

BỘ Y TẾ

**HƯỚNG DẪN
QUY TRÌNH KỸ THUẬT
CHUYÊN NGÀNH GIẢI PHẪU BỆNH,
TẾ BÀO HỌC**

*(Ban hành kèm theo Quyết định số 5199/QĐ-BYT
ngày 25 tháng 12 năm 2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

**NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2016**

Hà Nội, ngày 25 tháng 12 năm 2013

QUYẾT ĐỊNH
Về việc ban hành tài liệu
“Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh - Tế bào học”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật khám bệnh, chữa bệnh năm 2009;

Căn cứ Nghị định số 63/2012/NĐ-CP ngày 31/8/2012 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Xét Biên bản họp của Hội đồng nghiệm thu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành Giải phẫu bệnh - Tế bào học của Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh - Tế bào học”, gồm 146 quy trình kỹ thuật.

Điều 2. Tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Giải phẫu bệnh - Tế bào học” ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Căn cứ vào tài liệu hướng dẫn này và điều kiện cụ thể của đơn vị, Giám đốc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành tài liệu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật Giải phẫu bệnh - Tế bào học phù hợp để thực hiện tại đơn vị.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Chánh Thanh tra Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Cục trưởng và Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế, Giám đốc các bệnh viện, viện có giường bệnh trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương, Thủ trưởng Y tế các Bộ, Ngành và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng Bộ Y tế (để b/c);
- Các Thứ trưởng BHYT;
- Bảo hiểm Xã hội Việt Nam (để phối hợp);
- Cổng thông tin điện tử BHYT;
- Website Cục KCB;
- Lưu VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG

THỨ TRƯỞNG

Đã ký

Nguyễn Thị Xuyên

LỜI NÓI ĐẦU

Bộ Y tế đã xây dựng và ban hành Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật bệnh viện tập I (năm 1999), tập II (năm 2000) và tập III (năm 2005), các quy trình kỹ thuật đó là quy chuẩn về quy trình thực hiện các kỹ thuật trong khám, chữa bệnh.

Tuy nhiên, trong những năm gần đây khoa học công nghệ trên thế giới phát triển rất mạnh, trong đó có các kỹ thuật công nghệ phục vụ cho ngành y tế trong việc khám bệnh, điều trị, theo dõi và chăm sóc người bệnh. Nhiều kỹ thuật, phương pháp trong khám bệnh, chữa bệnh đã được cải tiến, phát minh, nhiều quy trình kỹ thuật chuyên môn trong khám bệnh, chữa bệnh đã có những thay đổi về mặt nhận thức cũng như về mặt kỹ thuật.

Nhằm cập nhật, bổ sung và chuẩn hóa các tiến bộ mới về số lượng và chất lượng kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh, Bộ trưởng Bộ Y tế đã thành lập Ban Chỉ đạo xây dựng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh do lãnh đạo Bộ Y tế làm Trưởng ban. Trên cơ sở đó Bộ Y tế có các Quyết định thành lập các Hội đồng biên soạn Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật trong khám, chữa bệnh theo các chuyên khoa, chuyên ngành mà Chủ tịch Hội đồng là Giám đốc các bệnh viện chuyên khoa, đa khoa hoặc các chuyên gia hàng đầu của Việt Nam. Các Hội đồng phân công các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa theo chuyên khoa sâu biên soạn các nhóm Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Mỗi Hướng dẫn quy trình kỹ thuật đều được tham khảo các tài liệu trong nước, nước ngoài và chia sẻ kinh nghiệm của các đồng nghiệp thuộc chuyên khoa, chuyên ngành. Việc hoàn chỉnh mỗi Hướng dẫn quy trình kỹ thuật cũng tuân theo quy trình chặt chẽ bởi các Hội đồng khoa học cấp bệnh viện và các Hội đồng nghiệm thu của chuyên khoa đó do Bộ Y tế thành lập. Mỗi Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh đảm bảo được nguyên tắc ngắn gọn, đầy đủ, khoa học và theo một thể thức thống nhất.

Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh là tài liệu hướng dẫn chuyên môn kỹ thuật, là cơ sở pháp lý để thực hiện tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trong toàn quốc được phép thực hiện kỹ thuật đã được cấp có thẩm quyền phê duyệt theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh đồng thời cũng là cơ sở để xây dựng giá dịch vụ kỹ thuật, phân loại phẫu thuật, thủ thuật và những nội dung liên quan khác. Do số lượng danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh rất lớn mà mỗi Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám, chữa bệnh từ khi biên soạn đến khi Quyết định ban hành chứa đựng nhiều yếu tố, điều kiện nghiêm ngặt nên trong một thời gian ngắn không thể xây dựng, biên soạn và ban hành đầy đủ các Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Bộ Y tế sẽ Quyết định ban hành những Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh cơ bản, phổ biến theo từng chuyên khoa, chuyên ngành và tiếp tục ban hành bổ sung

những quy trình kỹ thuật đối với mỗi chuyên khoa, chuyên ngành nhằm đảm bảo sự đầy đủ theo Danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh.

Để giúp hoàn thành các Hướng dẫn quy trình kỹ thuật này, Bộ Y tế trân trọng cảm ơn, biểu dương và ghi nhận sự nỗ lực tổ chức, thực hiện của lãnh đạo, chuyên viên Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, sự đóng góp của lãnh đạo các bệnh viện, các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa, chuyên ngành là tác giả hoặc là thành viên của các Hội đồng biên soạn, Hội đồng nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh và các nhà chuyên môn đã tham gia góp ý cho tài liệu.

Trong quá trình biên tập, in ấn tài liệu khó có thể tránh được các sai sót, Bộ Y tế mong nhận được sự góp ý gửi về Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế 138A - Giảng Võ-Ba Đình-Hà Nội./.

Thư trưởng Bộ Y tế
Trưởng Ban chỉ đạo
PGS.TS. Nguyễn Thị Xuyên

BAN CHỈ ĐẠO

Trưởng Ban chỉ đạo:

PGS. TS. Nguyễn Thị Xuyên, nguyên Thứ trưởng Bộ Y tế

Phó Trưởng Ban chỉ đạo:

PGS. TS. Lương Ngọc Khuê, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

TS. Nguyễn Huy Quang, Vụ trưởng Vụ Pháp chế

Các ủy viên:

PGS.TS. Phạm Vũ Khánh, Cục trưởng Cục Y dược cổ truyền

TS. Nguyễn Hoàng Long, nguyên Phó Vụ trưởng Vụ Kế hoạch - Tài chính

TS. Trần Văn Tiến, nguyên Phó Vụ trưởng Vụ Bảo hiểm Y tế

PGS. TS. Lưu Thị Hồng, nguyên Vụ trưởng Vụ Sức khỏe Bà mẹ và Trẻ em

PGS. TS. Trần Quý Tường, nguyên Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

ThS. Nguyễn Trọng Khoa, Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

PGS. TS. Nguyễn Tiến Quyết, nguyên Giám đốc Bệnh viện Hữu Nghị Việt Đức

PGS. TS. Nguyễn Quốc Anh, Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai

PGS. TS. Nguyễn Trường Sơn, Giám đốc Bệnh viện Chợ Rẫy

GS. TS. Bùi Đức Phú, nguyên Giám đốc Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế

GS. TS. Nguyễn Thanh Liêm, nguyên Giám đốc Bệnh viện Nhi Trung ương

GS. TS. Lê Năm, nguyên Giám đốc Viện Bông Lê Hữu Trác

PGS. TS. Đinh Ngọc Sỹ, nguyên Giám đốc Bệnh viện Phổi Trung ương

PGS. TS. Đỗ Như Hôn, nguyên Giám đốc Bệnh viện Mắt Trung ương

PGS. TS. Bùi Diệu, nguyên Giám đốc Bệnh viện K

PGS. TS. Nguyễn Việt Tiến, nguyên Giám đốc Bệnh viện Phụ sản Trung ương

GS. TS. Trịnh Đình Hải, Giám đốc Bệnh viện Răng Hàm Mặt TƯ, Hà Nội

PGS. TS. Võ Thanh Quang, Giám đốc Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương

GS. TS. Trần Hậu Khang, nguyên Giám đốc Bệnh viện Da liễu Trung ương

GS. TS. Nguyễn Anh Trí, Giám đốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương

PGS. TS. Nghiêm Hữu Thành, nguyên Giám đốc Bệnh viện Châm cứu Trung ương

PGS. TS. Trần Quốc Bình, Giám đốc Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương

TS. Nguyễn Văn Tiến, nguyên Giám đốc Bệnh viện Nội Tiết Trung ương

Tổ thư ký:

ThS. Nguyễn Đức Tiến, Trưởng Phòng nghiệp vụ Y và dược bệnh viện, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh.

BS. Nguyễn Ngọc Khang, nguyên Phó Trưởng phòng phụ trách phòng Pháp chế Thanh tra, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

ThS. Lê Tuấn Đồng, Trưởng phòng Phục hồi chức năng và Giám định, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

ThS. Phạm Thị Kim Cúc, chuyên viên Phòng nghiệp vụ Y và dược bệnh viện, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

ThS. Trần Thị Hồng Hải, chuyên viên Vụ Bảo hiểm y tế.

BAN BIÊN TẬP

Chủ biên:

BS. Đặng Văn Dương, nguyên Giám đốc Trung tâm Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Bạch Mai

Ban thư ký:

ThS. Nguyễn Đức Tiến, Trưởng phòng Nghiệp vụ Y và dược bệnh viện, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

ThS. Phạm Thị Kim Cúc, chuyên viên phòng Nghiệp vụ Y và dược bệnh viện, Cục Quản lý Khám, chữa bệnh.

TS. Nguyễn Thị Hương Giang, Phó trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp, Bệnh viện Bạch Mai.

TS. Bùi Thị Mỹ Hạnh, Bộ môn Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Bạch Mai.

BAN BIÊN SOẠN

Hội đồng biên soạn, Hội đồng nghiệm thu

GS. TS. Nguyễn Vượng, nguyên Chủ tịch Hội Giải phẫu bệnh - Tế bào bệnh học Việt Nam;

PGS. TS. Lương Ngọc Khuê, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh;

PGS. TS. Nguyễn Quốc Anh, Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai;

GS. TS. Nguyễn Sào Trung, nguyên Trưởng bộ môn Giải phẫu bệnh - Tế bào bệnh học, Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh;

PGS. TS. Trịnh Tuấn Dũng, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108;

PGS. TS. Nguyễn Văn Hưng, Trưởng bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội;

BS. Bùi Mạnh Thắng, Giám đốc Trung tâm Giải phẫu bệnh-Tế bào học, BV Bạch Mai;

PGS. TS. Tạ Văn Tờ, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh-Tế bào bệnh học, Bệnh viện K;

TS. Lê Trung Thọ, Bộ môn Giải phẫu bệnh Trường Đại học Y Hà Nội, Tổng thư ký Hội Giải phẫu bệnh - Tế bào bệnh học;

TS. Nguyễn Văn Bằng, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện đa khoa TW Huế;

BS. Đặng Văn Dương, nguyên Giám đốc Trung tâm Giải phẫu bệnh - Tế bào bệnh học, Bệnh viện Bạch Mai;

Tham gia biên soạn

BS. Đặng Văn Dương, nguyên Giám đốc Trung tâm Giải phẫu bệnh - Tế bào học, Bệnh viện Bạch Mai, Phó Trưởng Bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội;

PGS. TS. Nguyễn Văn Hưng, Trưởng Bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội;

PGS. TS. Trịnh Tuấn Dũng, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108;

PGS. TS. Tạ Văn Tờ, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh - Tế bào học, Bệnh viện K;

TS. Nguyễn Văn Bằng, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện đa khoa TW Huế;

BSCCKII. Phạm Kim Bình, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Việt Đức HN;

BSCCKII. Trần Minh Thông, nguyên Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Chợ Rẫy;

TS. BSCCKII. Lê Trung Thọ, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Phổi TW, Giảng viên Bộ môn Giải phẫu bệnh - Trường Đại học Y Hà Nội;

BS. Trần Hòa, Trưởng khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện C Đà Nẵng;

TS. Bùi Thị Mỹ Hạnh, Bộ môn Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Bạch Mai.

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

BN:	Người bệnh
CISH	(Chromogenic in situ Hybridization): lai tại chỗ gắn chất màu
DNA:	Deoxyribonucleic Acid
FISH	(Fluorescence in situ Hybridization): lai tại chỗ gắn huỳnh quang
FNA	(Fine needle aspiration): hút kim nhỏ
HE:	Hematoxylin – Eosin
HMMD:	Hóa mô miễn dịch
HP:	Helicobacter pylori
NST:	Nhiễm sắc thể
PAP:	Papanicolaou
PAS:	Periodic Acid Schiff
PCR	(Polymerase Chain Reaction): phản ứng chuỗi polymerase
RNA:	Ribonucleic acid

MỤC LỤC

	Trang
Yêu cầu chung của xét nghiệm mô bệnh học và tế bào học	19
Phần I. Các quy trình kỹ thuật phẫu tích bệnh phẩm	23
1. Phẫu tích bệnh phẩm để cấy vi trùng, nấm, virus trên mô	25
2. Phẫu tích bệnh phẩm lấy mẫu phân tích DNA và sự tăng sinh tế bào bằng phương pháp đo tế bào dòng chảy	28
3. Phẫu tích bệnh phẩm để xét nghiệm hiển vi điện tử	31
4. Phẫu tích bệnh phẩm để xét nghiệm thụ thể hormon để xét nghiệm thụ thể hormon	34
5. Phẫu tích bệnh phẩm từ sinh thiết lõi kim	37
6. Phẫu tích bệnh phẩm các tổn thương lành tính của da	40
7. Phẫu tích bệnh phẩm các tổn thương ác tính hoặc nghi ác tính của da	43
8. Phẫu tích bệnh phẩm các tổn thương da (sinh thiết bằng kim bấm)	46
9. Phẫu tích bệnh phẩm các tổn thương da (sinh thiết bằng kim dao)	49
10. Phẫu tích bệnh phẩm tổn thương môi (bệnh phẩm hình chữ V)	52
11. Phẫu tích bệnh phẩm kết mạc mắt	55
12. Phẫu tích bệnh phẩm mí mắt	57
13. Phẫu tích bệnh phẩm thanh quản	61
14. Phẫu tích bệnh phẩm phổi	64
15. Phẫu tích bệnh phẩm tuyến ức	68
16. Phẫu tích bệnh phẩm tuyến giáp	70
17. Phẫu tích bệnh phẩm tuyến cận giáp	72
18. Phẫu tích bệnh phẩm u tuyến nước bọt	74
19. Phẫu tích bệnh phẩm thực quản	77
20. Phẫu tích bệnh phẩm phẫu thuật u dạ dày	80
21. Phẫu tích bệnh phẩm phẫu thuật loét dạ dày	83
22. Phẫu tích bệnh phẩm ruột non	86
23. Phẫu tích bệnh phẩm u đại tràng	89
24. Phẫu tích bệnh phẩm polip đại tràng	92
25. Phẫu tích bệnh phẩm ruột thừa	95

26. Phẫu tích bệnh phẩm u gan	98
27. Phẫu tích bệnh phẩm túi mật	101
28. Phẫu tích bệnh phẩm âm hộ	104
29. Phẫu tích bệnh phẩm sinh thiết cổ tử cung	106
30. Phẫu tích bệnh phẩm cắt chóp cổ tử cung	108
31. Phẫu tích bệnh phẩm nạo hoặc sinh thiết nội mạc tử cung	111
32. Phẫu tích bệnh phẩm cắt bỏ tử cung	113
33. Phẫu tích bệnh phẩm cắt bỏ tử cung do ung thư	116
34. Phẫu tích bệnh phẩm do quá sản hoặc ung thư nội mạc tử cung	120
35. Phẫu tích bệnh phẩm tụy	123
36. Phẫu tích bệnh phẩm tuyến thượng thận	127
37. Phẫu tích bệnh phẩm u thận	129
38. Phẫu tích bệnh phẩm bàng quang	132
39. Phẫu tích bệnh phẩm cắt bỏ dương vật	136
40. Phẫu tích bệnh phẩm tinh hoàn	138
41. Phẫu tích bệnh phẩm cắt bỏ toàn bộ tuyến tiền liệt	141
42. Phẫu tích bệnh phẩm tuyến tiền liệt (cắt bỏ bằng đường mổ trên xương vệ)	144
43. Phẫu tích bệnh phẩm tuyến tiền liệt (cắt bỏ bằng đường niệu đạo)	146
44. Phẫu tích bệnh phẩm bánh rau (đơn thai)	149
45. Phẫu tích bệnh phẩm bánh rau (song thai)	152
46. Phẫu tích bệnh phẩm sảy thai	155
47. Phẫu tích bệnh phẩm buồng trứng	159
48. Phẫu tích bệnh phẩm vòi tử cung	161
49. Phẫu tích bệnh phẩm vú (sinh thiết và/hoặc cắt bỏ rộng đối với các u sò được)	164
50. Phẫu tích bệnh phẩm vú (toàn bộ)	167
51. Phẫu tích bệnh phẩm sinh thiết hạch	173
52. Phẫu tích bệnh phẩm hạch nạo vét	175
53. Phẫu tích bệnh phẩm nạo vét triệt để hạch cổ	177
54. Phẫu tích bệnh phẩm u mô mềm	180
55. Phẫu tích bệnh phẩm dây thần kinh ngoại vi	183
56. Phẫu tích bệnh phẩm lách	185

57. Phẫu tích bệnh phẩm xương (sinh thiết)	188
58. Phẫu tích bệnh phẩm xương - cắt đầu xương đùi	190
59. Phẫu tích bệnh phẩm u xương	193
60. Phẫu tích bệnh phẩm chọc hút tủy xương	196
61. Phẫu tích bệnh phẩm tủy xương (từ cắt xương sườn)	198
62. Phẫu tích bệnh phẩm tủy xương (sinh thiết lõi kim)	200
63. Phẫu tích bệnh phẩm chi dưới do tắc nghẽn mạch máu (cắt cụt chi)	202
64. Phẫu tích cắt bỏ xương thái dương - tai	207
65. Phẫu tích bệnh phẩm sinh thiết cơ vân	210
66. Phẫu tích bệnh phẩm thay van tim	212
Phần II. Các quy trình kỹ thuật, cố định, chuyển đúc, cắt mảnh bệnh phẩm	215
67. Cố định bệnh phẩm formol đậm trung tính	217
68. Cố định bệnh phẩm bằng dung dịch Bouin	219
69. Cố định bệnh phẩm bằng dung dịch Gendre	221
70. Cố định bệnh phẩm bằng dung dịch Elftman	223
71. Khử canxi các bệnh phẩm xương	225
72. Kỹ thuật chuyển bệnh phẩm bằng tay	228
73. Kỹ thuật chuyển bệnh phẩm bằng máy	230
74. Kỹ thuật vùi Parafin	232
75. Kỹ thuật đúc khối Parafin	234
76. Kỹ thuật cắt mảnh bệnh phẩm chuyển đúc trong Parafin	236
77. Kỹ thuật cắt lạnh mảnh mô	239
Phần III. Các quy trình kỹ thuật nhuộm mảnh cắt mô trong parafin	243
78. Nhuộm Hematoxylin - eosin (HE) các mảnh cắt mô	245
79. Nhuộm Periodic acid schiff (PAS)	248
80. Nhuộm xanh Alcian (theo Mowry, 1960)	251
81. Nhuộm Mucicarmin (Meyer)	254
82. Nhuộm Giemsa trên mảnh cắt mô phát hiện Helicobacter pylori	256
83. Nhuộm Vangieson	259
84. Nhuộm ba màu của Masson (1929)	262
85. Nhuộm đa sắc theo Lillie (1951)	265

86. Nhuộm Custer cho các mảnh cắt tủy xương	268
87. Nhuộm schmorl cho các mảnh cắt xương	271
88. Nhuộm xanh phổ perl phát hiện ion sắt	275
89. Nhuộm grocott	278
90. Nhuộm bạc warthin - starry phát hiện <i>Helicobacter pylori</i>	282
91. Nhuộm đỏ Congo kiềm (theo Puchtler 1962)	285
92. Nhuộm hydroxit sắt (theo hale)	288
93. Nhuộm diamin sắt cao (high iron diamine)	291
94. Nhuộm sợi võng theo Gomori	294
95. Nhuộm Andehit fucsin (aldehyde fuchsin) cho sợi chun	297
96. Nhuộm Orcein cải biên theo Shikata phát hiện kháng nguyên HBsAg	300
97. Nhuộm Orcein phát hiện kháng nguyên HBsAg trong mô gan	303
Phần IV. Các quy trình kỹ thuật nhuộm phải dùng mảnh cắt lạnh	307
98. Nhuộm soudan III hoặc IV trong dung dịch Etanol	309
99. Nhuộm dầu đỏ O	312
100. Nhuộm đen Soudan B trong Diacetin	315
101. Nhuộm đen Soudan B hòa tan trong Propylen-Glycol	318
102. Nhuộm đen Soudan B hòa tan trong Etanol-Glycol	321
103. Nhuộm lipid trung tính và acid bằng sulfat xanh lơ Nil (Theo Cain)	324
104. Nhuộm lipid trung tính và acid bằng sunfat xanh lơ Nil (Theo Menschick)	327
105. Nhuộm lipid trung tính và acid bằng sunfat xanh lơ Nil (Theo Dunnigan)	330
106. Nhuộm phát hiện Adenosin Triphosphatase (ATPase)	333
107. Nhuộm Photphatase kiềm	337
108. Nhuộm Gomori chỉ phát hiện phosphatase acid	340
Phần V. Các quy trình kỹ thuật miễn dịch và sinh học phân tử	343
109. Nhuộm hóa mô miễn dịch cho một dấu ấn (cho các mảnh cắt parafin)	345
110. Nhuộm miễn dịch huỳnh quang trực tiếp phát hiện kháng nguyên	349
111. Nhuộm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp phát hiện kháng nguyên	351
112. Kỹ thuật kháng thể huỳnh quang phát hiện kháng nguyên	353
113. Nhuộm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp phát hiện kháng thể	355
114. Kỹ thuật ức chế huỳnh quang phát hiện kháng thể	357

115. Kỹ thuật kháng thể huỳnh quang phát hiện kháng thể	359
116. Kỹ thuật lai tại chỗ gắn huỳnh quang (FISH)	361
117. Kỹ thuật lai tại chỗ có gắn chất màu (CISH)	365
118. Kỹ thuật PCR	369
119. Xác định đột biến gen Egfr bằng giải trình tự chuỗi DNA trên khối parafin	372
120. Xác định đột biến gen K-Ras bằng giải trình tự chuỗi DNA trên khối Parafin	375
Phần VI. Các quy trình kỹ thuật tế bào học	379
121. Nhuộm Shorr	381
122. Nhuộm papanicolaou	383
123. Nhuộm diff - quickK	386
124. Nhuộm giemsa trên phiến đồ	388
125. Nhuộm hematoxylin - eosin trên phiến đồ	391
126. Nhuộm May - Grünwald - giemsa	394
127. Nhuộm pas kết hợp xanh alcian	397
128. Nhuộm phát hiện glycogen theo best	399
129. Kỹ thuật lấy bệnh phẩm làm phiến đồ cổ tử cung - âm đạo	401
130. Kỹ thuật Liqui-Prep chẩn đoán tế bào cổ tử cung - âm đạo	404
131. Chọc hút kim nhỏ (FNA) các hạch lympho ngoại vi	407
132. Chọc hút bằng kim nhỏ các tổn thương vú sờ thấy được	411
133. Chọc hút bằng kim nhỏ các tổn thương của da và mô mềm nông	415
134. Chọc hút bằng kim nhỏ tuyến giáp	419
135. Chọc hút bằng kim nhỏ mào tinh hoàn	423
136. Chọc hút bằng kim nhỏ tinh hoàn	427
137. Kỹ thuật tế bào học các dịch màng bụng, màng phổi, màng tim	431
138. Kỹ thuật tế bào học nước tiểu	434
139. Kỹ thuật tế bào học đờm	437
140. Kỹ thuật tế bào học dịch rửa và hút phế quản	440
141. Kỹ thuật tế bào học dịch chải phế quản	443
142. Kỹ thuật tế bào học dịch rửa ổ bụng	446
143. Kỹ thuật tế bào học dịch khớp	449
144. Kỹ thuật tế bào học dịch các tổn thương dạng nang	452
145. Kỹ thuật khối tế bào dịch các khoang cơ thể	455
146. Kỹ thuật khối tế bào bệnh phẩm chọc hút kim nhỏ	457

YÊU CẦU CHUNG CỦA XÉT NGHIỆM MÔ BỆNH HỌC VÀ TẾ BÀO BỆNH HỌC

Xét nghiệm mô bệnh học và tế bào bệnh học là nền tảng vô cùng quan trọng trong chẩn đoán, được đánh giá là tiêu chuẩn vàng để xác định bệnh. Nó không chỉ là chẩn đoán mô bệnh học hoặc tế bào bệnh học đơn thuần, mà còn có vai trò quyết định cho các chỉ định lâm sàng, đồng thời cung cấp các dữ liệu tiên lượng quan trọng, giúp cho việc lựa chọn phương pháp điều trị nội khoa hoặc ngoại khoa một cách xác đáng nhất. Không những thế, các dữ liệu mà mẫu xét nghiệm tế bào bệnh học và mô bệnh học cung cấp còn được sử dụng để đánh giá hiệu quả của việc điều trị hiện hành hoặc các thử nghiệm điều trị mới, cũng như cung cấp các thông tin giúp theo dõi/giám sát diễn biến bệnh tật trong các chương trình sàng lọc tại cộng đồng.

