bệnh phẩm là dịch chọc hút được về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

Yêu cầu:

 Dịch chọc hút ra nên gửi ngay nếu không phải để trong tủ lạnh 4oC (không quá 48 giờ).

 Dịch phải được đặt trong ống hoặc lọ có sẵn chất chống đông.

 Số lượng dịch: phải đủ (thường 25-100ml).

 Phải quan sát và ghi rõ màu sắc, tính chất, số lượng dịch vào phiếu xét nghiệm.

**2. Kỹ thuật tập trung tế bào**

 Dịch để trong tủ lạnh cho lắng cặn, gạn bỏ phần trong, lấy phần cặn cho vào ống nghiệm, đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

 Gạn bỏ phần trong bên trên, lấy phần lắng cặn tế bào bên dưới làm phiến đồ.

**3. Làm phiến đồ**

 Lắc nhẹ, đều dịch cặn trong ống

 Dùng ống hút hút dịch cặn dưới ống, nhỏ lên các phiến kính (1-2giọt/phiến kính) đã ghi sẵn mã Người bệnh.

 Dùng một phiến kính khác áp trên giọt bệnh phẩm, dàn bệnh phẩm trên các phiến kính để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**4. Cố định phiến đồ**

Các phiến đồ được để khô 10-30 phút trong không khí ở môi trường sạch, cố định bằng cồn etanol 95% trong 10 phút rồi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl – Neelsen hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính

(albumin)

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

 Tế bào thoái hóa, tan rã, không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC NƯỚC TIỂU

**I. NGUYÊN TẮC**

Trong nước tiểu chứa các tế bào của thận, đài bể thận, niệu quản, bàng quang, niệu đạo, tiền liệt tuyến, túi tinh cũng như các tế bào từ các tổn thương có trên các cơ quan này bong vào trong nước tiểu. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Ống hút tự động.

 Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm

 Máy trộn (khuấy)

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ cồn etanol 95o.

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP…).

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương và kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các bác sĩ lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học. Có thể lấy nước tiểu bài tiết hoặc nước tiểu qua

ống thông.

Yêu cầu:

 Lấy nước tiểu bài tiết: không lấy nước tiểu đi lần đầu vào buổi sáng, nên lấy sau lần đi tiểu gần nhất 3-4 giờ, lấy nước tiểu giữa dòng.

 Lấy trực tiếp vào các ống nghiệm hoặc lọ.

 Trong trường hợp nghi ngờ có ung thư cổ tử cung phải lấy qua ống thông

 Trong trường hợp nghi ngờ có ung thư thận, nước tiểu được lấy tại chỗ, mỗi bên thận dùng ống nghiệm riêng đã đánh dấu.

 Lượng nước tiểu trung bình cần lấy 25-100ml.

 Nước tiểu vừa lấy ra phải lấy làm xét nghiệm ngay (không quá 1 giờ dù để trong tủ lạnh) nhưng tốt nhất nên cố định ngay (tiền cố định) bằng cách trộn 50 ml nước tiểu với 50 ml cồn 50o (hoặc focmol 10% và saponin 2%) để tránh tan rã các tế bào và

đánh giá đúng tổn thương.

 Phải quan sát và ghi rõ màu sắc, tính chất, số lượng nước tiểu vào phiếu xét nghiệm.

**2. Kỹ thuật tập trung tế bào**

 Nước tiểu lấy ra được ly tâm 10 phút x 2000 vòng/phút.

 Gạn bỏ phần trong lấy phần cặn.

 Hút dung dịch carbowax 2% trong cồn cho vào dịch cặn với thể tích tương đương.

 Cho vào máy trộn để tránh vón tế bào.

 Đặt thẳng đứng ống dịch trong 10 phút.

 Ly tâm 10 phút x 2000 vòng/phút.

 Gạn bỏ phần trong, lấy phần cặn cho vào máy trộn.

**3. Làm phiến đồ**

 Hút dịch cặn bằng pipet tự động và nhỏ lên phiến kính sạch đã ghi rõ mã người bệnh.

 Dùng phiến kính thứ 2 đè lên dịch cặn và dàn đều, nhẹ tay để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**4. Cố định phiến đồ**

 Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch, không bụi.

 Ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95o trước khi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl - Neelsen hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ phải có ít nhất một vài tế bào biểu mô đường niệu, không có quá nhiều tế bào thoái hóa.

 Phiến đồ được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính (albumin).

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay.

 Tế bào thoái hóa tan rã không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH CHẢI PHẾ QUẢN

**I. NGUYÊN TẮC**

Với những tổn thương vùng bề mặt niêm mạc phế quản, khi nội soi phế quản, vừa có thể quan sát trực tiếp tổn thương, vừa có thể dùng bàn chải chải bề mặt phế quản tổn thương lấy các tế bào làm phiến đồ. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Ống hút tự động.

 Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm

 Máy trộn (khuấy)

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ cồn etanol 95o

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, Ziehl - Neelsen…).

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương và kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các khoa lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

 Mẫu lấy được có thể phết trực tiếp lên các phiến kính sạch, đã ghi sẵn mã số người bệnh, cố định bằng cồn ethanol 95o và chuyến xuống khoa giải phẫu bệnh - tế bào

bệnh học, nhuộm phiến đồ theo một trong những phương pháp nhuộm tế bào học.

 Hoặc rửa bàn chải trong dung dịch sinh lý (salin vô trùng) rồi làm phiến đồ tế bào học dịch như sau:

 Dịch lấy ra chuyển ngay đến làm xét nghiệm hoặc cho ngay vào hộp có nắp đậy chứa 50ml dung dịch tiền cố định pha sẵn.

 Dung dịch tiền cố định: 50ml cồn 70% hoặc dung dịch 2% carbowax trong cồn

50% với thể tích tương đương.

**2. Kỹ thuật làm tan nhày và tập trung tế bào**

 Nếu dịch có nhiều nhày

- 50ml dung dịch chải phế quản trong lọ đã pha sẵn dung dịch cố định, dùng bi sắt đánh tan chất nhày hoặc dùng máy trộn xoáy đặt đứng trong nhiệt độ phòng 30-60

phút hoặc cho vào máy xay tốc độ cao trong 5-10 giây, nếu chưa tan nhày lại xay tiếp

5-10 giây hoặc cho chất làm tan nhày vào mẫu dịch đã cố định .

 Nếu không nhày: quy trình giống làm cặn nước tiểu.

 Cho mẫu đã tan nhày đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

 Gạn bỏ phần trong bên trên, để lại vài giọt cùng phần lắng cặn tế bào bên dưới

(1-2ml).

 Lấy phần cặn lắc trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

**3. Làm phiến đồ**

 Dùng ống hút hút dịch cặn đã được trộn nhỏ lên phần trung tâm của các phiến kính đã ghi sẵn mã người bệnh (1-2 giọt/phiến kính nếu cặn giàu tế bào; 3-4 giọt nếu cặn lỏng, nhiều nước).

 Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cặn, dàn nhẹ, đều bệnh phẩm giữa hai phiến kính để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

4. Cố định phiến đồ

 Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch, không bụi.

 Ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95o trước khi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl – Neelsen hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính (albumin).

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay.

 Tế bào thoái hóa tan rã không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH RỬA VÀ HÚT PHẾ QUẢN

**I. NGUYÊN TẮC**

Trong dịch rửa và hút phế quản chứa các tế bào bong ra của phổi, phế quản cũng như các tế bào từ các tổn thương có trên các cơ quan này bong vào trong dịch. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Ống hút tự động.

 Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm.

 Máy trộn (khuấy).

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ cồn ethanol 95o.

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, Ziehl - Neelsen…).

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết.

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương và kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các khoa lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

\* Yêu cầu:

 Dịch lấy ra chuyển ngay đến làm xét nghiệm hoặc cho ngay vào hộp có nắp đậy chứa 50ml dung dịch tiền cố định pha sẵn.

 Dung dịch tiền cố định: 50ml cồn 70% hoặc dung dịch 2% carbowax trong cồn 50% với thể tích tương đương.

**2. Kỹ thuật làm tan nhày và tập trung tế bào**

 Nếu dịch có nhiều nhày

 50ml dung dịch rửa phế quản trong lọ đã pha sẵn dung dịch cố định, dùng bi sắt đánh tan chất nhày hoặc dùng máy trộn xoáy đặt đứng trong nhiệt độ phòng 30-60 phút hoặc cho vào máy xay tốc độ cao trong 5-10 giây, nếu chưa tan nhày lại xay tiếp 5-10 giây hoặc cho chất làm tan nhày vào mẫu dịch đã cố định .

 Nếu không nhày: quy trình giống làm cặn nước tiểu.

 Cho mẫu đã tan nhày đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

 Gạn bỏ phần trong bên trên, để lại vài giọt cùng phần lắng cặn tế bào bên dưới

(1-2ml).

 Lấy phần cặn lắc trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

**3. Làm phiến đồ**

 Dùng ống hút hút dịch cặn đã được trộn, nhỏ lên phần trung tâm của các phiến kính đã ghi sẵn mã người bệnh (1-2 giọt/phiến kính nếu cặn giàu tế bào; 3-4 giọt nếu cặn lỏng, nhiều nước).

 Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cặn, dàn nhẹ, đều bệnh phẩm giữa hai phiến kính để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**4. Cố định phiến đồ**

 Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch, không bụi.

 Ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95o trước khi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl – Neelsen hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính

(albumin)

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

 Tế bào thoái hóa tan rã không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH CÁC TỔN THƯƠNG DẠNG U NANG

**I. NGUYÊN TẮC**

Trong dịch hút chứa các tế bào bong ra từ các tổn thương dạng u nang. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Ống hút tự động.

 Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm

 Máy trộn (khuấy)

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ cồn ethanol 95o.

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, …).

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết.

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh, đặc điểm tổn thương và kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học hoặc bác sĩ lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

Yêu cầu: hút hết dịch trong u nang cho vào các lọ chứa chất chống đông.

 Chuyển đến phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học ngay: không cần cố định và được để trong tủ lạnh, sau đó làm phiến đồ.

 Nếu để lâu, phải cho vào lọ chứa chất tiền cố định với thể tích tương đương.

 Dung dịch tiền cố định: cồn ethanol 50% hoặc dung dịch 2% carbowax trong cồn 50% với thể tích tương đương.

**2. Kỹ thuật tập trung tế bào**

 Dịch để trong tủ lạnh cho lắng cặn, gạn bỏ phần trong, lấy phần cặn cho vào ống nghiệm, đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

 Gạn bỏ phần trong bên trên, lấy phần lắng cặn tế bào bên dưới (1-2ml)

 Lắc trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

**3. Cố định phiến đồ**

 Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch không bụi.

 Trước khi nhuộm, ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95o.

**4. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl – Neelsen hoặc HE (như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính (albumin)

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

 Tế bào thoái hóa, tan rã, không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt.

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC DỊCH RỬA Ổ BỤNG

**I. NGUYÊN TẮC**

Trong dịch rửa ổ bụng chứa các tế bào bong ra của màng bụng, tiểu khung, túi cùng cũng như các tế bào bong từ các tổn thương có trong vùng đó. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào trong dịch, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Găng tay vô trùng, khẩu trang.

 Ống hút tự động.

 Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm

 Máy trộn (khuấy)

 Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

 Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

 Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ cồn etanol 95o

 Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, Ziehl - Neelsen…).

 Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

 Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

 Các dung dịch sát khuẩn.

 Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết (1).

 Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

 Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng Người bệnh, đặc điểm tổn thương, kết quả chẩn đoán.

 Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

 Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các khoa lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

Yêu cầu: dịch hút ra phải cho vào các lọ chứa chất chống đông.

 Chuyển đến phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học luôn: không cần cố định và được để trong tủ lạnh, sau đó làm phiến đồ.

 Nếu để lâu, phải cho vào hộp chứa chất tiền cố định với thể tích tương đương.

 Dung dịch tiền cố định: cồn etanol 50% hoặc dung dịch 2% carbowax trong cồn 50% với thể tích tương đương.

**2. Kỹ thuật tập trung tế bào**

 Dịch để trong tủ lạnh cho lắng cặn, gạn bỏ phần trong, lấy phần cặn cho vào ống nghiệm, đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

 Gạn bỏ phần trong bên trên, lấy phần lắng cặn tế bào bên dưới (1-2ml)

 Lắc trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

**3. Làm phiến đồ**

 Dùng ống hút hút dịch cặn đã được trộn nhỏ lên phần trung tâm của các phiến kính đã ghi sẵn mã người bệnh (1-2 giọt/phiến kính nếu cặn giàu tế bào; 3-4 giọt nếu cặn lỏng, nhiều nước).

 Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cặn, dàn nhẹ, đều bệnh phẩm giữa hai phiến kính để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**4. Cố định phiến đồ**

 Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch, không bụi.

 Ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95o trước khi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl – Neelsen hoặc HE như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

 Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

 Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

 Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

 Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính

(albumin)

 Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

 Tế bào thoái hóa, tan rã, không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

 Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

 Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

 Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.

# KỸ THUẬT LẤY BỆNH PHẨM LÀM PHIẾN ĐỒ CỔ TỬ CUNG - ÂM ĐẠO

**I. NGUYÊN TẮC**

Dựa vào nguyên lý các tế bào bình thường hoặc bất thường của cổ tử cung – âm đạo có thể bị bong ra khi lấy bằng các dụng cụ lấy tế bào, các tế bào này được dàn mỏng lên các phiến kính và các bác sĩ giải phẫu bệnh và/hoặc bác sĩ tế bào bệnh học có thể phát hiện được chúng sau khi nhuộm bằng những phương pháp thích hợp. Phải lấy bệnh phẩm trúng vùng tổn thương (nếu có) và đủ lượng cần thiết, nghĩa là cần lấy bệnh phẩm cả ở cổ ngoài, cổ trong, đặc biệt ở vùng chuyển tiếp giữa cổ ngoài và cổ trong cổ tử cung.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

 Bác sĩ chuyên khoa sản phụ hoặc bác sĩ đã được tập huấn cách lấy bệnh phẩm: 01

 Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Bàn khám phụ khoa.