Chỉ riêng lĩnh vực ung thư, trong thời gian tới, phương pháp điều trị đích (điều trị ung thư theo cá thể) sẽ ngày càng phát triển và chuyên ngành giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học với xét nghiệm mô bệnh học, hóa mô miễn dịch và đặc biệt là kỹ thuật lai tại chỗ sẽ là những công cụ hữu ích nhất cho nhà lâm sàng ung thư trong việc chẩn đoán, điều trị và tiên lượng bệnh.

I. NGUYÊN TẮC

Khác với xét nghiệm tế bào bệnh học, xét nghiệm mô bệnh học không những cho phép nhà giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học biết được đặc điểm chi tiết tế bào mà còn thấy được cấu trúc của mô do các tế bào tạo ra cũng như mối tương quan giữa mô đệm và mô chủ. Đặc biệt, trong mô ung thư, xét nghiệm mô bệnh học còn cho biết mức độ lan rộng của các tế bào u (mới phát triển, khu trú tại chỗ hoặc đã lan xa) và còn có thể cho biết chính xác hoặc gợi ý định vị của u nguyên phát.

Tuy nhiên, xét nghiệm tế bào bệnh học cũng có thể mạnh riêng, có thể cùng lúc tiến hành xét nghiệm cho một quần thể lớn dân cư trong cộng đồng. Hơn nữa, nó là một phương pháp chẩn đoán an toàn, đơn giản, nhanh chóng, chính xác, hiệu quả kinh tế cao và phù hợp với mọi nền văn hóa. Đặc biệt, tế bào bệnh học cũng là phương pháp hiệu quả trong việc quản lý, theo dõi các trường hợp sau điều trị ung thư. Thậm chí, kỹ thuật khối tế bào (cell block) cũng cho phép tiến hành các xét nghiệm hóa miễn dịch tế bào và sinh học phân tử (kỹ thuật lai tại chỗ) tương tự như với xét nghiệm mô bệnh học.

II. NHỮNG LƯU Ý LIÊN QUAN TỚI VIỆC XỬ LÝ MẪU XÉT NGHIỆM MÔ BỆNH HỌC VÀ TẾ BÀO BỆNH HỌC

Việc xử lý mẫu xét nghiệm mô bệnh học và tế bào bệnh học cần được lưu ý ở nhiều công đoạn khác nhau, cụ thể như sau:

1. Đối với các đơn vị lâm sàng

1.1. Lấy bệnh phẩm lâm xét nghiệm mô bệnh học và tế bào bệnh học

– Lấy trúng tổn thương:

+ Với sinh thiết nội soi: lấy mẫu tại vùng giáp ranh giữa mô lành và mô bị bệnh kèm cả vùng bên trong tổn thương, không lấy vào mô hoại tử (*thường mô hoại tử u nằm ở vùng giữa u*).

+ Với bệnh phẩm phẫu thuật: gửi toàn bộ khối mô/cơ quan được phẫu thuật tới phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học. Lưu ý, không nên rạch/mở thăm dò tổn thương do dễ làm sai lệch hoặc mất tổn thương (*đặc biệt là các ung thư sớm thường có kích thước rất nhỏ*) gây khó khăn cho chẩn đoán vi thể.

+ Với kỹ thuật tế bào học, thông thường khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học tiến hành lấy mẫu cho xét nghiệm này. Tuy nhiên, hiện nay một số khoa lâm sàng cũng tiến hành lấy mẫu tế bào bong của cổ tử cung hoặc mẫu tế bào bằng chọc hút kim nhỏ. Yêu cầu bắt buộc là phải thao tác đúng kỹ thuật, nhận định đúng vùng tổn thương để tiến hành lấy mẫu.

– Lấy đủ: số lượng và kích thước mẫu mô xét nghiệm tùy thuộc cơ quan bị tổn thương và thể bệnh, chẳng hạn, với sinh thiết gan trong viêm gan mạn tính, số mảnh sinh thiết tối thiểu là 03 mảnh với kích thước dài 1,5cm và rộng 0,2 - 0,3cm. Với bệnh đại tràng viêm (bệnh Crohn và viêm đại tràng loét), số mảnh sinh thiết phải đạt từ 6 - 8 mảnh ở nhiều vị trí khác nhau dọc theo niêm mạc đại tràng. Lưu ý: độ sâu của mảnh sinh thiết ít nhất phải chạm cơ niêm. Những phần kỹ thuật cụ thể sau sẽ đề cập chi tiết về yêu cầu mẫu mô xét nghiệm tương ứng với từng mô/cơ quan.

Với xét nghiệm tế bào bệnh học, số lượng phiến đồ cần thiết tối thiểu là 02 phiến đồ, không có quá nhiều hồng cầu.

– Cố định bệnh phẩm (chống hiện tượng tự hủy của mô và tế bào):

Hiện nay, dung dịch thường được sử dụng để cố định bệnh phẩm là formol trung tính 10% cho mẫu xét nghiệm mô bệnh học. Các mẫu mô sau khi được cố định bằng dung dịch này đều thích hợp cho việc nghiên cứu từ cấu trúc mô học thông thường cho tới các kỹ thuật hiện đại như hóa mô miễn dịch hoặc thậm chí sinh học phân tử (lai tại chỗ, PCR hoặc giải trình tự gen,...).

Với phiến đồ tế bào bệnh học, cần thao tác đúng khi trải/đàn mẫu bệnh phẩm trên phiến kính, sau đó, sử dụng dung dịch cồn/ete với tỷ lệ 1/1 để cố định, trước khi gửi đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

1.2. Ghi đủ thông tin lâm sàng cần thiết vào giấy xét nghiệm mô bệnh học và tế bào bệnh học

Nhất thiết phải ghi đầy đủ thông tin cần thiết về bệnh tật cũng như các thông tin liên quan đến mẫu xét nghiệm mô bệnh học. Điều này là vô cùng quan trọng cho từng cá nhân người bệnh (*được chẩn đoán đúng bệnh*). Ngoài ra, việc điền đầy đủ thông tin

Người bệnh vào phiếu xét nghiệm mô bệnh học còn cung cấp các thông tin chính xác về thông kê bệnh tật, giúp việc quản lý bệnh tật của từng quốc gia ngày một tốt hơn.

Mỗi bệnh phẩm được lấy ở vị trí khác nhau cần có một giấy xét nghiệm riêng; chẳng hạn, trong phẫu thuật ung thư dạ dày, ngoài giấy xét nghiệm dành cho khối u ở dạ dày, cần có các giấy xét nghiệm riêng khác dành cho mỗi trạm hạch, trong đó ghi rõ đó là trạm hạch nào (nhằm đánh giá mức độ lan tràn u, xác định phương thức và liều điều trị tối ưu cũng như tiên lượng bệnh).

Trường hợp yêu cầu xét nghiệm tế bào bệnh học được gửi tới khoa giải phẫu bệnh-tế bào bệnh học cũng cần điền đầy đủ thông tin lâm sàng, trong đó chỉ rõ vị trí cơ quan hoặc mô cần làm xét nghiệm và lưu ý người bệnh không cần nhịn ăn khi làm xét nghiệm này.

1.3. Vận chuyển mẫu bệnh phẩm

Luôn duy trì mối liên hệ chặt chẽ giữa các khoa lâm sàng với khoa giải phẫu bệnh-tế bào bệnh học, để đảm bảo mẫu xét nghiệm mô bệnh học được vận chuyển một cách thích hợp nhất từ các khoa lâm sàng tới phòng xét nghiệm. Chẳng hạn, để chẩn đoán tức thì (*chẩn đoán nhanh trong các cuộc phẫu thuật*) hoặc nghiên cứu về enzym hoặc phát hiện một số chất giúp chẩn đoán (ví dụ lipid) thì mẫu mô phải tươi (không được cố định) và vận chuyển thật nhanh tới phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học trong thời gian ngắn nhất (*khoảng thời gian này được tính từ khi mẫu mô vừa được lấy ra khỏi cơ thể người bệnh cho tới khi phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học nhận được chúng*) và không vượt quá 20 phút. Trong trường hợp vận chuyển xa phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, bệnh phẩm phải được giữ trong dụng cụ làm lạnh chuyên dụng. Một số kỹ thuật vi thể khác lại cần có dung dịch thích hợp để bảo quản mẫu (nếu thực hiện kỹ thuật vi thể thường quy hoặc nghiên cứu hóa mô miễn dịch, mẫu xét nghiệm mô bệnh học cần được cố định trong dung dịch formol trung tính 10%).

Trong trường hợp nhà lâm sàng thực hiện kỹ thuật lấy mẫu tế bào học, các phiến đồ cần được bảo quản trong hộp chuyên dụng và gửi ngay tới phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học. Phải nhớ đánh số phiến đồ cho từng trường hợp để tránh nhầm lẫn.

1.4. Địa chỉ gửi bệnh phẩm

Chỉ gửi mẫu xét nghiệm mô bệnh học hoặc tế bào bệnh học đến duy nhất một địa chỉ phòng xét nghiệm giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, tránh hiện tượng xé mẫu làm nhiều mảnh rồi gửi tới nhiều địa chỉ khác nhau và nên nhớ, việc làm này trong một số trường hợp khó tránh khỏi kết quả mô bệnh học nhận được là không giống nhau (do một số mảnh mô bị xé không có mô u hoặc không có tổn thương). Khi cần hội chẩn, có thể mượn toàn bộ tiêu bản hoặc khối parafin của trường hợp đó, đồng thời phải hoàn trả toàn bộ sau khi xong việc.

2. Đối với đơn vị giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học

2.1. Phẫu tích/pha và nhận xét mẫu bệnh phẩm hoặc tiến hành kỹ thuật tế bào học hút kim nhỏ

Việc phẫu tích và nhận xét bệnh phẩm đại thể là vô cùng quan trọng và trong nhiều trường hợp, đã có thể định hướng cho chẩn đoán vi thể. Chẳng hạn, trong trường hợp khối ở gan có sọc nhạt màu hình sao thường là quá sản nốt tái tạo; hoặc trong trường hợp u thận nếu có khối màu vàng nhạt thường là u tế bào lớn ưa toan (oncocytoma).

Hiện tại, hầu hết các trường hợp xét nghiệm tế bào học hút kim nhỏ đều được các khoa lâm sàng gửi người bệnh tới khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học để thực hiện thao tác này tại đây. Nhà giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học thực hiện kỹ thuật tế bào học nên nhớ chuẩn bị tinh thần cho người bệnh trước khi tiến hành thao tác hút kim nhỏ. Việc khám xét các khối dưới da cần được đánh giá tỉ mỉ (kích thước u, giới hạn mô u, mật độ, mức độ di động,...); đó là những thông tin bổ sung có giá trị giúp ích cho chẩn đoán chính xác.

2.2. Lấy đúng vùng tổn thương và lấy đủ mẫu mô hoặc mẫu tế bào cần xét nghiệm

Các mảnh mô được lấy làm xét nghiệm thường nằm ở ranh giới giữa vùng tổn thương với vùng lành. Nếu mẫu mô có kích thước nhỏ, toàn bộ mẫu cần phải được nghiên cứu vi thể. Với bệnh phẩm phẫu thuật (thường bệnh phẩm có kích thước lớn), số lượng mảnh mô cần được xét nghiệm vi thể ít nhất là 5 mảnh với kích thước chung vào khoảng 1cm x 0,3cm.

Với xét nghiệm tế bào học, số lượng phiến đồ cần thiết tối thiểu là 02 phiến đồ, không có quá nhiều hồng cầu.

2.3. Đọc tổn thương

Mảnh bệnh phẩm sau khi được hoàn thành ở các khâu khác nhau của công đoạn kỹ thuật vi thể như cố định bệnh phẩm, chuyển mô (được máy chuyển mô chuyên dụng thực hiện), đúc (vùi) bệnh phẩm, cắt và dán mảnh, nhuộm mảnh cắt (*chi tiết đã được mô tả trong các kỹ thuật liên quan ở phần sau*) và cuối cùng được nhà giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học dịch (đọc) tổn thương bằng thứ ngôn ngữ giúp nhà lâm sàng điều trị hiểu đúng bản chất tổn thương/bệnh tật.

PHẦN I

CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM

1. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM ĐỂ CẤY VI TRÙNG, NẤM, VIRUS TRÊN MÔ

I. NGUYÊN TẮC

Khi có chỉ định liên quan đến tình trạng nhiễm trùng (biểu hiện trên lâm sàng, đại thể, mô cắt lạnh) nên lấy và chuyển ngay mô đến phòng xét nghiệm. Mẫu mô tươi, dụng cụ lấy và chứa bệnh phẩm lấy phải vô trùng.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm - 50cm).

- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái; dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa sạch, phẳng: 02 cái.
- Đèn cồn 01 cái, que cấy vô trùng.
- Các lọ vô trùng đựng bệnh phẩm nuôi cấy.
- Các lọ chứa sẵn dung dịch cố định cho xét nghiệm mô bệnh học thường quy.
- Phẩm nhuộm Gram, Ziehl-Neelsen...
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm tươi được đựng trong các túi (lọ) vô khuẩn, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Mẫu mô lớn

Có nhiều kỹ thuật được áp dụng trên mẫu mô lớn, tươi (phổi, lách). Nói chung, thường áp dụng hai loại kỹ thuật:

1.1. Kỹ thuật 1

- Đốt nóng đầu cây lấy mẫu cấy để khử trùng.
- Dùng dao rạch sâu một đường ngay tại bề mặt đã vô trùng nói trên.
- Lấy một ít mô ở bên trong khối mô lớn, kích thước tốt nhất là 1cm x 1cm x 1cm.

1.2. Kỹ thuật 2

- Đốt nóng đầu cây lấy mẫu cấy để khử trùng.
- Dùng dao rạch sâu một đường ngay tại bề mặt đã vô trùng nói trên.
- Cho que gòn vô trùng qua đường rạch, phết vào mô và sau đó cho que gòn vào môi trường bảo quản thích hợp.

* Các tổn thương dạng nang cần phải cấy vi trùng yếm khí, nên để nguyên dịch trong bơm tiêm.

2. Mẫu mô nhỏ

- Nếu mẫu mô tươi chứa trong lọ vô trùng:
- + Mở lọ, cắt một phần mô bằng dụng cụ vô trùng để dùng cho việc cấy.
- + Phần còn lại dùng để làm tiêu bản mô học.

- Nếu mẫu mô không được vô trùng:
 - + Cắt lấy mẫu mô kích thước 1cm x 1cm x 1cm bằng dao vô trùng. Nếu mẫu mô có kích thước nhỏ hơn thì lấy tối đa mẫu mô nếu có thể.
 - + Dùng kẹp vô trùng gấp mô, nhúng vào etanol và đốt.
 - + Sau đó nhúng vào nước muối sinh lý vô trùng.
 - + Rửa lại bằng dung dịch vô trùng, sau đó để vào lọ vô trùng khác.
- Sau khi lấy được mẫu mô, cần áp phiến kính trên bề mặt mô, cố định phiến đồ trong cồn và nhuộm để tìm vi trùng bằng các phương pháp nhuộm như Gram, Ziehl-Neelsen.

IV. KẾT QUẢ

Các mẫu mô tươi, không bị nhiễm khuẩn, có các thành phần cần nuôi cấy.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Nếu mẫu mô bị nhiễm khuẩn, không đạt yêu cầu nuôi cấy, cần lấy lại mảnh khác (với mẫu mô lớn) hoặc vô trùng lại (với mẫu mô nhỏ).

2. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM LẤY MẪU PHÂN TÍCH DNA VÀ SỰ TĂNG SINH TẾ BÀO BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO TẾ BÀO DÒNG CHẢY

I. NGUYÊN TẮC

Cắt mẫu mô tươi ngay sau khi sinh thiết (khoảng 0,5cm³), bỏ vào lọ chứa môi trường cấy (RPMI, DMEM) và đưa ngay đến phòng xét nghiệm; không cố định bệnh phẩm cho loại xét nghiệm này. Nếu không chuyển đến làm xét nghiệm ngay, phải giữ mẫu mô ở nhiệt độ 4⁰C.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa sạch, phẳng: 02 cái.
- Các lọ vô trùng đựng bệnh phẩm nuôi cấy.
- Các lọ chứa sẵn dung dịch cố định cho xét nghiệm mô bệnh học thường quy.
- Bình cấp ni tơ lỏng trữ bệnh phẩm còn dư, lưu lại để lấy mẫu thêm nếu cần.
- Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để giữ bệnh phẩm khi chuyển bệnh phẩm về phòng xét nghiệm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm tươi vừa được lấy ra khỏi cơ thể, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể:
 - + Loại mô xét nghiệm
 - + Vùng lấy bệnh phẩm
 - + Số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm
 - + Màu sắc bệnh phẩm
 - + Kích thước bệnh phẩm
 - + Đặc điểm hình thái diện cắt

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Phẫu tích bệnh phẩm ở các vùng mô có tổn thương, nghi ngờ tổn thương và mô lành.
- Mỗi vùng lấy 2 mảnh, kích thước mỗi mảnh khoảng 0,5cm³.
- Không lấy vùng mô dập nát hoặc hoại tử.
- Mỗi vùng cho vào một lọ riêng, có ghi rõ vùng lấy mẫu.
- Bệnh phẩm bảo quản trong môi trường nuôi cấy (RPMI, DMEM).
- Chuyển về phòng xét nghiệm hoặc bảo quản ở 4⁰C.

IV. KẾT QUẢ

Các mẫu mô tươi được để trong các môi trường bảo quản đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Trong trường hợp bệnh phẩm bỏ nhầm vào dung dịch cố định khác, cần loại bỏ và lấy lại bệnh phẩm mới. Nếu hết bệnh phẩm để lấy, cần đưa ngay bệnh phẩm đã cố định ra, cắt lọc bớt 1mm phần bệnh phẩm tiếp xúc với dung dịch cố định để lấy phần bệnh phẩm còn lại. Nếu bệnh phẩm quá ít, nhỏ, không cắt lọc được, bắt buộc phải bỏ đi.

- Bệnh phẩm bị hoại tử không nuôi cấy được: phải phẫu tích bệnh phẩm tươi, ngay khi được lấy ra khỏi mô phải cho ngay vào dung dịch bảo quản. Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm bị hư hại, hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm dính vào thành lọ, không được ngâm trong dung dịch bảo quản làm hỏng bệnh phẩm: cho dung dịch bảo quản vào lọ trước khi pha với lượng dịch đủ lớn (lượng dung dịch cố định lớn gấp 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch.

3. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM ĐỂ XÉT NGHIỆM HIỂN VI ĐIỆN TỬ

I. NGUYÊN TẮC

Tốt nhất là lấy mẫu mô tươi, bảo quản trong dung dịch glutaraldehyde 2,5% với chất đệm Millonig's photphat, 3 - 4ml một lọ, giữ lạnh ở 4°C (có thể được lưu trữ trong một tháng), đưa đến phòng xét nghiệm; không cố định bệnh phẩm cho loại xét nghiệm này. Nếu chưa chuyển được ngay bệnh phẩm về phòng làm xét nghiệm hiển vi điện tử, phải giữ bệnh phẩm ở nhiệt độ 4°C.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).
- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.
- Các lọ chứa dung dịch glutaraldehyde 2,5% với chất đệm Millonig's phosphate, 3 - 4ml/một lọ để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi lọ 1-2 bệnh phẩm).
- Các lọ chứa sẵn dung dịch cố định cho xét nghiệm mô bệnh học thường quy.
- Bình cấp ni tơ lỏng trữ bệnh phẩm còn dư, lưu lại để lấy mẫu thêm nếu cần.
- Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để giữ bệnh phẩm khi chuyển bệnh phẩm về phòng xét nghiệm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm đựng trong các hộp hoặc lọ sạch, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phân mô tả đại thể:
 - + Loại mô xét nghiệm
 - + Vùng lấy bệnh phẩm
 - + Số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm
 - + Màu sắc bệnh phẩm
 - + Kích thước bệnh phẩm
 - + Đặc điểm hình thái diện cắt.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy mẫu từ mô tươi

Lấy mẫu từ mô tươi tốt hơn mô đã được cố định thường qui. Cần nhanh chóng lấy mẫu ngay sau khi bệnh phẩm được cắt khỏi cơ thể.