 Mỏ vịt sạch các cỡ khác nhau.

 Đèn gù.

 Tăm bông

 Kẹp dài

 Phiến kính có đầu mờ.

 Dụng cụ lấy tế bào (quệt bẹt Ayre cải tiến, chổi lấy tế bào, bàn chải lấy tế bào).

 Nước muối sinh lý 9‰.

 Dung dịch cố định bệnh phẩm (cồn tuyệt đối hoặc cồn- ete tỷ lệ 1/1 hoặc dung dịch cố định dạng xịt).

 Giá đựng phiến đồ (đứng và nằm ngang).

 Phiếu xét nghiệm: ghi đầy đủ thông tin về tuổi, tình trạng kinh nguyệt, biện pháp tránh thai đang dùng, tiền sử bệnh và chẩn đoán lâm sàng hiện tại.

 Bút chì mềm.

 Nguồn cấp nước chảy.

 Găng tay các loại, khẩu trang, áo choàng y tế.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị**

**1.1. Người bệnh**

 Không trong ngày có kinh nguyệt.

 Không làm những thủ thuật, can thiệp trước khi lấy bệnh phẩm như: kiêng giao hợp ít nhất 3 ngày; không thăm âm đạo trước bằng tay; không rửa âm đạo trong vòng 24 giờ trước đó, không đặt thuốc trong âm đạo; không bôi các chất dùng cho các thử nghiệm khác (lugol, acid acetic), không thoa dầu vào mỏ vịt; không nạo hoặc làm sinh thiết trước (trừ khi muốn xét nghiệm tế bào học chất nạo, mảnh sinh thiết).

 Vì xét nghiệm tế bào học thường đi đôi với soi cổ tử cung nên trình tự phối hợp như sau: đặt mỏ vịt khô, lấy bệnh phẩm tế bào, soi cổ tử cung.

1.2. Chuẩn bị dụng cụ lấy bệnh phẩm

 Hai loại dụng cụ được sử dụng là quệt bẹt (spatula) Ayre cải tiến và chải tế bào (cytobrush), trong đó quệt bẹt Ayre cải tiến hiện được sử dụng rộng rãi.

 Dùng quệt bẹt Ayre cải tiến cỡ khác nhau để thích hợp với từng phụ nữ. Đầu nhọn dài của quệt đưa vào ống cổ trong để đảm bảo lấy được đủ bệnh phẩm vùng chuyển tiếp khi quệt, gại vào đó.

**2. Tiến hành lấy bệnh phẩm**

Ở đây, chỉ nêu cách dùng quệt Ayre cải tiến.

 Sau khi bộc lộ cổ tử cung bằng mỏ vịt đã được khử trùng (để khô hay làm trơn bằng nước sạch), dùng gạc hay bông lau sạch mặt ngoài cổ tử cung.

 Chọn quệt Ayre cải tiến thích hợp với từng người.

 Đưa đầu dài của quệt vào trong ống cổ tử cung và cạnh ngang tựa sát vào mặt ngoài cổ tử cung ở vị trí 3 giờ hoặc 9 giờ (tuỳ thói quen).

 Lấy tế bào bằng cách quay từ từ quệt bẹt theo chiều kim đồng hồ đủ 1 vòng

360o, luôn giữ áp lực cạo, gại vừa phải, hằng định và sao cho 2 cạnh của ngoàm liên tục tiếp xúc mật thiết với cả niêm mạc cổ ngoài và cổ trong cổ tử cung. Nếu ống cổ tử cung giãn rộng, đầu quệt có thể bị lạc hướng. Sau động tác cạo, gại, không thấy có máu, việc lấy bệnh phẩm coi như chưa đầy đủ, có thể lặp lại việc quay quệt bẹt 1- 2 vòng nữa.

 Dùng đầu kia của quệt bẹt gại vào vùng túi cùng âm đạo để lấy thêm phiến đồ túi cùng âm đạo.

**3. Làm phiến đồ**

 Phiến đồ được làm từ bệnh phẩm lấy bằng đầu nhọn của quệt bẹt có ý nghĩa quan trọng nhất đối với việc phát hiện tổn thương u.

 Có thể dàn (phết) bệnh phẩm cổ tử cung lên phiến kính theo 2 cách:

+ Dàn làm 2 lần: mũi dọc của đầu nhọn quệt bẹt được dàn lên phần trên, song song với bờ trên của phiến kính (các tế bào u nếu có, thường tìm thấy ở vùng này), cánh ngang của đầu nhọn quệt bẹt dàn bệnh phẩm ở đó xuống phần dưới phiến kính, cũng song song với bờ dưới phiến kính. Bằng cách này có thể định vị được tổn thương thuộc cổ ngoài hay ở vùng chuyển tiếp giữa cổ ngoài và cổ trong cổ tử cung. Đối với tổn thương phát hiện được ở cổ ngoài, sẽ rất có ý nghĩa khi soi cổ tử cung âm tính, có thể chọn vùng sinh thiết.

+ Dàn phiến đồ làm 1 lần:

 Dàn phiến đồ 1: dàn đồng thời cả cánh dọc lẫn cánh ngang của đầu nhọn quệt bẹt Ayre làm 1 thì trên phiến đồ 1. Các tế bào bất thường có thể thấy rải ra trên phiến đồ,

phản ánh tổn thương của người bệnh không phân biệt định vị cổ trong hay cổ ngoài cổ tử cung.

 Dàn phiến đồ 2 (lấy từ túi cùng âm đạo sau) bằng đầu bẹt của quệt Ayre như thông lệ.

**4. Cố định**

 Nhúng phiến đồ vào cồn etanol 95o trong 30 phút. Cũng có thể dùng dung dịch cồn ete tỷ lệ 1/1 hoặc cồn metanol tuyệt đối hoặc sử dụng chất cố định bán sẵn trên thị

trường dưới dạng bơm khí dung rất dễ thao tác: chỉ cần ấn đều nút bơm một lần là đủ cho tia khí dung chất cố định phủ kín bệnh phẩm trên phiến đồ và lập tức cố định phiến đồ.

 Có thể cố định bằng để phiến đồ tự khô trong không khí, trước khi nhuộm cần làm cho phiến đồ ướt lại ở phòng xét nghiệm bằng glycerol 50% trong 2 phút.

**IV. KẾT QUẢ**

 Phiến đồ mỏng đều, không có hoặc ít chất nhầy, có tế bào của cổ trong, cổ ngoài cổ tử cung, âm đạo và được cố định tốt.

 Có đầy đủ và chính xác các thông tin của người bệnh.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Không bôi trơn mỏ vịt bằng dầu parafin vì dầu sẽ lẫn với các tế bào và cản trở bắt màu của các tế bào.

 Bệnh phẩm phải được cố định ngay sau khi lấy, nếu không cố định hoặc cố định không đúng cách sẽ làm hư hại các tế bào và buộc phải lấy lại bệnh phẩm.

 Phiến đồ nếu chồng chất tế bào sẽ gây khó nhận định, cần dàn mỏng, đều.

 Không để các phiến đồ dính vào nhau, nếu dính vào nhau sẽ lẫn bệnh phẩm từ phiến đồ này sang phiến đồ kia. Nếu đã bị dính, chỉ có cách lấy lại bệnh phẩm.

 Để phiến đồ không dính vào nhau, cần xếp phiến đồ vào các giá, hộp có rãnh, theo thứ tự.

# NHUỘM PAPANICOLAOU

**I. NGUYÊN TẮC**

Nhuộm Papanicolaou còn được gọi là “nhuộm PAP”, là một loại kỹ thuật tế bào học nhuộm đa sắc, dùng để phân biệt tế bào trên phiến đồ được lấy từ các dịch hoặc từ tế bào bong của cơ thể. Cho đến nay, cơ chế nhuộm của kỹ thuật vẫn chưa được hiểu một cách đầy đủ. Dạng kinh điển của nhuộm PAP gồm 5 loại phẩm màu, được pha thành 3 dung dịch:

 Hematoxylin (phẩm nhuộm base): nhuộm nhân tế bào

 Orang G (gồm acid photphotungstic và OG-5, OG-8): nhuộm chất keratin có trong tế bào.

 Phẩm EA (Eosin Azure): gồm 3 loại phẩm (EA-36, EA-50, EA-65). Eosin Y

nhuộm các tế bào vảy bề mặt, hạt nhân, hồng cầu. Xanh lá cây nhạt SF (Light Green).

Ánh vàng dùng để nhuộm bào tương của các loại tế bào khác (tế bào vảy không sừng hóa). Nâu Bismarck Y do không nhuộm thành phần nào nên trong công thức nhuộm hiện tại, một số phòng xét nghiệm đã bỏ đi.