- Đặt bệnh phẩm lên trên một thớt nhựa cứng, sạch.
- Dùng lưỡi dao cạo cắt từng lát dày 1 mm.
- Nhỏ nhiều giọt dung dịch bảo quản glutaraldehyde 2,5% lên một vùng khác của tấm thớt, đặt các lát cắt mô lên phía trên và phủ lên trên với vài giọt dung dịch glutaraldehyde 2,5%.
- Bấm nhỏ các lát cắt thành những khối 1mm³ bằng lưỡi dao sắc và nhúng bệnh phẩm vào dung dịch glutaraldehyde 2,5% lạnh (4°C).
- Lấy 5 đến 15 mảnh mô là đủ. Nếu bệnh phẩm có nhiều vùng tổn thương khác nhau trên đại thể, cần lấy riêng và đưa đến phòng xét nghiệm hiển vi điện tử trong những lọ riêng biệt.

– Mô có thể được giữ trong dung dịch cố định dùng cho hiển vi điện tử trong nhiều ngày ở 4°C (không quá một tháng) trước khi được đưa đến các phòng xét nghiệm hiển vi điện tử.

2. Lấy mẫu từ mô đã được cố định thường qui

Trong mẫu mô được cố định thường qui, thường có nhiều lỗi gây ra do cố định, nhưng những hình thái cần nhận diện được trên kính hiển vi điện tử để chẩn đoán vẫn còn được bảo tồn (như các cấu liên bào, hạt chế tiết thân kinh, hạt sắc tố). Cách tiến hành lấy mẫu như sau:

– Cắt bỏ lát mỏng 1 mm từ bờ của bệnh phẩm nơi tiếp xúc trực tiếp với dung dịch cố định.

– Tiến hành như đối với mô tươi (mục III.1).

IV. KẾT QUẢ

Các mẫu mô được lấy và bảo quản trong môi trường bảo quản đúng quy định để làm xét nghiệm hiển vi điện tử đạt yêu cầu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Trong trường hợp bệnh phẩm bỏ nhầm vào dung dịch cố định khác, cần loại bỏ và lấy lại bệnh phẩm mới.

– Nếu hết bệnh phẩm để lấy, cần đưa ngay bệnh phẩm đã cố định ra, cắt lọc bớt 1mm phần bệnh phẩm tiếp xúc với dung dịch cố định để lấy phần bệnh phẩm còn lại. Nếu bệnh phẩm quá ít, nhỏ, không cắt lọc được, bắt buộc phải bỏ đi.

– Bệnh phẩm bị hoại tử không quan sát được hình thái tế bào: phải pha bệnh phẩm tươi, ngay khi được lấy ra khỏi mô phải cho ngay vào dung dịch bảo quản. Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm bị hư hại, hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch bảo quản làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch bảo quản vào lọ trước khi pha với lượng dịch đủ lớn và thả bệnh phẩm đã pha ngập trong dung dịch.

4. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM ĐỂ XÉT NGHIỆM THỤ THỂ HORMON

I. NGUYÊN TẮC

Tốt nhất là lấy mẫu mô tươi, giữ lạnh sâu bệnh phẩm ở trạng thái đông cho tới khi mẫu được mang đến một phòng xét nghiệm phù hợp hoặc phải cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm trong formol đậm trung tính 10% trước khi đưa về phòng xét nghiệm.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

- Bình cấp ni tơ lỏng trữ bệnh phẩm đã phẫu tích.

- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm tươi do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể:
 - + Loại mô xét nghiệm
 - + Vùng lấy bệnh phẩm
 - + Số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm
 - + Màu sắc bệnh phẩm
 - + Kích thước bệnh phẩm
 - + Đặc điểm hình thái diện cắt

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Khám nghiệm mẫu mô ở trạng thái tươi, ngay sau khi được cắt khỏi cơ thể; lựa chọn mẫu cẩn thận, tránh những vùng hoại tử, mô mỡ và những vùng không phù hợp khác.
- Cắt và lấy mẫu mô đường kính lớn nhất khoảng 1cm (hoặc đủ lớn có thể chấp nhận được). Dụng cụ phải sạch nhưng không cần tiệt trùng.
- Làm đông băng mẫu bằng ni tơ lỏng (-70°C) trong isopentan hoặc xit chất làm đông băng.
- Giữ lạnh sâu ở trạng thái đông băng cho tới khi mẫu được mang đến một phòng xét nghiệm phù hợp.
- Lấy một mẫu mô khác ở ngay cạnh chỗ cũ để làm xét nghiệm mô bệnh học (với mục đích kiểm chứng) và xem như là một mẫu tương đồng.
- Khi tổn thương quá nhỏ ($< 1\text{cm}$) không thể phân ra để làm kỹ thuật sinh hóa, hãy cắt lạnh và cắt trong tủ -70°C để sau đó nhuộm hóa mô miễn dịch tìm thụ thể.

IV. KẾT QUẢ

– Các mẫu mô tươi được cố định trong dung dịch formol đậm trung tính 10% hoặc được làm đông băng ngay lập tức cho tới khi làm xét nghiệm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Trong trường hợp bệnh phẩm bỏ nhầm vào dung dịch cố định, cần loại bỏ và lấy lại bệnh phẩm mới. Nếu hết bệnh phẩm để lấy, cần đưa ngay bệnh phẩm đã cố định ra, cắt lọc bớt 1mm phần bệnh phẩm tiếp xúc với dung dịch cố định để lấy phần bệnh phẩm còn lại. Nếu bệnh phẩm quá ít, nhỏ, không cắt lọc được, bắt buộc phải bỏ đi hoặc được thực hiện như quy trình thường qui và làm xét nghiệm thụ thể trên các khối nền..

– Bệnh phẩm bị hoại tử không quan sát được hình thái tế bào: phải phẫu tích bệnh phẩm tươi, ngay khi được lấy ra khỏi mô cho đông băng ngay. Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm bị hư hại, hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.

5. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TỪ SINH THIẾT LỖI KIM

I. NGUYÊN TẮC

Với các bệnh phẩm sinh thiết lõi kim, để chẩn đoán mô bệnh học, cần sử dụng toàn bộ, không cắt nát bệnh phẩm và không làm dập bệnh phẩm bằng các dụng cụ pha bệnh phẩm. Bệnh phẩm cần được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới được đựng trong dung dịch formol đậm trung tính 10% (cố định tại chỗ ngay sau khi sinh thiết), hoặc gửi ngay tới khoa giải phẫu bệnh, không gói bệnh phẩm trong gạc vì sẽ làm khô bệnh phẩm.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Dùng kẹp không có máu lấy mẫu mô khỏi dung dịch cố định. Nếu mẫu mô dài, không cắt ngang mẫu mô mà cuộn lại trong khuôn nhựa (cassette).

– Xem xét kỹ lọ chứa và bên dưới nắp lọ để không bỏ sót những mảnh mô nhỏ.

– Dùng 1 túi lọc bọc mẫu mô lại.

– Nếu lõi mô dài > 1cm hoặc có 2 lõi mô và nếu có dự tính sẽ nhuộm mỡ, nên lưu trữ 1 mẫu 3-5 mm trong formol đậm trung tính 10%.

2. Mô tả đại thể

– Loại mô xét nghiệm

– Vùng lấy bệnh phẩm

– Số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm

– Màu sắc bệnh phẩm

– Kích thước bệnh phẩm

– Đặc điểm hình thái khác: mật độ...

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

Dùng tất cả mẫu bệnh phẩm nhận được (ngoại trừ khi có nhuộm mỡ).

IV. KẾT QUẢ

Các mẫu mô được lấy toàn bộ, không bị vụn nát, không bị hoại tử, cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Trong trường hợp mẫu mô bị nát ngay từ khi nhận bệnh phẩm, cần đưa toàn bộ số bệnh phẩm đó vào trong một túi lọc (túi trà).

– Bệnh phẩm bị hoại tử không quan sát được hình thái tế bào: phải cho bệnh phẩm tươi ngay khi được lấy ra khỏi mô vào dung dịch cố định. Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm bị hư hại, hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

6. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CÁC TỔN THƯƠNG LẠNH TÍNH CỦA DA

I. NGUYÊN TẮC

Với các bệnh phẩm sinh thiết tổn thương lạnh tính của da, để chẩn đoán mô bệnh học: không cắt nát bệnh phẩm và không làm dập bệnh phẩm bằng các dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm. Bệnh phẩm cần được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã phẫu tích còn dư lại đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Thường các bệnh phẩm nốt ruồi và các tổn thương lành tính khác của da có rìa diện cắt mỏng và kích thước của bệnh phẩm tùy thuộc vào kích thước của tổn thương.

– Cố định kỹ bệnh phẩm trước xử lý.

– Nếu có nghi ngờ ác tính trên lâm sàng hoặc đại thể, nên đánh dấu diện cắt bằng mực Tàu.

2. Mô tả đại thể

– Kích thước bệnh phẩm

– Hình dạng của bệnh phẩm

– Đặc điểm bề mặt; có tổn thương hay không?

– Mô tả vùng tổn thương:

+ Kích thước

+ Màu sắc

+ Các đặc điểm khác

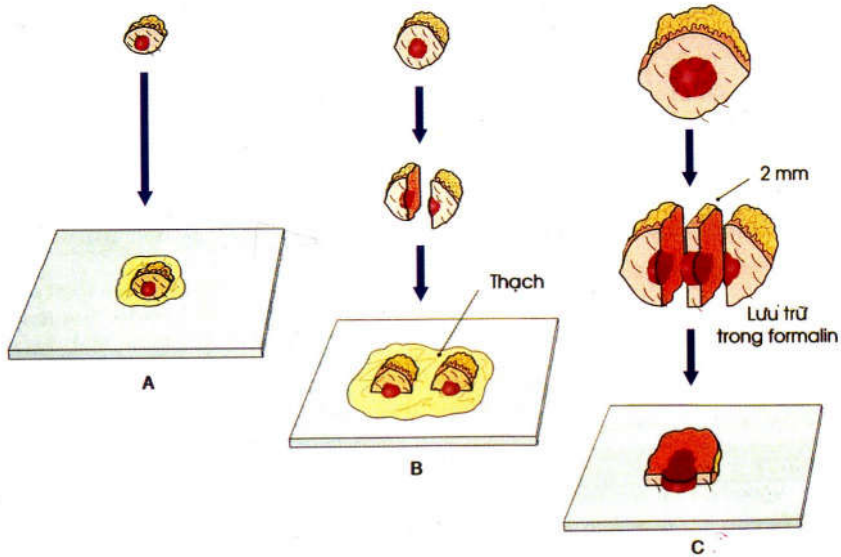
+ Đại thể diện cắt liên quan?

– Nếu cắt ngang bệnh phẩm, mô tả bề mặt của lát cắt.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

– Đối với bệnh phẩm < 3 mm: lấy trọn không cắt nhỏ (Hình 1A).

- Đối với bệnh phẩm từ 4 - 6 mm chiều ngang: cắt ở giữa và lấy cả 2 (hình 1B).
- Đối với bệnh phẩm có chiều ngang > 7mm, cắt lát 2 - 3 mm từ vùng giữa để làm xét nghiệm mô bệnh học và cố định phần còn lại trong formol đậm trung tính 10% (hình 1C).
- Đảm bảo các lát cắt vuông góc với bề mặt da được vùi tốt.



Hình 1. Phẫu tích bệnh phẩm tổn thương lành tính của da

IV. KẾT QUẢ

Các mẫu mô có đủ phần tổn thương và vùng lành, cố định đúng cách.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Bệnh phẩm có vùng tổn thương khó đánh giá ranh giới: cần đánh dấu tổn thương bằng mực Tàu.
- Những bệnh phẩm không cố định đúng cách, bị hoại tử là không thể sửa chữa được do đó cần cố định đúng.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

7. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CÁC TỔN THƯƠNG ÁC TÍNH HOẶC NGHI ÁC TÍNH CỦA DA

I. NGUYÊN TẮC

Với các bệnh phẩm sinh thiết tổn thương ác tính hoặc nghi ác tính của da, để chẩn đoán mô bệnh học cần mô tả đầy đủ đặc điểm đại thể của tổn thương, lấy được đại diện các vùng mô u, vùng giáp ranh mô u với mô lành và diện cắt. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10% (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã phẫu tích còn dư lại để đem huỷ.

– Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích .

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Đánh dấu tất cả diện cắt bằng mực Tàu.

– Chụp ảnh đại thể và diện cắt (trường hợp u to và nhận dạng vị trí cắt lọc).

2. Mô tả đại thể

2.1. Hình dạng và kích thước bệnh phẩm

2.2. Đặc điểm của tổn thương

- Kích thước tổn thương

- Hình dạng tổn thương: nhô lên hoặc lõm, loét?

- Màu sắc tổn thương

- Rìa diện cắt (giới hạn rõ hoặc không, phẳng hoặc gò)

- Khoảng cách từ u đến diện cắt

- Các nốt vệ tinh?

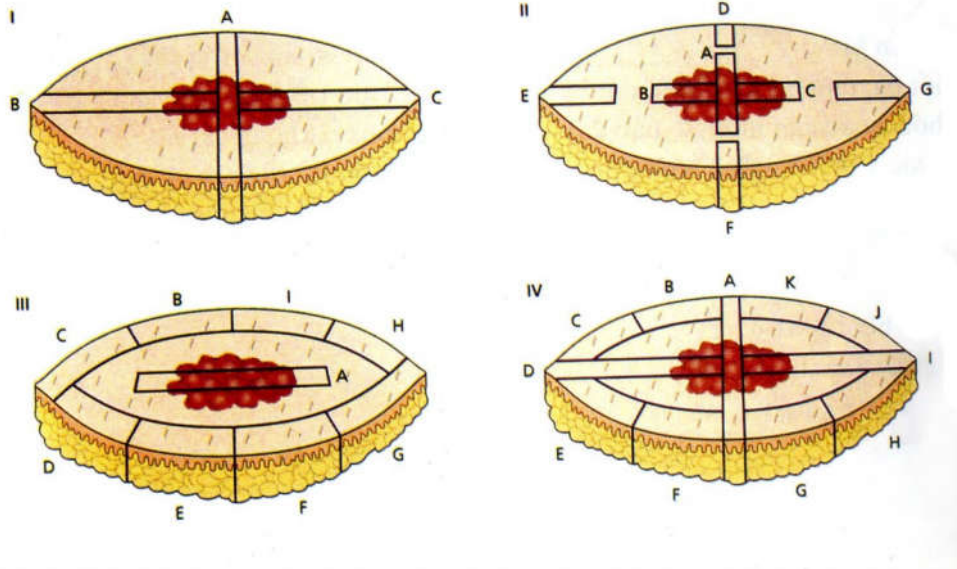
3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

3.1. Bệnh phẩm nhỏ: dài nhất 5cm: cắt các lát song song 3 mm cho hết bệnh phẩm, cần nhớ cắt lát đầu tiên từ giữa tổn thương cho đến diện cắt gần nhất (hình 2.1).

3.2. Bệnh phẩm lớn (hình 2.II)

– U: cắt các lát song song vuông góc với mặt da cách nhau 3 mm cho đến khi hết tổn thương.

– Diện cắt: cắt các lát tiếp tuyến dọc theo toàn bộ diện cắt và cả diện cắt phía dưới tổn thương.



Hình 2. Phân tích bệnh phẩm tổn thương ác tính hoặc nghi ác tính của da

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm pha được chứa toàn bộ tổn thương, các diện cắt và được cố định đúng quy cách.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể (< 30 phút kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm da thường dai, khó cắt hơn. Vì vậy, nên dùng dao sắc để tránh day nát tổn thương.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ, không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

8. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CÁC TỔN THƯƠNG DA (SINH THIẾT BẰNG KÌM BẮM)

I. NGUYÊN TẮC

Nếu đường kính bệnh phẩm $\leq 4\text{mm}$, cắt đôi theo chiều dọc. Nếu bệnh phẩm $\geq 5\text{mm}$, dùng cả 2 mẫu đã cắt đôi làm xét nghiệm mô bệnh học. Nếu bệnh phẩm thuộc bệnh lý loại mụn rộp, nên giữ nguyên để làm xét nghiệm mô bệnh học, xác định được rìa sinh thiết. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10% (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).
- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.
- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã phẫu tích còn dư lại để đem hủy.

– Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Nhận bệnh phẩm toàn bộ. Nếu đường kính $\leq 4\text{mm}$, cắt đôi theo chiều dọc. Nếu bệnh phẩm $\geq 5\text{mm}$, dùng cả 2 mẫu đã cắt đôi làm xét nghiệm mô bệnh học.

– Nếu bệnh phẩm thuộc bệnh lý loại mụn rộp, nên giữ nguyên để làm xét nghiệm mô bệnh học.

2. Mô tả đại thể

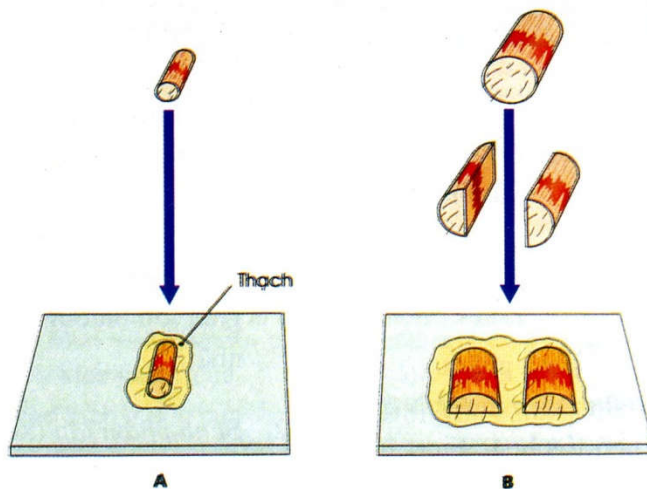
– Đường kính và bề dày của mẫu sinh thiết.

– Tình trạng da bề mặt và mô dưới da kèm theo.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

– Nhận bệnh phẩm toàn bộ

Nếu đường kính $\leq 4\text{mm}$, cắt đôi theo chiều dọc. Nếu bệnh phẩm $\geq 5\text{mm}$, dùng cả 2 mẫu đã cắt đôi làm xét nghiệm mô bệnh học (xem hình vẽ).



Hình 3. Phẫu tích bệnh phẩm tổn thương da sinh thiết bằng kim bấm

- Nếu bệnh phẩm thuộc bệnh lý loại mụn rộp, nên giữ nguyên để làm xét nghiệm mô bệnh học.
- Khăng định chắc chắn các định hướng bờ của mẫu sinh thiết, lấy mẫu theo hướng dẫn ở mục quy trình chuẩn bị.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, các diện cắt, được cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm dính vào thành lọ, không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

9. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CÁC TỔN THƯƠNG DA (SINH THIẾT BẰNG DAO)

I. NGUYÊN TẮC

Nếu bề rộng bệnh phẩm $\leq 3\text{mm}$: lấy toàn bộ bệnh phẩm không cắt bệnh phẩm. Nếu bề rộng $\geq 4\text{mm}$: cắt các lát song song vuông góc với bề mặt da, dày khoảng 2-3 mm, lấy hết bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10% (< 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã phẫu tích còn dư lại để đem huỷ.

– Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

Cạo sinh thiết da: thường thực hiện đối với bệnh sùng hoá hoặc ung thư tế bào đáy, có thể cạo được 1 mảnh mỏng hình tròn hoặc bầu dục.

2. Mô tả đại thể

– Kích thước bệnh phẩm

– Số lượng các mảnh

– Tính chất của bề mặt da.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

– Nếu bề rộng $\leq 3\text{mm}$: lấy toàn bộ bệnh phẩm, không nên cắt ra.

– Nếu bề rộng $\geq 4\text{mm}$: cắt các lát song song dày khoảng 2-3mm, lấy hết bệnh phẩm làm xét nghiệm vi thể.

– Chú ý định hướng rìa bệnh phẩm.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, rìa diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

10. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TỔN THƯƠNG MÔI (BỆNH PHẨM HÌNH CHỮ V)

I. NGUYÊN TẮC

Với các bệnh phẩm sinh thiết nghi tổn thương ác tính của môi, để chẩn đoán mô bệnh học, cần mô tả đầy đủ đặc điểm đại thể của tổn thương, lấy được đại diện các vùng mô u, vùng giáp ranh mô u với mô lành và rìa diện cắt. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10% (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).
- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.
- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã phẫu tích còn dư lại để đem huỷ.

– Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Cố định mẫu mô vài giờ.

– Đánh dấu diện cắt bằng mực Tàu.

– Cắt bệnh phẩm thành từng lát theo chiều dọc của chữ V, mỗi lát 1-2 mm.

2. Mô tả đại thể

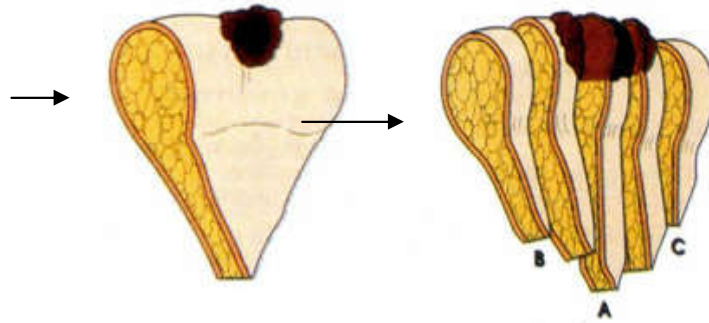
– Kích thước mẫu mô.

– Đặc điểm u: kích thước, hình dạng (loét, dạng polip), vị trí, khoảng cách với diện cắt bao nhiêu cm.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

– Cắt ngang qua trung tâm u, lấy các lát A, B và C theo hình 4.

– Bờ trên, không xén bớt.



Hình 4. Phẫu tích bệnh phẩm tổn thương ở môi

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

11. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM KẾT MẠC MẮT

I. NGUYÊN TẮC

Kết mạc thường mỏng và có xu hướng gấp méo mó khi được bỏ vào dung dịch cố định nên rất cần chú ý để tránh xảy ra hiện tượng này. Không bao giờ đặt bệnh phẩm trên một miếng bọt biển hoặc bất kỳ vật liệu gì vì bệnh phẩm sẽ bị nở phồng lên khi được bỏ vào trong dung dịch cố định và làm méo mó bệnh phẩm. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10% (< 30 phút kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh

phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Để giúp nhà giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học định hướng đúng, phẫu thuật viên nên trải bệnh phẩm lên một mẫu giấy lọc nhỏ và để bệnh phẩm khô trong vài giây trước khi nhẹ nhàng đặt tờ giấy lọc có mẫu mô dính bên trên vào trong lọ đựng dung dịch cố định.