**II. CHUẨN BỊ**

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

2. Phương tiện, hóa chất

 Dung dịch cố định phiến đồ: cồn/ete tỷ lệ 1/1.

 Cồn (50o,70o, 80o, 90o, 95o, 100o)

 Cồn – acid 0,5% (5ml acid HCl với 1000ml cồn 50o).

 Xylen (toluen)

 Nước cất 2 lần

 Lá kính, phiến kính.

 Tủ ấm 37o và 56o

 Tủ lạnh

 Điều hòa nhiệt độ

 Tủ hốt phòng thí nghiệm

 Bể nhuộm bằng thủy tinh

 Bể thủy tinh đựng cồn, xylen

 Giá đựng phiến đồ (đứng và nằm ngang)

 Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.

 Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.

 Kẹp không mấu, kéo.

 Giấy lọc

 Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.

 Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.

 Nguồn cấp nước chảy.

 Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.

 Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây), bao gồm: Hematoxylin Harris, dung dịch màu da cam (Orange G), hỗn hợp EA50, dung dịch xylen - cồn, dung dịch cồn - ete.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Cố định**

*\* Chuẩn bị phẩm nhuộm*

1.1. Hematoxylin Harris (xem phần nhuộm HE)

1.2. Dung dịch màu da cam (Orange G) (có sẵn trên thị trường)

Orange G 0,5% trong cồn 95º: 100 ml

Acid Photphotungstic: 0,015g

1.3. Hỗn hợp EA50 (có sẵn trên thị trường)

Xanh nhạt - vàng nhạt ( Light Green SF - yellowish): 0,375g

Nâu BISMARCK Y (Bismarck brown Y): 0,4g

Eosin vàng nhạt: 2,5g

Nước cất vừa đủ: 50ml

Cồn 96º: 609g

Cồn (metanol) tuyệt đối:160g

Acid Photphotungstic trong cồn 50º (1,7g/5ml): 5ml

Lithicacbonat bão hòa: 0,5ml

Acid acetic lạnh: 1ml

1.4. Dung dịch xylen - cồn

Cồn etanol tuyệt đối - xylen 40%: tỷ lệ 1/1

1.5. Dung dịch cồn - ete

Cồn 95º - ete: tỷ lệ 1/1

*\* Tiến hành kỹ thuật*

 Phiến đồ được cố định trong cồn - ete: 30 giây

 Chuyển liên tục trong các bể cồn 80º, 70º rồi 50º, mỗi bể 5 lần nhúng

 Rửa nước cất

 Nhuộm trong hematoxylin Harris: 3 - 6 phút

 Rửa nước cất

 Nhúng 5 - 6 lần trong dung dịch HCl 0,25%

 Rửa nước chảy trong 6 phút rồi qua nước cất khoảng 30 giây

 Chuyển liên tục trong các bể cồn 50º, 70º, 80º rồi 95º: mỗi bể 5 lần nhúng

 Nhỏ Orange G phủ kín bệnh phẩm: khoảng 1 - 3 phút

 Chuyển liên tục qua 2 bể cồn 95º: mỗi bể 5 lần nhúng

 Nhuộm trong hỗn hợp đa sắc “EA50” trong khoảng 1 - 4 phút

 Chuyển liên tục trong các bể cồn 95º rồi 100º: mỗi bể 5 lần nhúng

 Khử nước bằng cồn 95° và 100°

 Làm trong bằng 3 bể toluen sạch

 Gắn lá kính bằng bôm như thường lệ.

**IV. KẾT QUẢ**

 Nhân: xanh xám hoặc tím

 Bào tương tế bào ưa acid: đỏ hồng, đỏ tươi hoặc vàng da cam

 Các tế bào ưa base: xanh nhạt, đôi khi xanh ve nhạt.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

Cần tuân thủ thời gian nhuộm nhân bằng hematoxylin vì nếu không nhân tế bào sẽ rất đậm màu, dễ gây hiện tượng dương tính giả.

# NHUỘM GIEMSA TRÊN PHIẾN ĐỒ

**I. NGUYÊN TẮC**

Phương pháp nhuộm Giemsa được gọi theo tên của nhà vi khuẩn học người Đức, Gustab Giemsa (1867-1948), khi ông sử dụng phương pháp này để tìm ký sinh trùng sốt rét và các ký sinh trùng khác (các sinh vật đơn bào, xoắn khuẩn) trên phiến đồ tế bào học. Sau đó, kỹ thuật còn được áp dụng cho nhuộm các Chlamydia, phiến đồ máu, các thể vùi virus. Nguyên lý của phương pháp này dựa trên nhóm phophat của phẩm nhuộm gắn với liên kết adenin - thymin, liên kết có nhiều ở DNA trong tế bào. Phản ứng oxy hóa sẽ tạo ra màu xanh của metylen ở nhân tế bào, bào tương tế bào có thể bắt màu xanh hoặc hồng. Hiện nay, phương pháp nhuộm Giemsa được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán tế bào học trên các phiến đồ chọc hút kim nhỏ hay phiến đồ áp.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

 Dung dịch cố định bệnh phẩm.

 Cồn 95o.

 Cồn etanol 1000.

 Xylen.

 Nước cất

 Phẩm nhuộm Giemsa.

 Lá kính.

 Chất gắn Permount.

 Giá đựng phiến đồ (đứng và nằm ngang).

 Kính hiển vi quang học.

 Phiếu xét nghiệm.

 Nguồn cấp nước chảy.

 Găng tay các loại, khẩu trang, áo choàng y tế.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị phẩm nhuộm**

Pha phẩm nhuộm: có thể dùng dung dịch pha sẵn bán trên thị trường. Nếu không có phẩm nhuộm bán sẵn, pha phẩm nhuộm như sau (cách pha của L.G.Koss,1992):

Azur II cosin: 2g

Azur II: 1g

Azur B - cosin: 1g

Azur A - cosin: 0,5g

 Trộn 250ml glycerin với 250ml cồn metanol

 Hoà tan các thuốc nhuộm trên vào dung dịch glycerin cồn metanol đã trộn.

 Để yên thuốc qua đêm ở nhiệt độ phòng (tốt nhất, nên để ở tủ ấm).

 Lắc mạnh hỗn hợp từ 5 - 10 phút

 Đổ không cần lọc vào 1 lọ thuỷ tinh tối màu, nút mài, bảo quản ở nhiệt độ phòng (ta được dung dịch Giemsa mẹ).

**2. Tiến hành nhuộm**

Phiến đồ sau khi đã được cố định, tiến hành các bước sau:

 Pha loãng 5ml dung dịch Giemsa mẹ vào 65ml nước.

 Nhúng phiến đồ vào nước cất: 15 lần

 Nhuộm trong Giemsa pha loãng: 2 giờ

 Nhúng nhanh phiến đồ qua acid acetic 1%: 1 lần

 Thấm khô phiến đồ bằng giấy thấm

 Nhúng trong cồn etanol 1000: đến lúc cồn ra khỏi phiến kính chỉ có màu xanh lơ nhạt mới thôi.

 Nhúng qua xylen I: 10 lần nhúng

 Nhúng qua xylen II: 10 lần nhúng

 Gắn lá kính bằng Permount.

**IV. KẾT QUẢ**

 Sắt/ hemosiderin: màu xanh.

 Hồng cầu: màu vàng.

 Bạch cầu đa nhân trung tính: màu tím

 Bạch cầu đa nhân ái toan: màu đỏ

 Các loại tế bào khác: nhân màu tím đỏ, bào tương xanh nhạt.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

 Độ dày của các phiến đồ cần được chuẩn bị đúng cách (tùy loại xét nghiệm), cần để khô trước khi nhuộm.

 Thời gian nhuộm phụ thuộc loại bệnh phẩm và độ dầy của bệnh phẩm, nhiệt độ phòng.

 Khi nhuộm, cần phủ đủ lượng phẩm nhuộm trên phiến đồ, phủ kín phần có bệnh phẩm, tránh để phiến đồ bị khô trong thời gian nhuộm và bệnh phẩm trên phiến đồ

bị bỏ sót không được nhuộm, sẽ không đánh giá đúng tổn thương.

 Khâu rửa nước không tốt sẽ để lại cặn thuốc nhuộm trên phiến đồ. Khắc phục bằng cách lọc phẩm nhuộm trước khi dùng, rửa phiến đồ dưới vòi nước chảy.

 Nước chảy phải sạch, không có cặn, vì cặn bẩn sẽ bám lại trên phiến đồ. Có thể sử dụng nước qua lõi lọc hoặc dùng bông để lọc nước.

 Không sử dụng phẩm nhuộm khi đã hết hạn sử dụng, do vậy, cần kiểm tra hạn dùng của phẩm nhuộm trước khi tiến hành nhuộm.

 Để đảm bảo chất lượng phẩm nhuộm Giemsa mẹ, cần đậy chặt nút chai phẩm nhuộm để tránh bay hơi. Thuốc nhuộm đã pha loãng, phải dùng ngay, dùng không hết

phải bỏ đi. Không dùng lại thuốc nhuộm thừa, để lại từ trước.

# KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC ĐỜM

**I. NGUYÊN TẮC**

Trong đờm chứa các tế bào bong ra của phổi, phế quản, khí quản và đường hô hấp trên cũng như các tế bào từ các tổn thương có trên các cơ quan này bong vào trong đờm. Vì vậy, cần lấy được các tế bào này và nhận định loại tế bào, hình thái, số lượng tế bào, sự sắp xếp tế bào, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để chẩn đoán bệnh.

**II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 01

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Găng tay vô trùng, khẩu trang.

- Ống hút tự động.

- Máy ly tâm và các lọ đựng dịch ly tâm

- Máy trộn (khuấy)

- Phiến kính sạch, một đầu mài mờ.

- Giá để đựng phiến kính đã dàn bệnh phẩm.

- Bút chì mềm ghi mã số Người bệnh, vị trí chọc hút.

- Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn

+ cồn ethanol 95o

- Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quik/HE/ PAP, Ziehl - Neelsen…).

- Các dụng cụ để nhuộm: khay, giá, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.

- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên phiến kính.

- Các dung dịch sát khuẩn.

- Kính hiển vi quang học, bàn có mặt phẳng, đủ rộng để đặt kính hiển vi và viết (1).

- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, số lượng đờm, màu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.

- Sổ hoặc máy tính ghi lại thông tin của từng người bệnh và kết quả chẩn đoán.

- Các sọt rác đựng rác thải y tế, rác thải thường.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

- Việc lấy mẫu được thực hiện bởi các khoa lâm sàng và gửi bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

\* Yêu cầu:

- Lấy đờm của đường hô hấp dưới (để chẩn đoán tổn thương của phế quản - phổi).

- Lấy đờm của buổi sáng sớm, trước khi ăn uống.

- Số mẫu đờm cần lấy: 3-5 mẫu.

- Người bệnh hít thở sâu, ho mạnh và khạc đờm vào một hộp miệng rộng, làm lại nhiều lần.

- Chuyển ngay bệnh phẩm đến làm xét nghiệm (Người bệnh trong bệnh viện)

hoặc pha sẵn 50ml dung dịch tiền cố định trong hộp đựng đờm (nếu lấy đờm từ nhà).

- Dung dịch tiền cố định: 50ml cồn 70% hoặc dung dịch 2% carbowax trong cồn 50% với thể tích tương đương.

**2. Kỹ thuật làm tan nhày và tập trung tế bào**

- 50ml dung dịch đờm trong lọ đã pha sẵn dung dịch cố định, dùng bi sắt đánh tan đờm hoặc dùng máy trộn xoáy đặt đứng trong nhiệt độ phòng 30-60 phút hoặc cho

vào máy xay tốc độ cao trong 5-10 giây, nếu chưa tan nhày lại xay tiếp 5-10 giây hoặc cho chất làm tan nhày vào mẫu đờm đã cố định .

- Cho mẫu đã tan nhày đặt vào máy ly tâm với tốc độ 2000 vòng/phút x10 phút.

- Gạn bỏ phần trong bên trên, để lại vài giọt cùng phần lắng cặn tế bào bên dưới (1-2ml).

- Lấy phần cặn lắc trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

**3. Làm phiến đồ**

- Dùng ống hút hút dịch cặn đã được trộn, nhỏ lên phần trung tâm của các phiến kính đã ghi sẵn mã Người bệnh (1-2 giọt/phiến kính nếu cặn giàu tế bào; 3-4 giọt nếu cặn lỏng, nhiều nước).

- Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cặn, dàn nhẹ, đều bệnh phẩm giữa hai phiến kính để bệnh phẩm được dàn mỏng, đều.

**4. Cố định phiến đồ**

- Các phiến đồ để khô trong không khí 10-30 phút trong môi trường sạch, không bụi.

- Ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95o trước khi nhuộm.

**5. Nhuộm các phiến đồ**

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwanld Giemsa, Ziehl - Neelsen hoặc HE như đã nêu ở mục nhuộm phiến đồ tế bào học).

**6. Nhận định kết quả**

Trên kính hiển vi quang học do bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

**IV. KẾT QUẢ**

- Các phiến đồ giàu tế bào, được dàn mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau.

- Hình thái các tế bào được bảo tồn tốt.

- Các tế bào bắt màu rõ ràng, phân biệt được rõ hình thái của nhân và bào tương.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Phiến đồ bị mất tế bào vào trong dịch cố định: cần để khô sau khi dàn 10-30 phút trước khi cố định bằng cồn.

- Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng phiến kính có phủ chất dính

(albumin)

- Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay

- Tế bào thoái hóa tan rã không nhận định được hình thái nhân và bào tương:

dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay hoặc phải tiền cố định.

- Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt .

- Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.

- Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần dàn nhẹ tay.