- Chuyển đúc toàn bộ bệnh phẩm.

IV. KẾT QUẢ

Kết mạc chứa chứa toàn bộ tổn thương, không nhăn nhúm, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

12. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM MỨC MẮT

I. NGUYÊN TẮC

Cố định nhãn cầu trong 24 giờ trước khi pha, rửa nước và đặt bệnh phẩm vào trong ethanol 60% thêm vài giờ nữa. Cho ánh sáng xuyên qua nhãn cầu trước khi mở nhãn cầu ra.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

- Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Cố định nguyên nhãn cầu trong formol trung đậm tính 10% trong vòng 24 giờ trước khi cắt lọc; không nên cắt nhãn cầu ra, không nên cắt vào củng mạc hoặc tiêm dung dịch cố định vào dịch kính.

– Rửa dưới vòi nước chảy trong một giờ hoặc nhiều hơn, tối ưu là đặt bệnh phẩm vào trong cồn ethanol 60% thêm vài giờ nữa.

– Xem lại bản tóm tắt bệnh sử, lâm sàng và kết quả khám mắt trước khi cắt lọc.

– Đo đường kính trước sau, đường kính ngang và dọc của nhãn cầu, chiều dài của thần kinh thị và đường kính ngang của giác mạc.

– Tìm vị trí của các chấn thương ngẫu nhiên hoặc do phẫu thuật.

– Cho ánh sáng xuyên qua nhãn cầu trước khi mở nhãn cầu. Dùng đèn kính hiển vi trong một phòng tối là đủ. Xoay nhãn cầu trên nguồn sáng, nếu phát hiện những bóng che bất thường, đánh dấu vị trí trên củng mạc bằng một loại viết chì không bay màu.

– Có thể thực hiện khám nghiệm nhãn cầu bằng kính hiển vi dùng cho cắt lọc (ở vật kính x 7 lần) để phát hiện những tổn thương rất nhỏ.

– Nếu nghi ngờ có dị vật nội nhãn hoặc u nguyên bào võng mạc, chụp X-quang nhãn cầu trước khi mở nhãn cầu.

– Nếu nghi ngờ có u hắc tố ác tính màng mạch, phải cắt lọc ít nhất một tĩnh mạch cuộn ở mỗi 1/4 nhãn cầu.

– Mở nhãn cầu bằng một dao cạo sắc, cầm nhãn cầu bằng tay trái, giác mạc quay xuống dưới, dao cắt đặt giữa ngón cái và ngón giữa của bàn tay phải. Cắt nhãn cầu từ

sau ra trước bằng cử động kéo cưa. Mặt cắt nên bắt đầu gần bên thần kinh thị và kết thúc xuyên qua ngoại vi của giác mạc. Mặt cắt tùy thuộc vào việc tổn thương có hay không được tìm thấy. Nếu không tìm thấy tổn thương, cắt nhãn cầu theo mặt phẳng ngang, sử dụng chỗ dính vào nhãn cầu của cơ chéo trên và cơ chéo dưới và chiều dài của tĩnh mạch sau mi làm các mặt phẳng mốc. Nếu tìm thấy tổn thương, thay đổi mặt cắt sao lưỡi dao đi qua tổn thương.

- Khám nghiệm bên trong nhãn cầu.
- Úp mặt cắt nhãn cầu xuống, cắt thêm một mặt cắt thứ hai song song với mặt cắt thứ nhất và cũng từ sau ra trước.
- Khám nghiệm kỹ lát cắt dạng đĩa dày khoảng 8 mm vừa cắt được, lát cắt này có chứa giác mạc, con ngươi, thấu kính và thần kinh thị. Chụp ảnh hoặc sao chép lại nếu có chỉ định.

2. Mô tả đại thể

2.1. Mắt còn nguyên vẹn

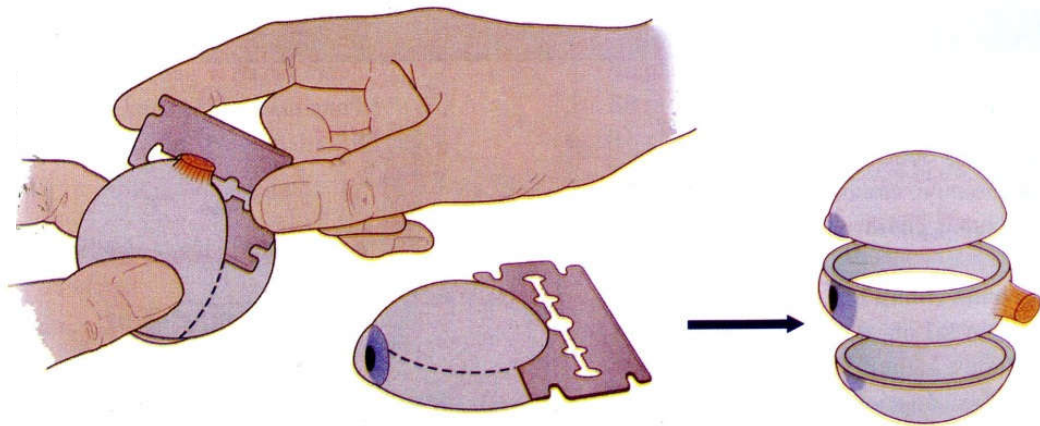
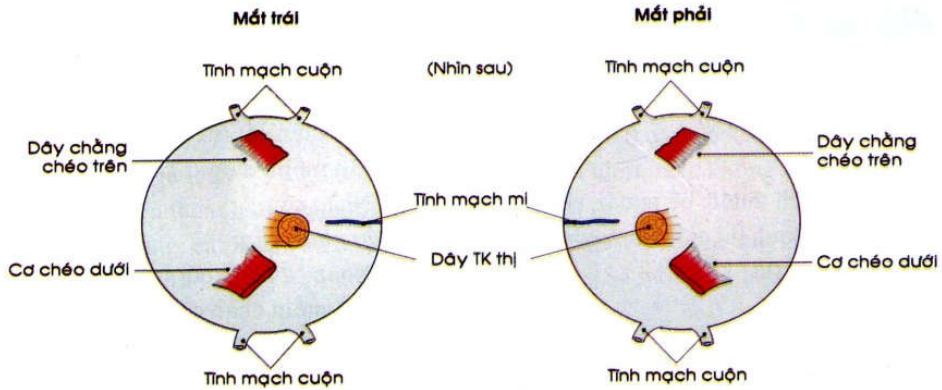
- Nhãn cầu bên phải hay bên trái; đường kính trước sau, ngang, dọc.
- Chiều dài thần kinh thị.
- Đường kính ngang và dọc của giác mạc.
- Phần phía trước: có phẫu thuật cắt rạch? Giác mạc bị đục? Bất thường ở móng mắt? Có thủy tinh thể?
- Những gì thấy được khi quan sát với ánh sáng xuyên.

2.2. Trên lát cắt

- Bề dày giác mạc; chiều sâu tiền phòng, hình thể của góc tiền phòng.
- Tình trạng móng mắt, thể mi và thủy tinh thể.
- Tình trạng màng mạch, võng mạc, thể kính và đĩa thị.
- Nếu có u: vị trí, kích thước, màu sắc, bờ, mật độ, có chảy máu hoặc hoại tử, các cấu trúc của mắt bị ảnh hưởng, lan tràn vào thần kinh thị.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Lát cắt toàn bộ mắt.
- Bất cứ vùng bất thường nào.
- Trong trường hợp có u, đặc biệt là u nguyên bào võng mạc: lát cắt ngang bờ giải phẫu của thần kinh thị.
- Trong trường hợp nghi ngờ u hắc tố ác tính: lấy mẫu từ ít nhất 1 tĩnh mạch cuộn của mỗi 1/4 nhãn cầu.



Hình 5. Phẫu tích bệnh phẩm mức mắt

IV. KẾT QUẢ

Các bệnh phẩm chứa toàn bộ các tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

13. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM THANH QUẢN

I. NGUYÊN TẮC

Với các bệnh phẩm sinh thiết tổn thương thanh quản để chẩn đoán mô bệnh học cần mô tả đầy đủ đặc điểm đại thể của tổn thương, vị trí tổn thương, lấy được đại diện các vùng mô u, vùng giáp ranh mô u với mô lành và rìa diện cắt. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol trung tính 10% (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).
- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.
- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.
- Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh

phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

- Máy ảnh.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Có 3 loại cắt thanh quản: cắt 1/2 thanh quản, cắt thanh quản trên sụn nắp và cắt thanh quản toàn phần.

1. Quy trình chuẩn bị

– Tách riêng bệnh phẩm thanh quản với bệnh phẩm nạo vét hạch cổ.

– Đối với bệnh phẩm cắt thanh quản trên sụn nắp hay cắt thanh quản toàn phần: mở thanh quản dọc theo đường giữa mặt sau, giữ thanh quản mở rộng bằng cách ghim kim trên 1 tấm bảng.

– Chụp ảnh nếu cần.

– Cố định qua đêm.

– Cắt xương móng, sụn thanh quản và sụn phế, cố giữ nguyên cả phần mô mềm.

– Chụp ảnh và nhận diện từng vị trí cắt lọc.

– Đánh dấu diện cắt bằng mực Tàu (khí quản, hạ hầu...).

– Hướng theo trục trên - dưới và trước - sau.

– Xử lý bệnh phẩm nạo hạch cổ theo hướng dẫn trong phần "Nạo hạch cổ".

2. Mô tả đại thể

– Loại phẫu thuật cắt thanh quản, các cơ quan kèm theo: xương móng, vòng khí quản, tuyến giáp.

– Đặc điểm u: vị trí, bên trái hay phải hay u lan qua đường giữa, kích thước, sùi hay luồn vào trong, có loét không. Độ sâu xâm lấn, có thâm nhiễm ra ngoài thanh quản không. Tình trạng niêm mạc ở chỗ không u.

– Đối với u băng thanh thất: chiều dài phần dây thanh bị liên quan, có thâm nhiễm ra rãnh trước - sau hay các phần khác của thanh quản không.

– Đối với u nằm trên băng thanh thất: có dính với xương móng không. U nằm trên hay dưới xương móng không. Có xâm lấn ra các phần khác (dây thanh giả, khoảng trước sụn nắp...) không.

– Nếu có kèm theo tuyến giáp: kích thước, trọng lượng, hình dáng, có bị u xâm lấn không. Có tuyến cận giáp hoặc hạch quanh thanh quản (delphian) không. Nếu có mở khí quản: xem u có xâm lấn khí quản không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Lát cắt dọc u.
- Lát cắt của thanh quản và cả sụn nắp thanh quản.
- Sụn giáp phần bị xâm lấn (nếu có).
- Mô giáp, mô cận giáp và phần mở khí quản (nếu có).
- Hạch cổ (xem phần: "Nạo hạch cổ tận gốc").

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thốt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.

14. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM PHỔI

I. NGUYÊN TẮC

Làm căng nhu mô phổi trước khi pha nếu là bệnh phổi kẽ. Lấy đủ các vị trí của u (nếu bệnh phẩm là u phổi), các hạch, màng phổi và xương sườn (nếu có).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Tủ lạnh hoặc hộp cách nhiệt chứa đá lạnh hoặc đá khô để trữ bệnh phẩm nếu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể chưa pha ngay. Tốt nhất là cố định ngay toàn bộ bệnh phẩm (trong vòng 30 phút, kể từ khi bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể) trước khi tiến hành phẫu tích.

– Máy ảnh

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm sinh thiết

1.1. Quy trình chuẩn bị

– Lấy mẫu cấy vi khuẩn cho các tổn thương nghi nhiễm khuẩn.

– Lấy mẫu hiển vi điện tử hoặc cắt lạnh nếu có chỉ định.

– Lấy mẫu sinh thiết ở người bệnh nghi ngờ có bệnh phổi kẽ thì phải cố định mẫu trong tình trạng căng phòng. Tình trạng căng phòng này có thể làm bằng 1 trong 3 phương pháp sau:

+ Phẫu thuật viên nên sinh thiết phổi bằng cách kẹp chặt phần mô phổi sinh thiết ở trạng thái căng phòng và cố định ngay tức khắc vào formol đậm trung tính 10% sau khi cắt.

+ Những ống dẫn khí nhỏ và/hoặc những mạch máu được đặt ống thông vào dưới kính hiển vi phẫu tích (việc này khó thực hiện và phức tạp).

+ Mẫu mô được làm căng phòng chậm bằng formol đậm trung tính 10% hoặc dung dịch cố định khác (dùng kim bướm 25G gắn vào ống tiêm nhỏ), xuyên kim qua màng phổi và bơm nhẹ nhàng dung dịch cố định cho đến khi mẫu mô căng phòng tốt. Nếu mẫu lớn nên bơm nhiều chỗ. Sau khi căng phòng, mẫu mô được ngâm vào formol đậm trung tính 10%, cố định ít nhất 1 giờ, sau đó cắt những lát song song.

1.2. Mô tả đại thể

– Kích thước, trọng lượng bệnh phẩm.

– Màng phổi: dày, xơ không.

– Nhu mô phổi: đặc không, xơ lan tỏa không, có tổn thương nốt giới hạn rõ không.

1.3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

Lấy toàn bộ mẫu sinh thiết.

2. Bệnh phẩm mô u phổi

2.1. Quy trình chuẩn bị

- Cắt lọc hạch rốn phổi thành 1 khối.
- Tùy vị trí u và tình trạng phổi lúc tiếp nhận ở phòng xét nghiệm, có 2 phương án:
 - + Mô dọc phế quản gốc và các nhánh bằng kéo, cắt các lát song song qua mô tổn thương và mô phổi.
 - + Bơm formol đậm trung tính 10% qua phế quản gốc, kẹp lại và cố định mô phổi qua đêm, sau đó cắt từng lát cách nhau 0,5cm bằng dao sắc. Nên cắt theo mặt phẳng trán, vuông góc với rốn phổi. Các lát cắt nên giữ theo thứ tự.
- Nếu nghi ngờ nhiễm lao, nhiễm trùng khác hoặc bệnh bụi phổi nên theo thực hiện tiền trình: cắt lọc bệnh phẩm phổi không do u.
- Nếu có cắt thêm xương sườn, tham khảo hướng dẫn cắt lọc tùy xương.

2.2. Mô tả đại thể

- Trọng lượng bệnh phẩm và loại phẫu thuật.
- Màng phổi: xơ, fibrin hóa, u xâm lấn màng phổi thành không.
- Đặc điểm u: kích thước, vị trí (thùy, phân thùy) liên quan với phế quản, chảy máu không, hoại tử không, hóa hắc không xâm lấn mạch máu, màng phổi, khoảng cách đến phế quản cắt và màng phổi không.
- Hình dạng mô phổi lành.
- Số lượng, hình dạng hạch vùng.

2.3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U: 3 lát cắt, gồm cả lát có liên quan với phế quản.
- Mô phổi lành và màng phổi: 3 lát, ít nhất 1 lát xa u.
- Phế quản liên quan: 1 lát cắt ngang.
- Hạch: hạch rốn phổi và hạch trung thất.
- Xương sườn (nếu cần).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, cố định đúng quy định. Lấy đủ bệnh phẩm cho các yêu cầu xét nghiệm.

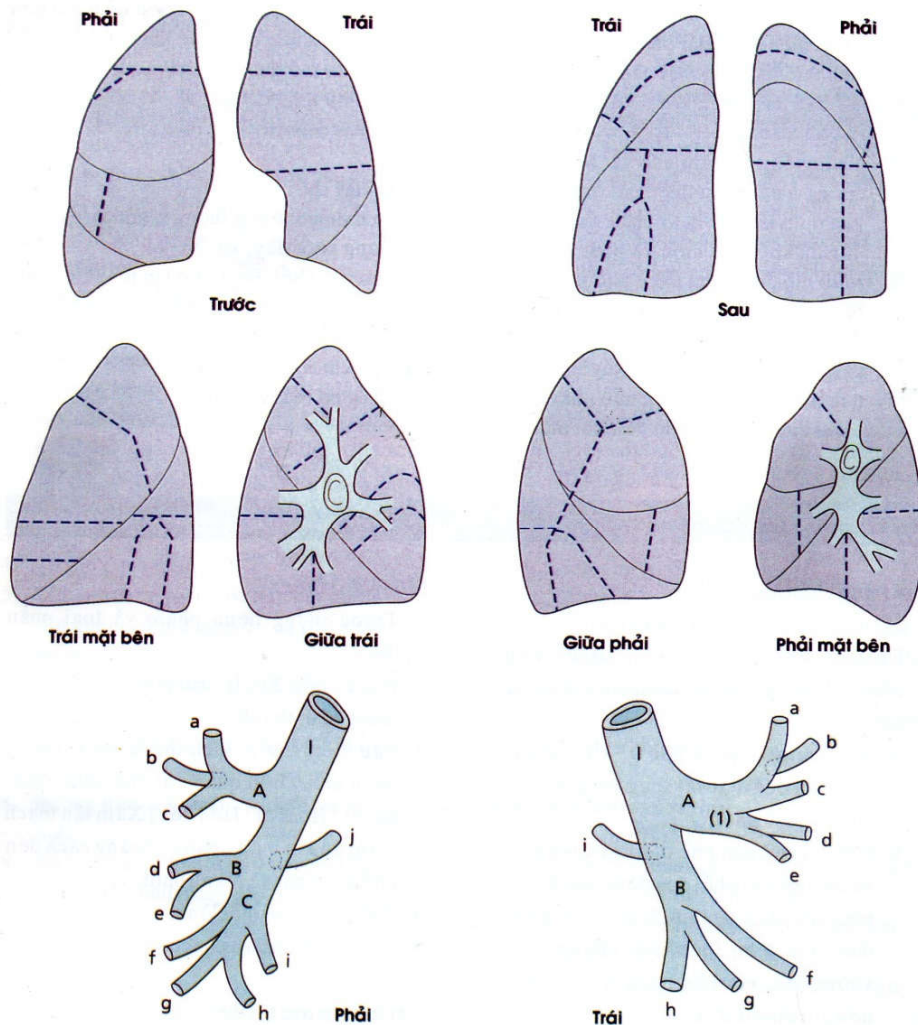
V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần phẫu tích trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt phẫu tích bệnh phẩm, dụng cụ phẫu tích phải rửa sạch trước khi phẫu tích từng bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm dính vào thành lọ không được ngâm trong dung dịch cố định làm hỏng bệnh phẩm: nên cho dung dịch cố định vào lọ trước khi phẫu tích với lượng dịch đủ lớn (> 20 lần thể tích bệnh phẩm) và thả bệnh phẩm đã phẫu tích ngập trong dung dịch cố định.



Hình 6. Phẫu tích bệnh phẩm u phổi

15. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TUYẾN ỨC

I. NGUYÊN TẮC

Mô u cắt ít nhất 3 lát, vùng tuyến ức ngoài u cắt 2 lát và cắt thêm các cấu trúc lân cận (nếu có). Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phân mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Cân toàn bộ bệnh phẩm. Cắt những lát song song khi bệnh phẩm còn tươi hoặc sau khi đã cố định bằng formol đậm trung tính 10%.
- Tìm các hạch quanh tuyến ức.

2. Mô tả đại thể

- Cân, đo bệnh phẩm; có phân biệt được 2 thùy không.
- Tỷ lệ giữa nhu mô tuyến ức và mô liên kết xơ mỡ không.
- Đặc điểm u: hình dạng, kích thước, hình dạng ngoài mặt (trơn láng hoặc nổi cục), mặt cắt, màu sắc, hoại tử, dải xơ, hoá vôi, hoá nang (kích thước, chất chứa bên trong) không.
- Cấu trúc lân cận, nếu có (màng phổi, phổi, màng tim, hạch) không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U: 3 lát cắt trở lên; ít nhất 2 lát cắt có chứa vỏ bao.
- Vùng tuyến ức ngoài u: 2 lát cắt
- Các cơ quan khác, nếu có (phổi, hạch).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bao tuyến ức, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thót pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

16. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM TUYẾN GIÁP

I. NGUYÊN TẮC

Số mảnh bệnh phẩm và vị trí lấy tùy thuộc vào loại tổn thương, loại phẫu thuật. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Phẫu thuật tuyến giáp gồm: bóc nhân giáp, cắt thùy, cắt bỏ tuyến giáp gần toàn bộ và toàn bộ.

1. Quy trình chuẩn bị

- Cân, đo bệnh phẩm.
- Định hướng bệnh phẩm, cắt thành những lát dọc song song dày 5mm khi bệnh phẩm còn tươi hay đã cố định bằng formol đậm trung tính 10%.
- Tìm tuyến cận giáp trong mô mỡ xung quanh.

2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật tuyến giáp: cắt thùy, cắt eo, cắt gần toàn bộ hay cắt toàn bộ.
- Trọng lượng, hình dạng, màu sắc, mật độ của bệnh phẩm.
- Mặt cắt: nhẵn hay có nhân không. Nếu có nhân giáp: số lượng, kích thước, hình dạng của các nhân (nang hóa không, vôi hóa không, chảy máu không, hoại tử không); có vỏ bao hay xâm nhập vào vỏ, qua vỏ không, khoảng cách đến diện cắt không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Tổn thương lan tỏa hoặc viêm: 3 lát cắt từ 2 thùy và eo giáp.
- Nhân giáp đơn độc, có vỏ < 5cm đường kính: mỗi cm 1 lát cắt qua nhân, có chứa cả vỏ và mô giáp xung quanh (nếu có).
- Bước đa nhân: mỗi nhân giáp 1 lát cắt; nếu nhân lớn có thể cắt thêm; lát cắt nên có bờ nhân giáp và mô giáp xung quanh.
- Ung thư hoặc nghi ung thư tuyến giáp dạng nhú: cắt, lấy toàn bộ kể cả diện cắt và phẫu tích hệ thống hạch liên quan (nếu có).
- Các ung thư tuyến giáp khác: 3 lát cắt cho u, 3 cho mô giáp quanh u, 1 cho diện cắt và phẫu tích cả hệ thống hạch liên quan (nếu có).
- Tuyến cận giáp nếu có.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, vỏ bao tuyến giáp, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thót pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

17. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TUYẾN CẬN GIÁP

I. NGUYÊN TẮC

Cân bệnh phẩm chính xác trước khi pha. Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).
- Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.
- Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.
- Thớt nhựa phẳng: 02 cái.
- Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Dùng loại cân chính xác để cân trọng lượng mỗi tuyến sau khi đã lột bỏ mô mỡ quanh tuyến.
- Đánh dấu mỗi tuyến cận giáp theo vị trí phải, trái.

2. Mô tả đại thể

Cân nặng, màu sắc, mật độ và vẻ ngoài của mỗi tuyến.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

Đánh dấu vị trí của tất cả các tuyến cận giáp (trừ trường hợp tuyến quá lớn phải cắt ít nhất là 3 lát).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

18. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM U TUYẾN NƯỚC BỌT

I. NGUYÊN TẮC

Lấy vùng mô u ít nhất 4 mảnh ở 4 vùng khác nhau. Lấy hạch, mô kế cận (nếu có). Bệnh phẩm cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Có 3 loại phẫu thuật thường gặp: cắt thùy nông tuyến mang tai, cắt toàn bộ tuyến mang tai và cắt toàn bộ tuyến dưới hàm.

1. Quy trình chuẩn bị

- Đánh dấu bờ phẫu thuật bằng mực Tàu.
- Cố định toàn bộ hoặc cắt đôi bệnh phẩm tươi tùy theo kích thước bệnh phẩm.
- Cắt các lát song song.
- Tìm hạch trong tuyến mang tai và dây thần kinh lớn trong bệnh phẩm cắt tuyến mang tai.
- Nếu bệnh phẩm gồm có mô hạch (nạo hạch cổ tận gốc), xử lý theo phần hướng dẫn của cắt lọc hạch.

2. Mô tả đại thể

2.1. Loại bệnh phẩm

Cắt thùy tuyến mang tai, cắt tuyến mang tai toàn phần không cắt thần kinh mặt, cắt tuyến mang tai toàn phần có cắt thần kinh mặt, cắt tuyến dưới hàm toàn phần; bên phẫu thuật: trái hoặc phải.

2.2. U

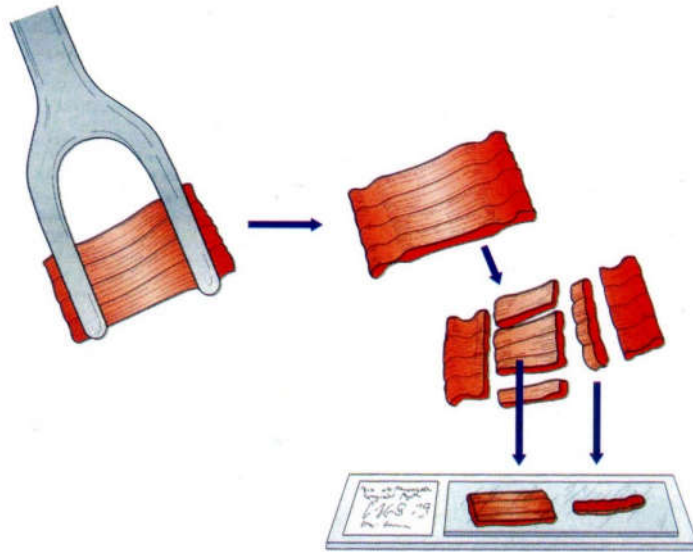
Kích thước, vị trí, hình dạng, khoảng cách đến bờ gần nhất; 1 khối u hoặc nhiều khối. Dạng u nang hoặc đặc. Có vỏ bọc không. Giới hạn rõ hoặc không rõ. Chảy máu. Hoại tử. Có lan rộng ngoài tuyến nước bọt không.

2.3. Bề ngoài của tuyến không có u

2.4. Bề ngoài của hạch trong tuyến mang tai và các hạch khác

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học (xem hình 7)

- U: lấy 4 hoặc hơn 4 lát, tùy thuộc vào kích thước; vỏ bọc hoặc bờ u.
- Tuyến không có u.
- Bờ phẫu thuật.
- Bờ thần kinh mặt nếu có.
- Hạch nếu có.



Hình 7. Phần tích bệnh phẩm u tuyến nước bọt

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

19. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM THỰC QUẢN

I. NGUYÊN TẮC

Bệnh phẩm phải mở dọc khi còn tươi (đường đối diện với u), ghim bệnh phẩm lên thớt lie, ngâm trong dung dịch cố định qua đêm rồi mới phẫu tích. Lấy cả mô u, rìa diện cắt, vùng nối thực quản - dạ dày (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn phẫu tích bệnh phẩm: kích thước 150cm x 120cm x 80cm, chiều cao có thể thay đổi để thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Giá đựng bệnh phẩm lưu trữ nhiều tầng: 01 cái, kích thước 200cm x 60cm x 200cm (kích thước có thể thay đổi cho phù hợp với diện tích của phòng phẫu tích bệnh phẩm, chiều cao mỗi ngăn nên từ 40cm-50cm).

– Dao sắc có chuôi cầm: 02 cái, dao lưỡi mỏng: 02 cái.

– Kẹp phẫu tích có máu và không máu: mỗi loại 02 cái có chiều dài khác nhau.

– Thớt nhựa phẳng: 02 cái.

– Các lọ chứa dung dịch formol đậm trung tính 10% để đựng bệnh phẩm, số lượng lọ có dung dịch cố định phụ thuộc vào số lượng mẫu cần lấy (mỗi mẫu 01 lọ). Lượng dung dịch cố định phải lớn hơn 20 lần thể tích bệnh phẩm cố định.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ: 03 bộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm xét nghiệm thêm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư lại để đem huỷ.

– Máy ảnh để chụp tổn thương.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Mức độ cắt bỏ thực quản tùy thuộc vào loại và vị trí của tổn thương.

1. Quy trình chuẩn bị

Phẫu tích bệnh phẩm ở trạng thái còn tươi; mở dọc thực quản, tránh cắt qua vùng tổn thương sau khi đã đánh dấu mặt ngoài bằng mực Tàu. Nếu có cả một phần của dạ dày, mở dọc theo bờ cong lớn liên tục với đường cắt thực quản (xem hình 8). Chụp ảnh tổn thương.

– Phẫu tích hạch cạnh thực quản, chia thành ba vùng: kế cận, ở đầu gần, và ở đầu xa của u (ở đầu xa có thể gồm cả các hạch tâm vị).

– Ghim bệnh phẩm lên một bảng bằng lie, niêm mạc lên trên, và thả vào một chậu lớn chứa formol đậm trung tính 10%, bệnh phẩm nằm quay xuống dưới; cố định qua đêm.

2. Mô tả đại thể

– Chiều dài và đường kính hoặc chu vi của bệnh phẩm, bao gồm cả dạ dày? (nếu có, cho biết chiều dài dọc theo bờ cong lớn và bờ cong nhỏ).

– U: kích thước, hình thái: có sùi, loét, dạng polyp, thâm nhiễm một phần hoặc toàn bộ chu vi, độ sâu thâm nhiễm. Khoảng cách từ u đến hai đầu diện cắt là bao nhiêu. Nếu u ở cạnh đường Z, có xâm lấn dạ dày không.

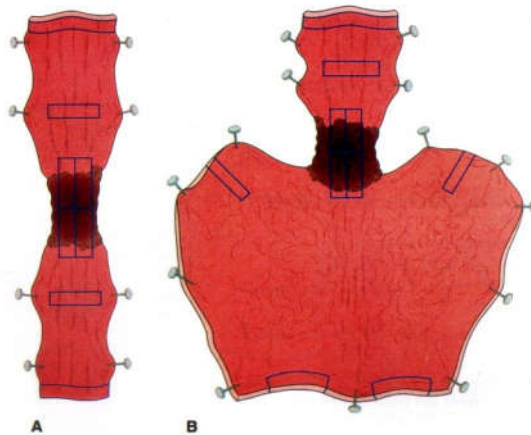
– Niêm mạc: tình trạng niêm mạc lành quanh u; có nhận ra được niêm mạc thực quản phía xa u không. Có bằng chứng của thực quản Barrett không (nếu có, chiều dài của đoạn tổn thương và bề mặt của niêm mạc); lòng thực quản bị dẫn phía gần u không.

– Thành: dày lên không. Có dẫn tĩnh mạch không.

- Dạ dày (nếu có): đặc điểm của chỗ nối thực quản dạ dày và niêm mạc dạ dày.
- Hạch: số lượng hạch tìm thấy, kích thước hạch to nhất; đại thể có hình ảnh nghi ngờ bị di căn?

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U: 4 lát cắt dọc.
- Phần niêm mạc không u: 2 đến 3 lát cắt ngang, ở những khoảng cách khác nhau kể từ bờ u, phía đầu gần và/hoặc đầu xa, tùy theo vị trí của u.
- Dạ dày, nếu có: 2 lát cắt, một bao gồm chỗ nối dạ dày thực quản.
- Diện cắt thực quản và dạ dày.
- Hạch:
 - + Sát cạnh u.
 - + Phía gần u.
 - + Phía xa u.



Hình 8. Phẫu tích bệnh phẩm thực quản

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, mô dạ dày (nếu có), cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

20. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM PHẪU THUẬT U DẠ DÀY

I. NGUYÊN TẮC

Mở dạ dày theo bờ cong lớn, ghim toàn bộ bệnh phẩm lên thớt lie, ngâm trong dung dịch cố định ít nhất 3 giờ rồi mới pha. Lấy cả mô u, rìa diện cắt, hạch (nếu có). Lát cắt phải vuông góc với hướng đi của nếp gấp niêm mạc. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy ảnh để chụp tổn thương.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bệnh phẩm thu được từ phẫu thuật cắt dạ dày toàn phần (gồm cả tâm vị và môn vị), bán phần (gồm môn vị) và bán phần ngược (gồm tâm vị).

1. Quy trình chuẩn bị

- Dạ dày được mở dọc theo bờ cong lớn. Khi u ở bờ cong lớn, không được cắt qua u hoặc phải mở theo bờ cong nhỏ. Chụp ảnh tổn thương.
- Phần tích từng nhóm hạch theo sơ đồ và cắt bỏ mạc nối.
- Nếu lách cũng bị cắt bỏ thì lấy các hạch ở vùng rốn lách, đo và cân lách, cắt lách thành từng lát dày 1cm.
- Ghim dạ dày lên tấm lie, cố định qua đêm bằng formol đậm trung tính 10%.
- Đánh dấu diện cắt bằng mực Tàu.
- Các lát cắt phải vuông góc với hướng đi của nếp gấp niêm mạc.

* *Một cách chuẩn bị khác:* bơm formol đậm trung tính 10% vào dạ dày (đối với cắt dạ dày toàn phần) hoặc nhồi bông tẩm formol đậm trung tính 10% (đối với cắt dạ dày bán phần), để cố định qua đêm. Dùng kéo cắt mở phần dạ dày đối diện u.

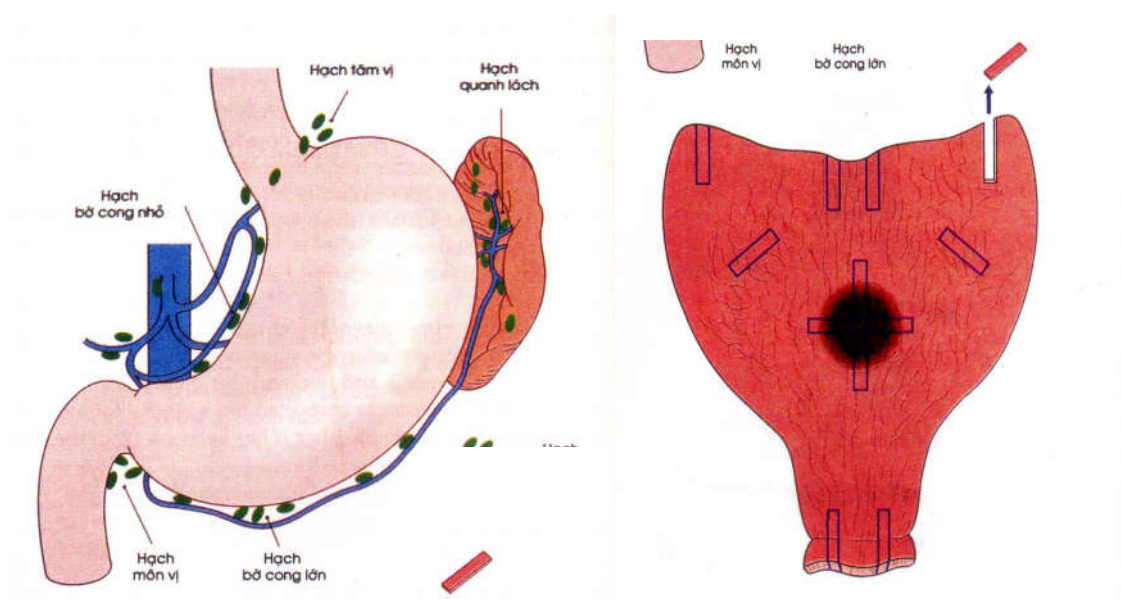
2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật (toàn phần hoặc bán phần); chiều dài của bờ cong lớn, bờ cong nhỏ và hành tá tràng.
- Đặc điểm u: vị trí, kích thước 3 chiều, hình dạng (sùi, loét, thâm nhiễm...), độ sâu xâm nhập, sự xâm nhập thanh mạc, mạch máu; sự lan rộng vào tá tràng, khoảng cách u tới hai đầu diện cắt.
- Tình trạng của vùng niêm mạc ngoài u.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U: 4 lát cắt qua thành dạ dày, bao gồm u và niêm mạc xung quanh.
- Vùng niêm mạc giữa dạ dày sát u: 2 lát cắt.
- Diện cắt dạ dày bờ cong nhỏ (diện cắt trên): 2 lát cắt.

- Diện cắt dạ dày bờ cong lớn: 2 lát cắt
- Diện cắt dưới (cùng với môn vị và tá tràng): 2 lát cắt.
- Lách (nếu có).
- Tụy (nếu có).
- Hạch: theo nhóm hoặc vùng.
 - + Vùng môn vị.
 - + Bờ cong nhỏ.
 - + Bờ cong lớn.
 - + Mạc nối.
 - + Vùng rốn lách.



Hình 9. Phẫu tích bệnh phẩm u dạ dày

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.
- Khi cắt lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm phải lấy theo hết bề dày thành dạ dày có u để đánh giá sự xâm nhập thành dạ dày. Nếu chưa lấy được hết thì phải lấy lại mảnh khác.

21. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM PHẪU THUẬT LOÉT DẠ DÀY

I. NGUYÊN TẮC

Mở dạ dày theo bờ cong lớn, ghim bệnh phẩm lên thớt lie, ngâm trong dung dịch cố định ít nhất 3 giờ rồi mới pha. Ổ loét lấy 4 lát, 2 lát ở bờ giải phẫu gần của bờ cong nhỏ và lớn. Lát cắt phải vuông góc với hướng đi của nếp gấp niêm mạc. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy ảnh để chụp tổn thương.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Phẫu thuật cắt dạ dày (gồm hang vị, môn vị và phần đầu tá tràng) do loét hiện nay ít thực hiện; đối với loét tá tràng đơn thuần, còn có thể cắt cả dây thần kinh X (hiện nay ít thực hiện).

1. Quy trình chuẩn bị

- Quan sát bệnh phẩm tươi.
- Mở bệnh phẩm theo bờ cong lớn. Nếu ổ loét ở bờ cong lớn, tránh cắt qua tổn thương (hoặc mở theo bờ cong nhỏ).
- Phẫu tích các nhóm hạch và cắt bỏ mạc nối lớn.
- Tìm ổ loét chính và các vết loét trội nhỏ của niêm mạc, các nốt trong thành và dưới thanh mạc phối hợp.
- Ghim dạ dày lên tấm bảng lie, cố định qua đệm bằng formol đệm trung tính 10%.
- Chụp hình để xác định vị trí cần cắt lọc.

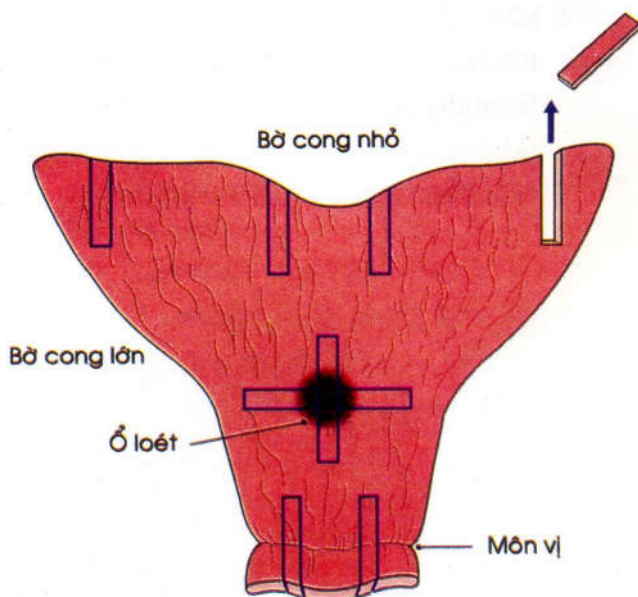
2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật cắt dạ dày; chiều dài bờ cong lớn, bờ cong nhỏ và hành tá tràng.
- Đặc điểm ổ loét: vị trí, kích thước, độ sâu, hình dạng và màu sắc bờ ổ loét (phẳng hay gồ cao không, các nếp niêm mạc đồng quy); sự hiện diện mạch máu lớn ở đáy ổ loét, mạch máu bị thủng; hình thái niêm mạc (nếu không tìm thấy ổ loét, liên hệ với bác sĩ điều trị, bác sĩ chẩn đoán hình ảnh để biết thông tin tránh bỏ sót và phải ghi lại trong phần mô tả đại thể.
- Hình thái của phần niêm mạc ngoài ổ loét: teo, phù nề, xuất huyết.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Ổ loét: ít nhất bốn lát cắt theo vị trí 12, 3, 6, 9 giờ.
- Bờ cong nhỏ: 2 lát cắt ở bờ giải phẫu gần (đánh dấu diện cắt trên bằng mực Tàu).
- Bờ cong lớn: 2 lát cắt ở bờ giải phẫu gần (đánh dấu diện cắt bằng mực Tàu).
- Môn vị và tá tràng: 2 lát cắt, bao gồm diện cắt dưới.

- Các tổn thương khác, nếu có.
- Hạch: toàn bộ hạch tìm được.



Hình 10. Phẫu tích bệnh phẩm loét dạ dày.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.
- Khi cắt lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm phải lấy theo hết bề dày thành dạ dày để đánh giá tổn thương thành dạ dày. Nếu chưa lấy được hết thì phải lấy lại mảnh khác.

22. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM RUỘT NON

I. NGUYÊN TẮC

Mở ruột non theo phía bờ tự do đối diện mép bám của mạc nối; sau đó căng bệnh phẩm lên thớt lie, ngâm trong formol đậm trung tính 10% qua đêm rồi mới pha hoặc buộc một đầu ruột, đổ đầy formol đậm trung tính 10%, cố định qua đêm rồi pha. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về Người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Đoạn ruột được cắt bỏ, gồm cả mạc treo đi kèm; có vị trí và chiều dài thay đổi khác nhau tùy loại tổn thương.

1. Quy trình chuẩn bị

Tùy theo chiều dài đoạn ruột được cắt bỏ và loại tổn thương, có 2 cách chuẩn bị:

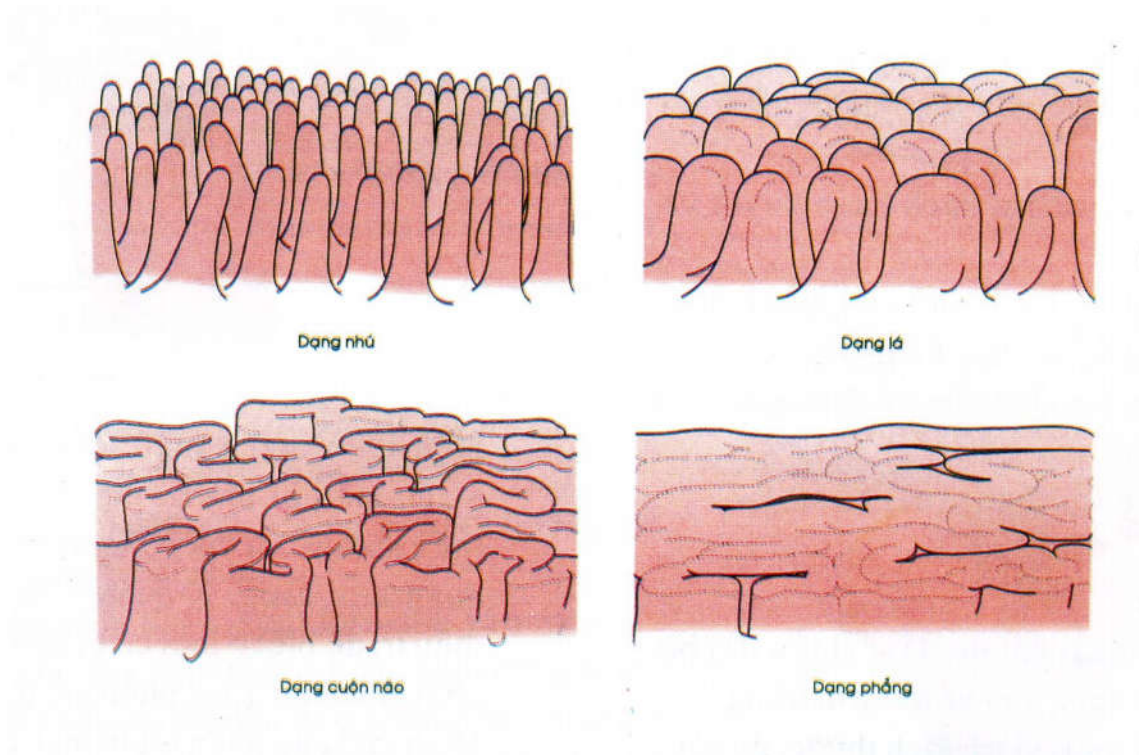
- Mở dọc ruột theo bờ tự do đối diện bờ mạc treo, ghim lên tấm bảng lie, cố định qua đệm.
- Rửa bệnh phẩm bằng dung dịch formol đậm trung tính 10% hoặc nước muối sinh lý (không dùng nước thường); buộc kín một đầu ruột, đổ đầy formol đậm trung tính 10% vào lòng ruột rồi buộc kín đầu còn lại; cố định qua đệm sau đó mở dọc như cách trên.

2. Mô tả đại thể

- Chiều dài và đường kính đoạn ruột sau khi đã loại mạc treo.
- Niêm mạc: dạng đại thể, có phù nề không, có chảy máu không, có loét không, có u không (kích thước, sự xâm nhập theo chu vi thành ruột, độ sâu xâm lấn không).

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Tùy loại bệnh lý .
- Trường hợp nhồi máu ruột: vài lát cắt ngang mạch máu mạc treo.



Hình 11. Cấu trúc bệnh phẩm ruột non

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm có đầy đủ phần niêm mạc, dưới niêm mạc và lớp cơ, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

23. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM U ĐẠI TRÀNG

I. NGUYÊN TẮC

Mở đại tràng theo chiều dọc, tránh đi qua u, ghim bệnh phẩm lên thớt lie, ngâm trong dung dịch cố định qua đêm rồi pha. Lấy cả mô u, diện cắt, hạch (nếu có). Lát cắt phải vuông góc với hướng đi của nếp gấp niêm mạc. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy ảnh: 1 cái

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Có các loại phẫu thuật đại tràng như: cắt toàn bộ đại tràng, cắt nửa đại tràng phải, cắt đại tràng ngang, cắt nửa đại tràng trái, cắt trước - thấp (trực tràng - đại tràng Sigma), cắt bụng - chậu (đại tràng Sigma, trực tràng và hậu môn).

1. Quy trình chuẩn bị

- Cắt lọc hạch, mạc treo khi bệnh phẩm còn tươi.
- Tùy kích thước và vị trí của bệnh phẩm, có thể cắt lọc theo 2 cách:
 - + Thường được áp dụng: mở dọc theo suốt đoạn đại tràng (tránh cắt qua u), ghim bệnh phẩm vào 1 bảng nhỏ và cố định qua đêm trong formol đậm trung tính 10%.
 - + Tiêm vào bệnh phẩm.
- Chụp ảnh và nhận diện từng lát cắt.
- Trường hợp u xâm lấn sâu, chú ý cắt lọc tĩnh mạch để xem có u xâm lấn không?
- Các lát cắt phải thẳng góc với nếp gấp niêm mạc.

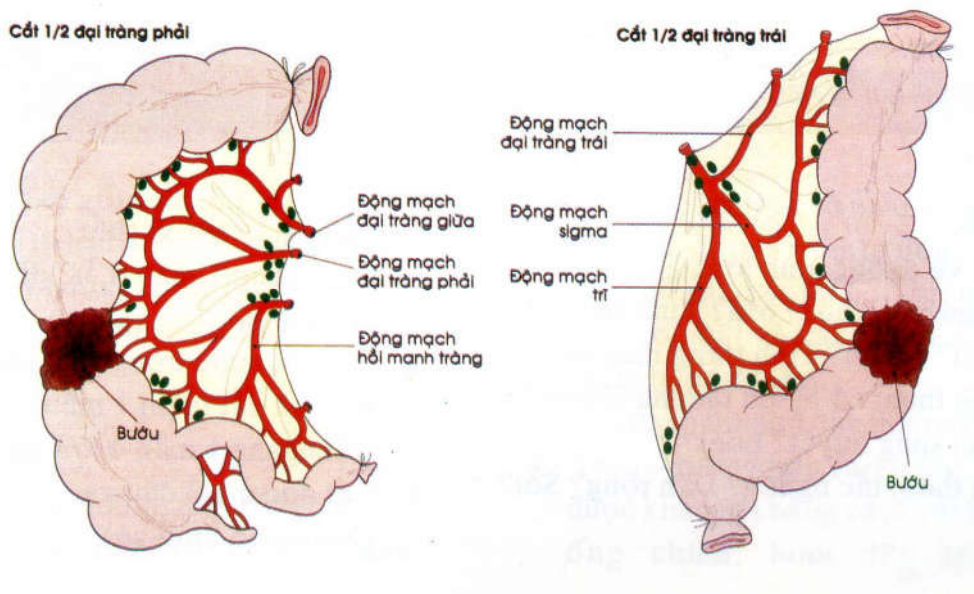
2. Mô tả đại thể

- Phần đại tràng được cắt lọc, chiều dài bệnh phẩm và lượng mạc treo.
- Đặc điểm u: kích thước (gồm cả bề dày), hình dạng (sùi, phẳng, loét ...) có chảy máu, hoại tử không. Có thâm nhiễm một phần hoặc toàn bộ thành đại tràng không thanh mạc vùng u, nốt vệ tinh, hình ảnh xâm lấn mạch máu, tình trạng cơ quan lân cận.
- Các tổn thương khác trên đại tràng (có polyp không, loét không), đặc điểm của niêm mạc xung quanh.
- Số lượng hạch tìm thấy, kích thước của hạch lớn nhất là bao nhiêu.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U: ít nhất 4 lát (qua suốt bề dày thành ruột) gồm cả u và niêm mạc lành.
- Mô dưới thanh mạc, mỡ, mạch máu đại diện bao xung quanh u.
- Tổn thương khác (nếu có).

- Diện cắt gần.
- Diện cắt xa.
- Mô đại tràng lành cách u khoảng 5cm.
- Ruột thừa (nếu có).
- Hạch:
 - + Xung quanh u.
 - + Xa nhất.
 - + Gần nhất.
 - + Mô xung quanh mạch máu được thắt.
- Trong phẫu thuật bụng - chậu: chỗ nối ruột - hậu môn.



Hình 12. Phẫu tích bệnh phẩm u đại tràng

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

24. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM POLIP ĐẠI TRÀNG

I. NGUYÊN TẮC

Ngâm trong dung dịch cố định ít nhất 3 giờ rồi mới pha. Cắt dọc theo cuống polip. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy chụp ảnh: 1 cái.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

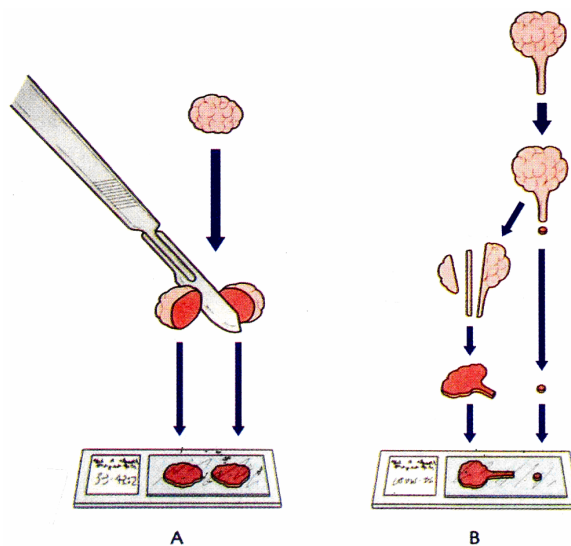
- Cố định toàn bộ bệnh phẩm trong vài giờ.
- Đo đường kính polip và chiều dài của cuống.
- Nếu polip có cuống ngắn hoặc không cuống, cắt đôi polyp qua cuống hoặc qua vị trí đốt chân.
- Nếu polip có cuống dài ($\geq 1\text{cm}$), cắt ngang cuống gần diện cắt, sau đó cắt dọc cuống càng dài càng tốt (vừa với khuôn nhựa chuyên bệnh phẩm).
- Nếu nửa polip dày quá 3mm, cắt mỏng lại còn 3mm bên phần lõi của polip.

2. Mô tả đại thể

- Kích thước polip, đường kính của đầu và chiều dài của cuống polip.
- Đáy rộng hay có cuống dài, có loét không. Bề mặt trơn láng hay có nhú không. Mặt cắt có bọc không. Cuống có bình thường không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- 1 lát cắt dọc (qua cuống hoặc chân polip nếu polip có cuống ngắn hoặc không cuống - xem hình A).
- 1 lát cắt ngang đáy cuống (nếu cuống dài- xem hình 13B).
- Ruột thừa (nếu có).



Hình 13. Phẫu tích bệnh phẩm polip đại tràng

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ polip, cuống (nếu có), cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

25. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM RUỘT THỪA

I. NGUYÊN TẮC

Các lát cắt làm xét nghiệm phải đại diện được cho phần đầu, thân và đuôi ruột thừa. Nếu có u trong mẫu mô phải bôi mực Tàu và cắt thêm 1 mẫu ở diện cắt. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

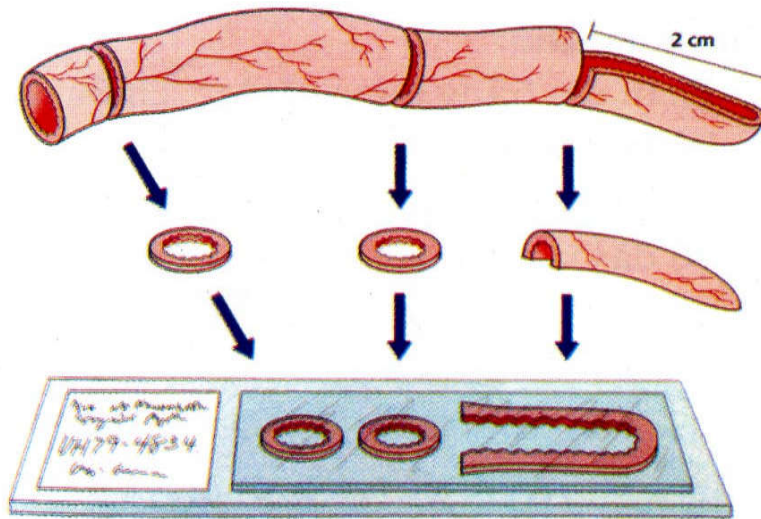
- Đo kích thước ruột thừa (chiều dài và đường kính lớn nhất).
- Cắt mẫu ra làm 2 phần, bằng cách cắt ngang cách đỉnh ruột thừa 2cm.
- Cắt ngang theo đường kính ở phần đầu gần mỗi 5 mm.
- Cắt dọc đầu xa ra 2 phần.

2. Mô tả đại thể

- Chiều dài và đường kính lớn nhất.
- Mặt cắt ngoài: có xơ hóa không, có mũ không, xuất huyết không, sung huyết không, lỗ thủng không, tình trạng mạc treo ra sao.
- Thành ruột thừa: có bị tổn thương không
- Niêm mạc: có sung huyết không, có loét không.
- Lòng ruột thừa: có tắc nghẽn, dẫn rộng, sỏi không.

3. Cắt lọc xét nghiệm mô bệnh học (hình 14)

- Cắt ngang 1 mẫu ở 1/3 đầu gần, gần rìa phẫu thuật.
- Nếu có u trong mẫu mô phải bôi mực và cắt thêm 1 mẫu ở rìa phẫu thuật.
- Cắt ngang 1 mẫu ở 2/3 giữa.
- Cắt dọc ở 1/3 đầu xa.



Hình 14. Phẫu tích bệnh phẩm ruột thừa

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm có đầy đủ phần đầu, thân và đuôi ruột thừa, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

26. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM U GAN

I. NGUYÊN TẮC

Cắt ở vùng mô u ít nhất 4 lát, mọi vùng có hình ảnh đại thể khác nhau đều phải được lấy để xét nghiệm. Lấy bệnh phẩm vùng mô gan lành gần u và xa u; lấy bệnh phẩm ở túi mật, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Cắt u gan gồm các loại phẫu thuật: cắt múi cam, cắt phân thùy, cắt thùy phải hoặc thùy trái tiêu chuẩn hay cắt rộng, cắt 3 phân thùy (cắt 2 phân thùy phải và phân thùy giữa của thùy trái; cắt toàn bộ gan kèm ghép gan. Xác định các phân thùy gan thực sự khó khăn trên bệnh phẩm mổ nên không nhất thiết, trừ khi có yêu cầu đặc biệt của phẫu thuật viên.

1. Quy trình chuẩn bị

- Kích thước - trọng lượng của bệnh phẩm.
- Nếu u của mô gan: đánh dấu bờ phẫu thuật và cắt lát song song 1cm theo mặt cắt tương ứng với C.T Scan (nếu có thể).
- U ống mật chủ: nhận diện tất cả ống mật và bờ cắt mạch máu (nếu cần, nhờ bác sĩ phẫu thuật giúp xác định) trình bày theo mặt cắt trên. Sờ nắn tìm kiếm 1 chỗ cứng, mở dọc ống mật chủ bằng kéo, chụp ảnh, sau đó cắt nhiều lát vuông góc với trục dọc. Tìm kiếm hạch.

2. Mô tả đại thể

- Kích thước, trọng lượng bệnh phẩm.
- Hình dạng vỏ bao gan.
- Mô gan u: kích thước chiếm bao nhiêu phần trăm bệnh phẩm, màu sắc, độ chắc, diện cắt, liên quan với vỏ bao, các mạch máu lớn (động mạch, tĩnh mạch cửa), các nhánh ống mật, khoảng cách với bờ phẫu thuật, đa ổ, hình dạng mô gan bình thường (có sung huyết không, tắc mật không, xơ không).
- U ống mật chủ: tương tự như u mô gan. Chú ý thêm: có thành phần nhú trong ống mật không. Hẹp hoặc giãn ống mật không. Sỏi mật không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U: 4 lát hoặc hơn tùy kích thước u. Lấy mẫu tất cả các vùng khác nhau về đại thể.
- Bờ phẫu thuật: cắt vùng gần u. Đối với u ống mật chủ, nên có 1 lát cắt ngang qua bề mặt ống mật và bờ phẫu thuật mạch máu.
- Mô gan không u: gần u và xa u.

- Túi mật: 1 lát.
- Hạch: toàn bộ hạch nếu có.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

27. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TÚI MẬT

I. NGUYÊN TẮC

Các mảnh cắt phải có đầy đủ các vùng của túi mật, nếu có bất cứ tổn thương bất thường nào trên đại thể thì phải lấy đủ các vùng tổn thương đó. Trong trường hợp nghi ngờ ung thư tại chỗ, túi mật phải được vùi toàn bộ theo phương pháp cuộn của Thụy Sĩ. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Cắt túi mật là cắt bỏ toàn bộ túi mật sau khi phẫu tích túi mật khỏi nền gan và khâu ống túi mật và động mạch túi mật. Ngày nay, hầu hết túi mật được cắt qua nội soi.

1. Quy trình chuẩn bị

- Mở túi mật theo chiều dọc ngay sau khi cắt túi mật (sớm nhất có thể) vì niêm mạc rất nhanh chóng bị những biến đổi do quá trình tự tiêu.
- Nếu có sỏi, xác định số lượng, kích thước viên to nhất và cắt một hoặc nhiều viên sỏi ra bằng dao mổ.
- Tìm hạch lymphô dọc theo cổ túi mật.
- Trong trường hợp ung thư, túi mật phải được xử lý bằng cách dùng bơm tiêm rút hết mật, bơm đầy formol đậm trung tính 10% vào túi mật, cố định qua đêm ở 4°C và cắt túi mật bằng kéo và dao mổ.

2. Mô tả đại thể

- Chiều dài và đường kính lớn nhất của túi mật.
- Thanh mạc: dày lên không. Có dây dính không. Có tơ huyết không.
- Thành: dày lên không (nếu có, dày khu trú hay lan tỏa), có chảy máu không.
- Niêm mạc: có màu không, nhẵn hay loét, quá sản không, có polyp không.
- Ống túi mật: có dẫn không, sỏi kẹt không, hạch lymphô, kích thước, thanh mạc như thế nào.
- Thể tích mật, màu, độ quán tính của mật như thế nào.
- Sỏi: số lượng, hình dáng, kích thước, màu, diện cắt, loại sỏi như thế nào
- Nếu có u: vị trí, màu sắc, khoảng cách từ u đến đáy và cổ túi mật, kích thước, dạng polyp, loét, xâm nhiễm, xâm nhập đến thanh mạc như thế nào.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Ba lát cắt bao gồm toàn bộ thành túi mật, một từ đáy túi mật, một từ thân và một từ cổ túi mật, thêm một số lát cắt từ bất cứ vùng nào có bất thường trên đại thể.

– Trong trường hợp có nghi ngờ ung thư tại chỗ, túi mật phải được khảo sát bằng cách vùi toàn bộ túi mật theo phương pháp cuộn của Thụy Sĩ. Ngoài ra, dịch mật có thể được quay ly tâm và xét nghiệm tế bào học.

– Ống túi mật và hạch lymphô, nếu đại thể có bất thường hoặc nếu túi mật có u.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa tổn thương phải có đầy đủ các thành phần: niêm mạc, dưới niêm mạc, cơ, hạch (nếu có), cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

28. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM ÂM HỘ

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy chụp ảnh.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Đo kích thước bệnh phẩm, kể cả vùng ben nếu có; kích thước tổn thương.
- Đối với bệnh phẩm từ phẫu thuật cắt âm hộ tận gốc: phân biệt các nhóm hạch và cố định riêng rẽ, tốt nhất với dung dịch Carnoy.
- Ghim bệnh phẩm lên tấm lie và cố định qua đêm; chú ý bờ giải phẫu ngoài và bờ âm đạo.
- Chụp ảnh, xác định vị trí cần cắt lọc.

2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật: đơn giản, dưới da, tận gốc; các nhóm hạch.
- Kích thước bệnh phẩm.
- Tổn thương: vị trí, kích thước, độ lan rộng, độ xâm nhập mạch máu và các cấu trúc xung quanh, màu sắc, bề mặt (dạng mụn cóc, loét), bờ (có rõ không, có cuộn không), độ xâm nhập mô đệm.
- Hình thái vùng không u: teo, sừng hóa, loét.
- Hạch: kích thước hạch lớn nhất bị di căn.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Đánh dấu tổn thương bằng mực tàu.
- Cắt phần mô u 3 lát, 1 lát phần gần u, 1 lát phần xa u.
- Cắt 2 lát ở rìa diện cắt.
- Lấy tất cả các hạch (nếu có).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, hạch (nếu có), cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thót pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

29. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM SINH THIẾT CỐ TỬ CUNG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

– Máy chụp ảnh.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Không cắt nếu mẫu bệnh phẩm < 4mm.
- Tất cả bệnh phẩm phải được xử lý dù rất nhỏ.
- Lấy tất cả các mẫu bệnh phẩm rất nhỏ còn sót lại trong bình chứa.

2. Mô tả đại thể

- Số lượng mẫu, màu sắc, kích thước.
- Kích thước chung của tập hợp bệnh phẩm.
- Ghi nhận sự hiện diện của biểu mô; biểu mô có bị trợt không, có loét không, có bất thường khác không.
- Có nang không, có u không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Vùi parafin toàn bộ bệnh phẩm.
- Nếu bệnh phẩm có nguồn gốc rõ (thí dụ mép trước, mép sau cổ tử cung) thì phải đúc khối parafin riêng rẽ.
- Nếu bệnh phẩm là mô nạo ống cổ tử cung thì phải vùi khối parafin riêng, kể cả chất nhầy đi kèm của tuyến cổ trong.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

30. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CẮT CHÓP CỔ TỬ CUNG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Bệnh phẩm cắt chóp có dạng hình nón với phần đáy hướng về cổ tử cung. Bệnh phẩm cắt chóp bằng quy trình LEEP có kích thước nhỏ hơn nhiều so với quy trình thường quy; trường hợp này, việc định hướng bệnh phẩm có thể gặp khó khăn nhưng vẫn rất cần thiết.

1. Quy trình chuẩn bị

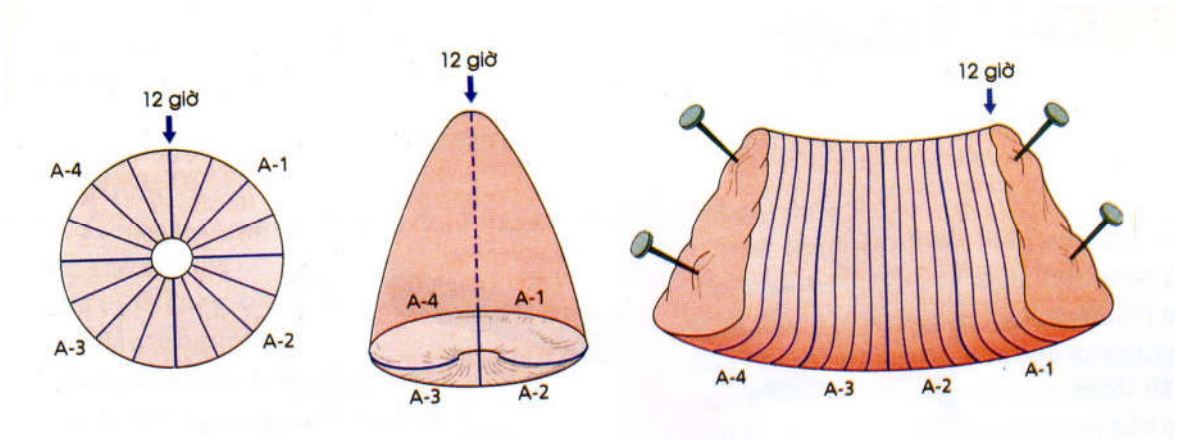
- Bệnh phẩm nhận về phải nguyên vẹn, tươi và có chỉ đánh dấu vị trí 12 giờ.
- Mở ống cổ tử cung bằng 1 nhát kéo dọc từ vị trí 12 giờ.
- Ghim bệnh phẩm lên tấm lie với mặt niêm mạc ngửa lên, cố định vài giờ trong formol đậm trung tính 10%.
- Đánh dấu toàn bộ diện cắt bằng mực Tàu.
- Cắt toàn bộ cổ tử cung thành những lát song song dày khoảng 2 - 3mm, bắt đầu từ vị trí 12 giờ, đi theo chiều quay kim đồng hồ (qua phía trái của bệnh phẩm). Mỗi lát cắt phải chứa biểu mô và vùng chuyển tiếp cổ trong và cổ ngoài.

2. Mô tả đại thể

- Hình dạng và kích thước của chóp cổ tử cung, còn nguyên vẹn hay nát vụn không.
- Biểu mô: màu sắc; các bất thường, loét trợt, vết rách mới hoặc đã lành, u (hình dạng, kích thước, vị trí; có nang không (kích thước, chất chứa bên trong không); các vị trí sinh thiết trước đây như thế nào.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Toàn bộ các mẫu mô phải được vùi nén.
- Nếu đã xác định được vị trí 12 giờ trên chóp cổ tử cung thì phải để riêng:
 - + Các lát cắt từ 12 giờ đến 3 giờ.
 - + Các lát cắt từ 3 giờ đến 6 giờ.
 - + Các lát cắt từ 6 giờ đến 9 giờ.
 - + Các lát cắt từ 9 giờ đến 12 giờ.
- Nếu quan sát chính xác đồ hình của tổn thương, đánh dấu thứ tự các lát cắt từ vị trí 12 giờ bằng các ký tự.



Hình 15. Phân tích bệnh phẩm cắt chóp cổ tử cung

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

31. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM NẠO HOẶC SINH THIẾT NỘI MẠC TỬ CÙNG

I. NGUYÊN TẮC

Lấy toàn bộ bệnh phẩm, không để sót bệnh phẩm. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol đậm trung tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Dùng lọc kim loại hay giấy lọc để tập trung bệnh phẩm.
- Nếu nghi ngờ sảy thai: tìm lông rau (bằng kính hiển vi phẫu tích nếu cần).
- Các trường hợp sảy thai tái phát, giữ lại 1 lông rau để làm xét nghiệm di truyền tế bào. Phải rửa sạch các dụng cụ trước khi xử lý trường hợp tiếp theo.

2. Mô tả đại thể

- Đo toàn bộ tập hợp mô thu được.
- Màu sắc và mật độ ra sao, có cục máu đông không; tỉ lệ cục máu đông trên toàn bộ bệnh phẩm ra sao, có mẫu nào lớn hoặc chắc một cách bất thường không, có hoại tử không. Nếu có mô phôi thai, mô tả hình dạng lông rau (ống, nang, thoái hoá nước), lông rau có mạch máu không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Bệnh phẩm từ sinh thiết hoặc nạo nội mạc tử cung: vùi nên toàn bộ.
- Bệnh phẩm từ nạo nội mạc sau sảy thai không hoàn toàn: vùi nên các mẫu mô đại diện cho bánh rau, các thành phần thai, màng rụng. Nếu kết quả xét nghiệm mô bệnh học không cho thấy các thành phần thai, vùi nên các mô còn lại.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ mô nạo hay sinh thiết, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

32. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CẮT BỎ TỬ CUNG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Phẫu thuật cắt bỏ tử cung được thực hiện qua đường bụng hoặc đường âm đạo (loại sau áp dụng cho tổn thương lành tính). Tùy tuổi người bệnh và loại bệnh lý, cắt bỏ tử cung qua đường bụng có thể kết hợp với cắt bỏ phần phụ 1 bên hoặc 2 bên và nạo hạch vùng.

1. Quy trình chuẩn bị

- Phẫu thuật cắt bỏ tử cung để điều trị quá sản nội mạc tử cung, ung thư tuyến nội mạc tử cung, u cơ trơn...
- Ung thư tại chỗ hoặc xâm lấn của cổ tử cung; tham khảo phần tương ứng.
- Cân đo bệnh phẩm.
- Nếu tử cung nhận được còn tươi và nguyên vẹn:
 - + Dùng kéo mở tử cung từ cổ theo 2 thành bên đến 2 sừng thành 2 nửa
 - + Đánh dấu nửa trước (bằng 1 khóa lổm hoặc chỗ gắn của vòi trứng)
 - + Cắt thêm các khối u ở thành tử cung nếu có.
 - + Cố định vài giờ hoặc qua đêm.
 - + Cắt ngang mỗi nửa thành những lát song song dày khoảng 1cm, nhưng còn để chúng dính với nhau ở một đầu. Quan sát kỹ từng mặt cắt.
 - + Cắt cổ tử cung vài lát dọc theo ống cổ trong cổ tử cung.
 - + Cắt ít nhất 1 lát cho mỗi u cơ trơn tìm thấy.
 - + Nếu có vòi tử cung và buồng trứng kèm theo, tham khảo phần tương ứng.

2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật cắt bỏ tử cung: toàn phần, tận gốc, cắt bỏ phần phụ.
- Hình dạng tử cung: có biến dạng không, có nốt gồ dưới thanh mạc không.
- Thanh mạc: có dải xơ dày dính không.
- Bề dày thành tử cung, có các bất thường không.
- Nội mạc tử cung: hình thái; độ dày; polip (hình dạng, kích thước).
- Cổ tử cung: hình dạng cổ ngoài, chỗ chuyển tiếp vảy - trụ, ống cổ trong cổ tử cung: có loét, trợt không, có polip, u nang không.

- U cơ trơn tử cung: số lượng, vị trí (dưới thanh mạc, trong thành, dưới nội mạc), kích thước, có cuống hoặc không cuống, chảy máu, hoại tử, vôi hóa không, loét nội mạc tử cung bên trên không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

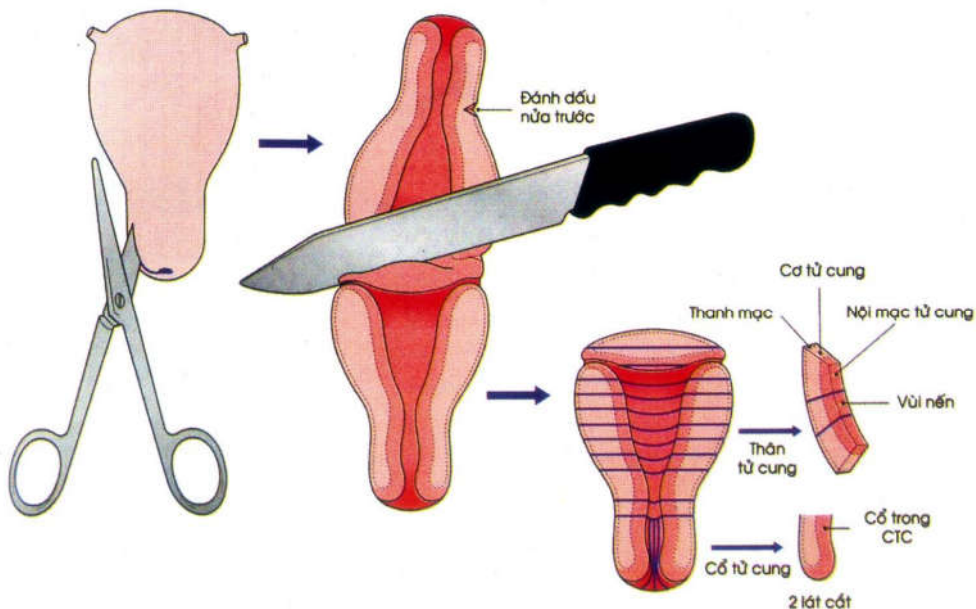
- Cổ tử cung: 1 lát cắt cho nửa trước và cho nửa sau.
- Thân tử cung: ít nhất 2 lát cắt ở gần đáy tử cung, bao gồm lớp nội mạc, lớp cơ và cả lớp thanh mạc nếu được. Cắt thêm bất cứ vùng nào có vẻ bất thường.
- U cơ trơn: từ 1 - 3 lát cắt cho mỗi u cơ trơn; cắt thêm bất cứ vùng nào có vẻ bất thường (mềm, giống thịt, hoại tử, nang hóa).
- Polip cổ tử cung và nội mạc tử cung: vùi nén toàn bộ trừ khi polip quá lớn.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.



Hình 16. Phân tích bệnh phẩm cắt bỏ tử cung.

33. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CẮT BỎ TỬ CUNG DO UNG THƯ

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Nếu có hạch lymphô (cắt bỏ tử cung tận gốc), phẫu tích hạch còn tươi và phân thành các nhóm phải, trái riêng biệt (hạch bịt, hạch liên chậu, hạch chậu).
- Cân, đo bệnh phẩm, cắt tử cung thành 2 nửa trước và sau.
- Cắt rời cổ tử cung (2,5cm từ lỗ ngoài ống cổ tử cung).
- Xử lý tử cung, phần phụ như trong phần chỉ dẫn tổng quát.
- Dùng kéo mở cổ tử cung tại vị trí 12 giờ, ghim lên tấm lie, tránh làm rách bề mặt niêm mạc.
- Úp tấm lie với bệnh phẩm quay xuống dưới vào bình formol đậm trung tính 10%, cố định vài giờ hoặc qua đêm.
- Đánh dấu diện cắt âm đạo bằng mực Tàu.
- Cắt toàn bộ cổ tử cung thành những lát song song dày khoảng 2-3mm bắt đầu từ vị trí 12 giờ, đi theo chiều quay kim đồng hồ (qua phía trái của bệnh phẩm). Mỗi lát cắt phải chứa biểu mô và vùng chuyển tiếp vảy - trụ.

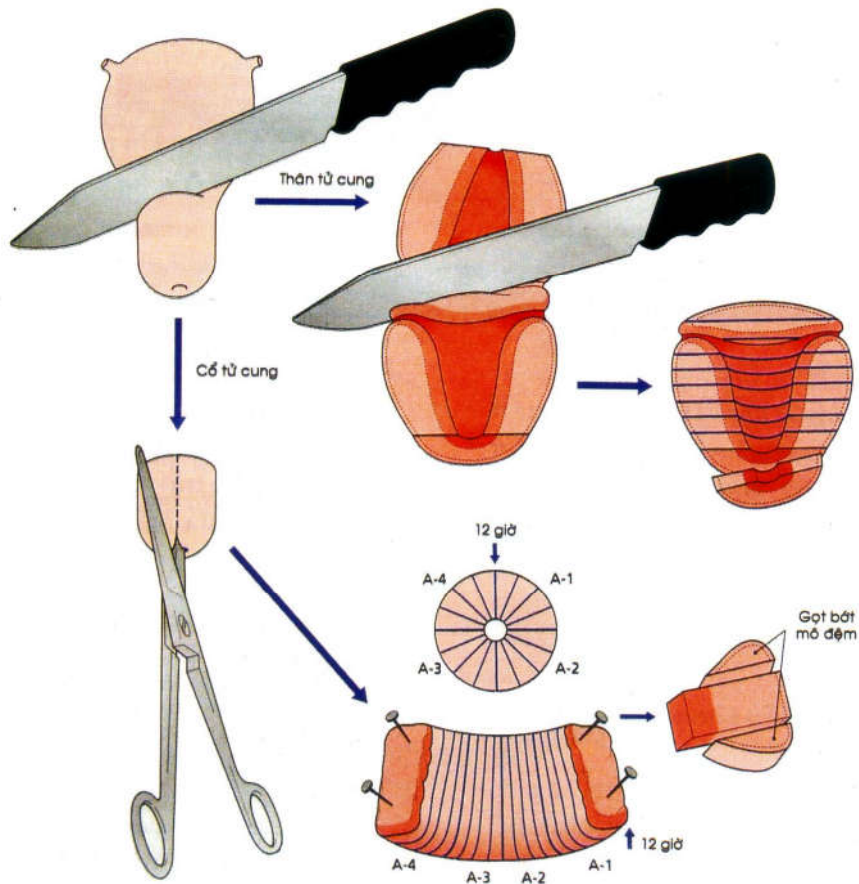
2. Mô tả đại thể

- Cổ tử cung: màu sắc biểu mô, các bất thường, loét trượt, vết rách mới hoặc đã lành, u (hình dạng, kích thước, vị trí); nang (kích thước, chất chứa bên trong); các vị trí sinh thiết hoặc cắt chóp trước đây.
- Phần tử cung còn lại: tham khảo phần chỉ dẫn tổng quát.
- Buồng trứng và vòi tử cung nếu có, tham khảo phần tương ứng.
- Hạch nếu có: số lượng, hình thái bên ngoài, có nghi ngờ bị di căn không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Cổ tử cung: toàn bộ các mẫu mô phải được vùi nền và phân biệt:
 - + Các lát cắt từ 12 giờ đến 3 giờ.
 - + Các lát cắt từ 3 giờ đến 6 giờ.

- + Các lát cắt từ 6 giờ đến 9 giờ.
- + Các lát cắt từ 9 giờ đến 12 giờ (nếu cần khảo sát chính xác đồ hình của tổn thương, đánh dấu thứ tự các lát cắt từ vị trí 12 giờ bằng các ký tự).
- Túi cùng âm đạo.
- Dây chằng rộng phải (đối với ung thư cổ tử cung xâm lấn).
- Dây chằng rộng trái (đối với ung thư cổ tử cung xâm lấn)
- Phần tử cung còn lại (tham khảo phần chỉ dẫn tổng quát)
- Buồng trứng và vòi trứng: tham khảo phần tương ứng.
- Hạch nếu có:
- + Hạch bịt trái.
- + Hạch bịt phải.
- + Hạch liên chậu.
- + Hạch chậu trái.
- + Hạch chậu phải.



Hình 17. Phẫu tích bệnh phẩm cắt bỏ tử cung do ung thư.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

34. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CẮT BỎ TỬ CUNG DO QUÁ SẴN HOẶC UNG THƯ NỘI MẠC TỬ CUNG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Nếu có hạch (cắt bỏ tử cung tận gốc), phẫu tích hạch còn tươi và phân thành các nhóm phải, trái riêng biệt (hạch bịt, hạch liên chậu, hạch chậu).
- Mở và cố định tử cung: tham khảo phần chỉ dẫn tổng quát.
- Buồng trứng và vòi tử cung nếu có, tham khảo cách xử lý trong phần tương ứng.

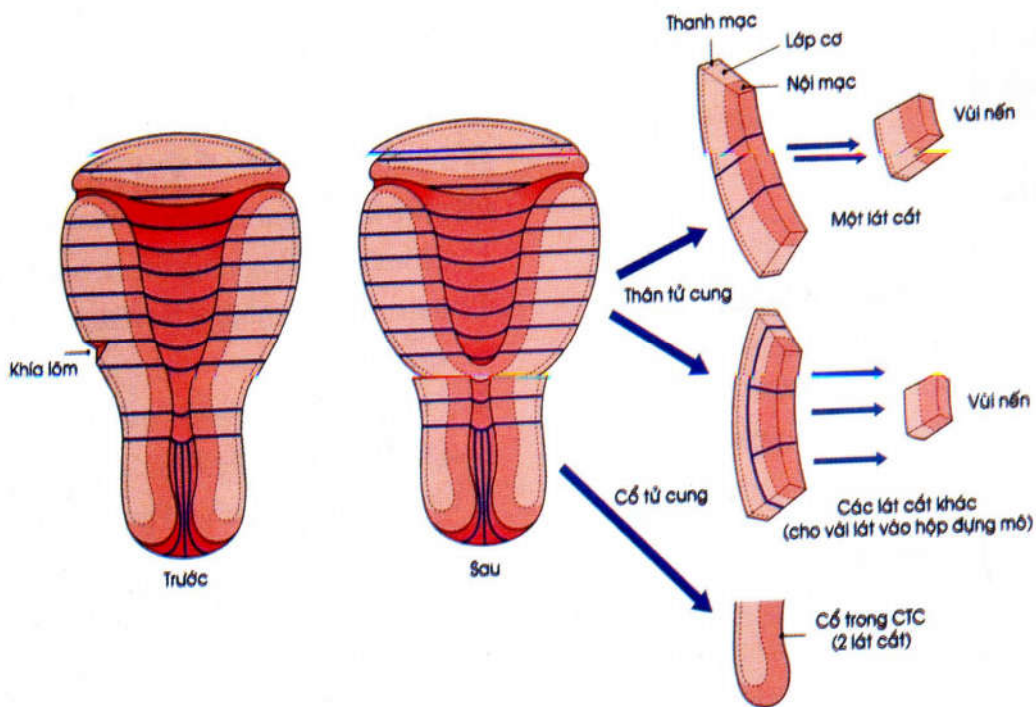
2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật: tận gốc hay toàn phần, hay bán phần, hay cắt bỏ phần phụ.
- U: vị trí, kích thước, hình thái (đặc, nhú, hoại tử, chảy máu), màu sắc, độ lan rộng trong nội mạc; mức độ xâm lấn vào thanh mạc, dây chằng rộng, mạch máu, cổ tử cung hoặc vòi tử cung.
- Phần tử cung còn lại: tham khảo phần chỉ dẫn tổng quát.
- Buồng trứng và vòi tử cung nếu có, tham khảo cách xử lý trong phần tương ứng.
- Hạch nếu có: số lượng, hình thái bên ngoài, có nghi ngờ bị di căn không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- Nếu có u rõ rệt:
 - + 3 lát cắt trong đó có 1 lát ở phần xâm lấn sâu nhất; mỗi lát phải chứa toàn bộ thành tử cung, từ nội mạc đến thanh mạc; nếu quá dày thì có thể phân mỗi lát thành 2 nửa có đánh số để có thể đặt vừa vào trong khuôn nhựa đựng mô.
 - + 2 lát cắt ở vùng nội mạc tử cung ngoài u, không cần phải chứa toàn bộ thành tử cung.
- Dây chằng rộng trái và phải.
- Nếu không thấy có u rõ rệt (đã xạ trị, ung thư thể nông, quá sản nội mạc):
 - + Lấy mẫu toàn bộ nội mạc tử cung bằng những lát cắt ngang song song, dày 2-3mm của 2 nửa tử cung; một lát cắt có chứa toàn bộ thành tử cung, từ nội mạc tử cung tới thanh mạc; những lát khác thì gọt bỏ 2/3 ngoài lớp cơ tử cung. Đánh số thứ tự và phân biệt nửa trước hoặc nửa sau tử cung.

- + Phần tử cung còn lại: tham khảo phần chỉ dẫn tổng quát.
- + Buồng trứng và vòi tử cung: tham khảo phần tương ứng.
- + Hạch nếu có: Hạch bịt trái.
 - Hạch bịt phải.
 - Hạch liên chậu.
 - Hạch chậu trái.
 - Hạch chậu phải.



Hình 18. Phẫu tích bệnh phẩm nội mạc tử cung cắt bỏ tử cung

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

35. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM TỤY

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới. Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Khi bệnh phẩm còn tươi, cắt lọc hạch và phân chia theo các nhóm.
- Ghim cả khối bệnh phẩm lên 1 miếng ván, cố gắng giữ nguyên vị trí giải phẫu học
- Đặt bệnh phẩm vào 1 thùng chứa lớn có formol đậm trung tính 10%, cố định qua đêm ở 4°C.
- Dùng mực Tàu đánh dấu bờ diện cắt ống mật và tụy.
- Phân chia bệnh phẩm thành 1/2 trước và sau: dùng kéo cắt bờ cong nhỏ dạ dày và bờ tự do của tá tràng; dùng kéo cắt bờ cong lớn dạ dày đến tụy và 1/4 tá tràng; dùng dao lớn, sắc cắt bờ chung quanh của tụy hoặc tá tràng; cắt tụy. Để định hướng cho việc cắt tụy, luồn 1 ống nhựa (catheter) vào ống mật chủ và cắt phía trên ống này. Phải cố định 2 nửa bệnh phẩm này qua đêm trước khi tiến hành cắt lọc thêm.

2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật: cắt tá tụy hay cắt tụy toàn bộ, hay cắt đuôi tụy và lách.
- Ghi nhận kích thước các tạng: dạ dày, tá tràng, lách, tụy...
- Mô tả niêm mạc dạ dày, tá tràng, bóng Vater, tụy, đường mật... (có loét, chảy máu, u nhú, nang, chất chứa trong nang... không), vị trí, hình thái, số lượng sỏi mật (nếu có).
- Tình trạng túi mật: niêm mạc: nhẵn/loét/polip/u/sỏi...?
- U tụy: dạng đặc, chắc, chảy máu, u nang nhầy, u nang thanh dịch.... ranh giới u với tụy lành.
- Ống Wirsung (có dẫn, có u, sỏi... không), vùng tụy lành: xơ, chắc...
- Lách: bình thường hay có u xâm lấn.
- Hạch: số lượng, kích thước, vị trí (xem hình 19).

3. Cắt lọc bệnh phẩm xét nghiệm mô bệnh học

- U bóng Vater: lấy hết u từ 3-4 lát cắt (nên pha theo bệnh phẩm dọc theo chiều dài của bóng Vater), chú ý lấy thành tá tràng, tụy lân cận và các diện cắt (đã đánh dấu mực Tàu).

– U ống mật chủ: lấy hết bệnh phẩm, nên pha ngang ống mật. Chú ý lấy tụy bao quanh và diện cắt.

– U tụy: lấy bệnh phẩm u nhiều nhất có thể (nên dựa vào mật độ, màu sắc u...). Chú ý cần lấy cả vùng tụy u, tụy lành và diện cắt.

– U thân, đuôi tụy: lấy từ 3-4 lát cắt qua u, lấy mô liên kết rốn lách và lách (nếu có).

– U dạng nang: lấy được vách u nang, ưu tiên các vị trí sùi, dày, mất bóng.

– Túi mật: lấy 1-2 lát cắt, tìm hạch túi mật (cổ, thân và đáy túi mật).

– Hạch:

+ Quanh tụy (trên và dưới).

+ Tụy - tá tràng (trên và dưới).

+ Ống mật chủ và quanh u dạng nang.

+ Bờ cong nhỏ.

+ Bờ cong lớn.

+ Lách.

+ Các nhóm khác nếu có (hồng tràng, đại tràng ngang, mạc nối).

– Các cơ quan khác nếu có (túi mật, lách, tĩnh mạch cửa, đại tràng, mạc nối).

Một số tác giả chia hạch lymphô thành 5 nhóm chính:

+ Trên: bờ trên của đầu và thân tụy ống mật chủ, dạ dày (bờ cong nhỏ và lớn, hang vị).

+ Dưới: bờ dưới của đầu và thân tụy, quanh mạch máu mạc treo, hồng tràng, dây chằng dạ dày - đại tràng, quanh đại tràng và động mạch chủ.

+ Trước (trước tụy - tá tràng): dọc mặt trước của đầu tụy.

+ Sau (sau tụy - tá tràng): dọc mặt sau của đầu tụy

+ Lách: rốn lách.

IV. KẾT QUẢ

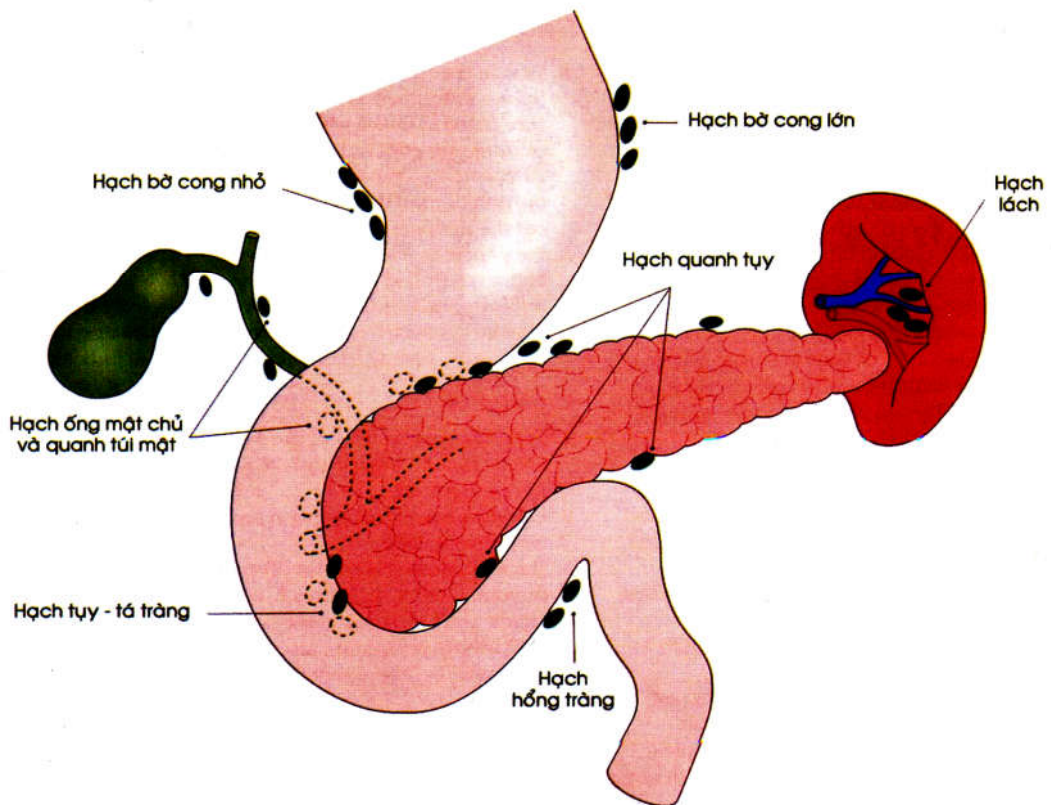
Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.



Hình 19. Sơ đồ các nhóm hạch tụy

36. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TUYẾN THƯỢNG THẬN

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Đánh dấu chu vi mẫu bệnh phẩm bằng mực Tàu.
- Đo kích thước và trọng lượng bệnh phẩm.
- Cắt các lát song song, mỗi lát 5 mm theo chiều ngang.
- Quan sát và lấy mẫu tĩnh mạch thượng thận.

2. Mô tả đại thể

- Kích thước và trọng lượng.
- Mặt ngoài: có trơn láng, gồ lên không, hình dạng của tuyến thượng thận?
- Mặt cắt: màu sắc, có hoại tử, chảy máu, thoái hóa nang không, có vỏ bao, có xâm lấn mô xung quanh không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Nếu có u, lấy mẫu kèm mô lành để thấy rõ liên quan giữa u và mô tuyến bình thường, vỏ u và mô liên kết quanh vỏ u.
- Tuyến không có u, bao gồm tĩnh mạch thượng thận.
- Rìa phẫu thuật.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

37. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM U THẬN

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

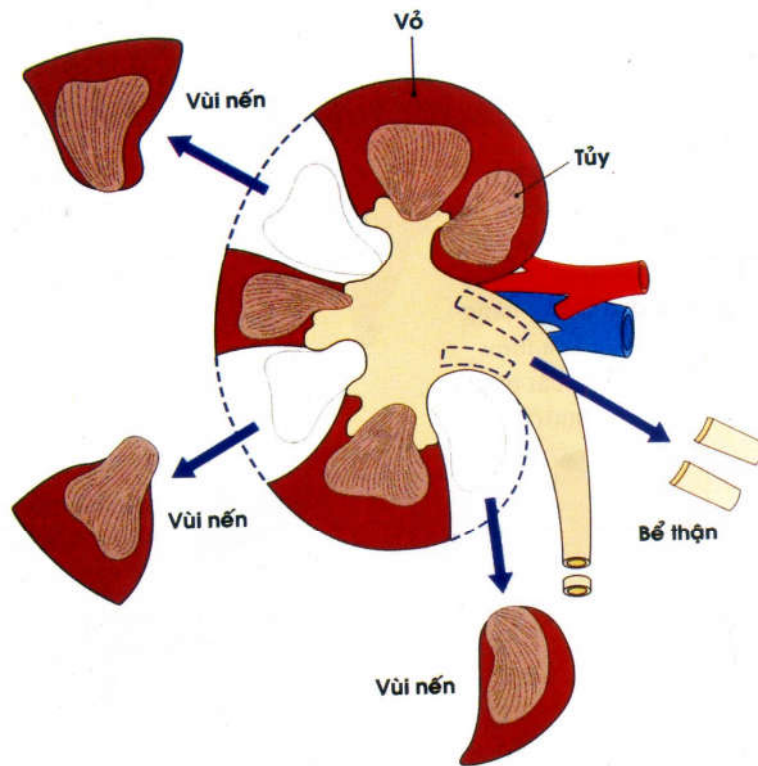
- Tìm kiếm và cắt lọc tất cả các hạch vùng rốn thận.
- Tìm kiếm tĩnh mạch thận và cắt theo chiều dọc.
- Cắt dọc thận qua đài - bể thận thành 2 phần đều nhau, mở dọc niệu quản.
- Bóc tách vỏ thận và xem xét có xâm lấn vỏ thận, mô quanh thận không.
- Nếu có sỏi, gửi đi phân tích hóa học.
- Chụp ảnh tổn thương.
- Cắt thận thành từng lát mỏng để xét nghiệm tìm những tổn thương khác ở tủy và vỏ thận.

2. Mô tả đại thể

- Khối lượng và kích thước của bệnh phẩm; chiều dài và đường kính của niệu quản.
- Đặc điểm u: kích thước, hình dạng, màu sắc, vị trí, độ lan rộng, độ đồng nhất, hoại tử, chảy máu, xâm lấn vỏ bao thận, mô quanh thận, đài bể thận và tĩnh mạch thận
- Mô thận bình thường: mặt ngoài, tủy, vỏ thận có tổn thương nào khác không.
- Bể thận: tình trạng đài thận, có sỏi không biểu mô đường niệu như thế nào.
- Hạch quanh thận: số lượng, kích thước, hình dạng?

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- U: ít nhất 3 lát cắt (ít nhất 1 mẫu có mô thận kế cận).
Đối với u thận ở trẻ em: ít nhất 1 mẫu cho mỗi cm. Đối với ung thư biểu mô bể thận: ít nhất 3 mẫu có mô bể thận và nhu mô thận kế cận.
- Mô thận bình thường: 2 lát cắt.
- Bể thận: 3 lát cắt đối với u bể thận.
- Động mạch, tĩnh mạch thận.
- Niệu quản: 1 lát cắt đối với carcinôm thận hoặc u ở trẻ em, 1 lát cắt cho mỗi centimet mô niệu quản bất thường đối với carcinôm bể thận.
- Hạch: nếu có.



Hình 20. Phẫu tích bệnh phẩm u thận

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng phanh có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

38. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM BÀNG QUANG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy chụp ảnh.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Hầu hết trường hợp là cắt bỏ toàn bộ bàng quang.

Ở nam giới, có thể kèm với cắt bỏ tuyến tiền liệt và túi tinh cùng một phần niệu đạo.

1. Quy trình chuẩn bị

- Đánh dấu bằng mực ở mặt ngoài (bao gồm cả tuyến tiền liệt, nếu có).
- Có 2 cách cắt bệnh phẩm tùy theo loại tổn thương và tình trạng của bệnh phẩm khi tiếp nhận.
 - + Dùng kéo cắt thành trước theo hình Y, dùng kim ghim bệnh phẩm trên bảng làm bằng chất liệu nhẹ và cố định trong formol đậm trung tính 10% qua đêm.
 - + Cắt bằng kéo qua vách bên bàng quang chia 2 nửa trước và sau qua niệu đạo. Có thể bơm vào bàng quang dung dịch màu “bông thấm formol” (formalin soaked cotton) bằng bơm trực tiếp qua thành bàng quang hay dùng thông Foley qua niệu đạo để xác định đường cắt qua niệu đạo.
- Chụp hình và xác định vị trí cắt để làm mô học.

2. Mô tả đại thể

- Kích thước bàng quang, chiều dài các niệu quản và những cơ quan khác (nếu có) như túi tinh, tuyến tiền liệt...
- Tính chất u: kích thước (bao gồm chiều dày), vị trí, xâm nhiễm xung quanh, hình dạng (có nhú, sùi, loét không), tổn thương nhiều ổ không.
- Hình thái của niêm mạc không u; chiều dày vách bàng quang ngoài u.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học (hình 21)

- U: ít nhất là cắt 3 mẫu, lấy theo hết chiều dày thành bàng quang.
- Cổ bàng quang: 1 mẫu.
- Tam giác bàng quang: 2 mẫu.
- Vách trước bàng quang: 2 mẫu.
- Vách sau bàng quang: 2 mẫu.
- Đáy: 2 mẫu.
- Bất kỳ vùng nào của niêm mạc bàng quang bất thường mà chưa được lấy mẫu trước đó.
- Các lỗ niệu quản, bao gồm cả phần thành bàng quang.
- Diện cắt niệu quản.

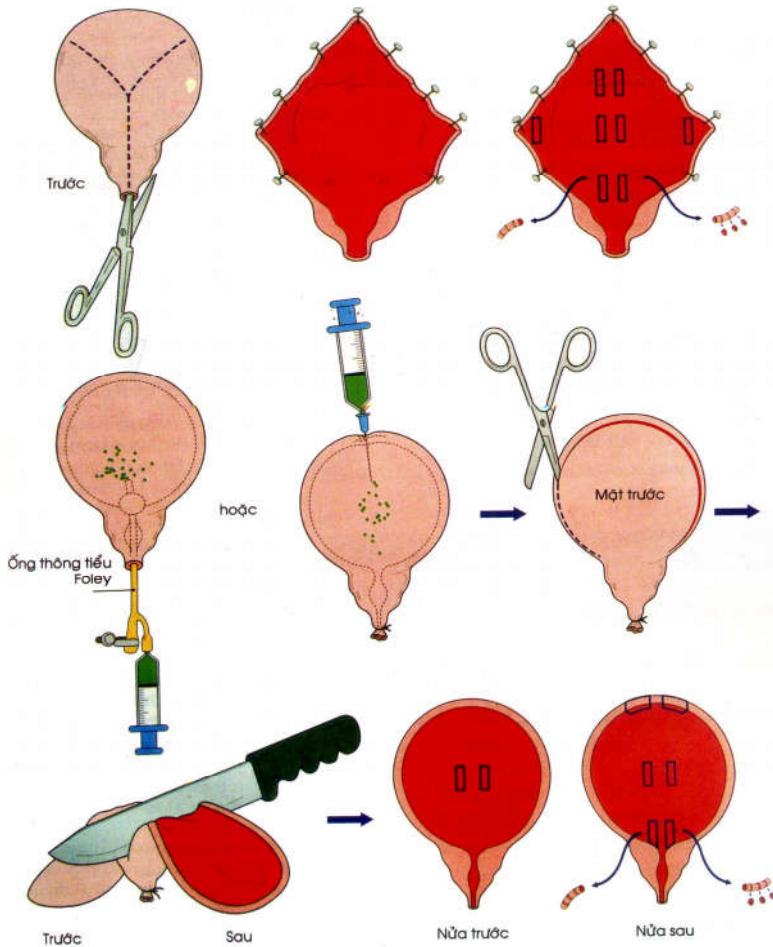
- Ở nam giới: tuyến tiền liệt (2 mẫu cho mỗi 1/4) và các túi tinh (1 mẫu cho mỗi bên). Nếu xác định ung thư biểu mô tuyến tiền liệt, được cắt như phần hướng dẫn cắt tuyến tiền liệt trong phần phẫu thuật tuyến tiền liệt.
- Những cơ quan khác.
- Những hạch cạnh túi tinh (nếu có).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.



Hình 21. Phẫu tích bệnh phẩm bàng quang

39. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CẮT BỎ DƯƠNG VẬT

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi Người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Nếu bệnh phẩm có kèm theo hạch bẹn thì tách riêng ra và xử lý theo những hướng dẫn riêng.
- Luồn 1 ống thông nhựa (catheter) vào niệu đạo.
- Cố định trong formol đậm trung tính 10% qua đêm ở 4°C.
- Đánh dấu diện cắt phẫu thuật (kể cả niệu đạo) bằng mực Tàu.
- Cắt dọc theo đường giữa: lát cắt chia niệu đạo làm 2 phần.
- Chụp ảnh mỗi vị trí cắt lọc.

2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật: cắt đoạn toàn phần, 1 phần, có hay không có da bìu, tinh hoàn, hạch bẹn.
- Chiều dài và đường kính bệnh phẩm.
- U: vị trí tương quan với quy đầu, da quy đầu, niệu đạo; kích thước, màu sắc, bờ, độ sâu xâm lấn?
- Quy đầu: có viêm, teo đét, bạch sản không.
- Niệu đạo: u xâm lấn chưa.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- U: 3 lát cắt.
- Quy đầu và niệu đạo.
- Bờ phẫu thuật (bao gồm niệu đạo).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

40. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM TINH HOÀN

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy ảnh : 1 cái

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Mở bao tinh hoàn, cân, đo tinh hoàn.
- Bỏ đôi dọc tinh hoàn và cố định bằng formol đệm trung tính 10%.
- Chụp ảnh và xác định vị trí cần cắt lọc
- Cắt (theo hướng vuông góc với lát cắt đầu tiên) mỗi nửa tinh hoàn thành những lát dày khoảng 3mm, khảo sát cẩn thận từng mặt cắt.
- Cắt mào tinh hoàn dọc theo chiều dài.
- Cắt ngang thừng tinh ở vài vị trí.

2. Mô tả đại thể

- Cân, đo tinh hoàn.
- Chiều dài thừng tinh.
- Đặc điểm u (nếu có): kích thước, màu sắc, mật độ; mức độ đồng nhất; sự hiện diện của vỏ, hoại tử, chảy máu, calci hoá, xương hóa; sự xâm lấn của u vào bao tinh hoàn, mào tinh, thừng tinh và những cấu trúc khác?
- Đặc điểm của tinh hoàn không u: có teo, xơ hoá, có nốt không.
- Đặc điểm của lưới tinh hoàn và mào tinh.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- U: ít nhất 3 lát cắt hoặc 1 lát cắt cho mỗi cm u, phải có ít nhất 1 lát cắt có chứa phần tinh hoàn không u. Lát cắt phải có vỏ bao tinh hoàn, các vùng chảy máu, hoại tử của u và các vùng đặc.
- Vùng tinh hoàn ngoài u: 2 lát cắt.
- Mào tinh hoàn.
- Thừng tinh và mô xung quanh cách tinh hoàn 1cm: 1 lát cắt ngang.
- Thừng tinh và mô xung quanh ở bờ phẫu thuật (diện cắt): 1 lát cắt ngang.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, bờ diện cắt, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

41. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CẮT BỎ TOÀN BỘ TUYẾN TIỀN LIỆT

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy ảnh: 1 cái

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Định hướng bệnh phẩm và đánh dấu bờ phẫu thuật bằng mực Tàu.
- Cố định bệnh phẩm qua đêm hoặc ít nhất trong vài giờ. Giảm thời gian cố định nếu có xử lý bằng lò vi sóng.
- Cắt ống dẫn tinh và đoạn gần (cổ bàng quang).
- Cắt 1 đoạn xa (đỉnh) hoặc cắt 1 đoạn 1cm vùng đỉnh, cắt theo hình nón để thẳng góc với diện cắt.
- Cắt tuyến tiền liệt thành nhiều lát dày 2-3 mm.
- Đặt các lát cắt kế nhau và quan sát kỹ.
- Cắt ngang niệu đạo (hình chữ U với bề lõm hướng về thùy sau) để làm mốc.
- Chụp ảnh các lát cắt sẽ lấy làm xét nghiệm và ghi nhận vị trí của các lát cắt.

2. Mô tả đại thể

- Cân và đo bệnh phẩm.
- Cơ quan hiện có: toàn bộ tuyến tiền liệt? niệu đạo (chiều dài), túi tinh, thừng tinh, hạch?
- U tuyến tiền liệt (vị trí trong thùy, kích thước, màu sắc, giới hạn, vỏ bọc và ăn lan quanh tuyến tiền liệt). Tuyến tiền liệt không u: có tăng sản cục không.
- Niệu đạo: có bị u xâm lấn không.
- Túi tinh: có bị u xâm lấn không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Bờ ống dẫn tinh.
- Bờ gần (cổ bàng quang).
- Bờ xa, chia ra bên phải và bên trái.
- Túi tinh: đoạn gần, giữa, xa của mỗi bên.

– Tuyến tiền liệt: chưa có sự thống nhất về phương pháp cắt lọc, nhất là khi không thấy u rõ trên đại thể. Ở những trung tâm lớn, người ta lấy toàn bộ bệnh phẩm, hoặc cắt từng lát 0,5cm theo chiều trước sau, mỗi lát thấy toàn bộ 2 thùy và eo tuyến.

Có thể cắt bệnh phẩm toàn bộ thành các lát đặt vào các khuôn nhựa (cassette) cực lớn hoặc cắt lát thành từng mảnh nhỏ đặt vào khuôn nhựa loại thông thường (nửa phải, nửa trái; nếu cần cả 1/4 trước và 1/4 sau).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm lấy làm xét nghiệm không bỏ sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

42. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TUYẾN TIỀN LIỆT (CẮT BỎ BẰNG ĐƯỜNG MỖ TRÊN XƯƠNG VỆ)

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Cắt các lát mỏng 3mm đối với bệnh phẩm tươi hoặc sau cố định formol đậm trung tính 10%.
- Quan sát mỗi lát cẩn thận tìm vùng nghi ngờ ung thư (vùng màu vàng hoặc các ổ cứng hơn hoặc mềm hơn phần mô xung quanh).

2. Mô tả đại thể

- Cân bệnh phẩm.
- Hình dạng, màu sắc, mật độ.
- Sự biểu hiện tăng sản cục, nang, sỏi, vùng nghi ngờ ung thư.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Thùy trái: 3 lát cắt.
- Thùy phải: 3 lát cắt.
- Thùy giữa: 2 lát.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm chứa toàn bộ tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

43. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TUYẾN TIỀN LIỆT (CẮT BỎ BẰNG ĐƯỜNG NIỆU ĐẠO)

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Cân chính xác trọng lượng bệnh phẩm.
- Quan sát kỹ tất cả các mảnh. Ung thư tiền liệt tuyến thường có màu vàng và/hoặc cứng.

2. Mô tả đại thể

- Cân bệnh phẩm, đếm số mảnh.
- Kích thước, hình dạng, màu sắc các mảnh.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

Lấy số mảnh tối đa làm xét nghiệm. Nếu chẩn đoán chưa rõ hoặc nghi ngờ ung thư, lấy hết số mảnh còn lại làm xét nghiệm.

* Nếu tất cả các mảnh nằm trong thùy:

- Xếp đầy tất cả các khuôn nhựa.
- Nếu còn dư, dùng thêm 1 khuôn nhựa cho mỗi 10g mô dư ra (mỗi khuôn nhựa chứa khoảng 2 g).

* Nếu tất cả các mảnh là từ nhiều thùy, thực hiện các bước sau cho mỗi bệnh phẩm (thùy) nhận được:

- Lấy tất cả bệnh phẩm của từng thùy cho đến khi khuôn nhựa đầy.
- Nếu còn dư, thêm 1 khuôn nhựa cho mỗi 10g mô.
- Nhận xét theo thứ tự sau:
 - + Thùy trước
 - + Thùy giữa
 - + Thùy sau
 - + Thùy bên bên trái
 - + Thùy bên bên phải
- Nếu chẩn đoán ung thư trên vi thể, làm xét nghiệm tất cả bệnh phẩm còn lại.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm lấy làm xét nghiệm không bỏ sót tổn thương, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

44. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM BÁNH RAU (ĐƠN THAI)

I. NGUYÊN TẮC

Cần khảo sát lúc bánh rau còn tươi, không được làm rách, nát bánh rau. Khảo sát cả màng rau, dây rốn. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị và mô tả đại thể

- Tiến hành ngay sau khi bệnh phẩm được lấy ra, chú ý không làm rách bánh rau.
- Ghi nhận số lượng máu và máu cục trong thùng chứa, quan sát các mảnh màng dây rốn hoặc rau thai bị rách ra.
- Khảo sát theo thứ tự: màng ối, bánh rau mặt thai và bánh rau mặt mẹ .
- Đo khoảng cách từ bờ rau thai đến phần gần nhất của chỗ rách (O: bờ rau tiền đạo).
- Khảo sát các màng để xác định bánh rau còn nguyên vẹn không (nếu có mất 1 phần, báo cho bác sĩ sản biết), các mô màng rụng hoại tử, phù nề, chửa ngoài màng ối, chảy máu sau màng, màu sắc và độ trong suốt.
- Lấy các mảnh màng dài 23cm bắt đầu từ chỗ rách cho đến bờ bánh rau. Cuộn bệnh phẩm với bề mặt màng ối ở bên trong, cố định 24 giờ, lấy đoạn 3 mm từ trung tâm (chú ý không làm tróc màng ối) để làm xét nghiệm mô bệnh học. Lấy 1 đoạn thứ 2 gần màng ối, màng đệm, màng rụng từ nơi bị rách (trong trường hợp đẻ đường âm đạo).
- Cắt xén phần màng còn lại từ bờ rau
- Đo chiều dài của dây rốn và khoảng cách ngắn nhất từ chỗ bám của dây rốn vào bờ rau thai.
- Khảo sát dây rốn: chỗ bám (không có màng hoặc có màng; nếu có màng, xem mạch máu còn nguyên vẹn không?), số lượng mạch máu rốn (bằng cách cắt lọc dây rốn theo chiều ngang ở 2 hoặc nhiều điểm), màu sắc, các nút thắt, xoắn, thít chặt, máu tụ, nghẽn tắc không.
- Lấy dây rốn ở cách nơi bám vào bánh rau 3cm, cắt đoạn 2-4cm từ điểm giữa của dây rốn, cố định đoạn này 24 giờ, lấy 1 đoạn 3 mm để làm xét nghiệm mô bệnh học.
- Khảo sát bánh rau mặt thai: màu sắc, độ mờ đục, tơ huyết dưới màng đệm, nang (số lượng và kích thước), các nốt màng ối, dị sản vảy, huyết khối của mạch máu mặt thai, u mạch máu màng đệm
- Khảo sát bánh rau mặt mẹ: có toàn vẹn không Các vết nứt bình thường, chỗ rách, vùng bị lõm, chảy máu sau bánh rau (kích thước và khoảng cách từ bờ rau) không.
- Đo đường kính lớn nhất, độ dày của vùng trung tâm, cân nặng (sau khi cắt xén dây rốn và màng rau), hình dạng như thế nào.

– Sờ nắn bánh rau nhẹ nhàng bằng 1 tay, trái bánh rau mặt mẹ ngửa lên trên 1 mặt phẳng và cắt các lát bằng dao lớn, sắc với khoảng cách mỗi lát 10cm. Bánh rau mặt thai không cắt đứt để giữ bệnh phẩm dính nhau.

– Lấy 4 mẫu bánh rau phía mặt mẹ và mặt thai còn nguyên vẹn. Mạch máu của thai phải được cắt thẳng góc với trục dài. Cố định 24 giờ, cắt thành mẫu 3cm để làm xét nghiệm mô bệnh học. 1 mẫu phải chứa bản đệm ở vùng ít có tơ huyết dưới màng đệm. Còn các mẫu khác phải có chứa rau mặt mẹ. Thực hiện cắt lọc tương tự với các tổn thương khác trên bánh rau.

– Khảo sát các lát cắt ngang ở nơi nhồi máu (vị trí, kích thước, số lượng); các huyết khối giữa các lông rau (số lượng), số lớp, sự lắng đọng sợi tơ huyết ngoài lông rau, mật độ, sự calci hóa, nang hóa, u. Mô tả vị trí tổn thương (ở trung tâm hay ở bên hoặc ở rìa), độ sâu (cạnh màng đáy, trung gian, hoặc dưới màng đệm) và thời gian bị tổn thương (mới hoặc lâu).

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Bánh rau (như đã hướng dẫn trước đó + các vùng bất thường nếu có).
- Các màng.
- Dây rốn.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm lấy làm xét nghiệm không sót tổn thương, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

45. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM BÁNH RAU (SONG THAI)

I. NGUYÊN TẮC

Pha khi bệnh phẩm còn tươi, cần xác định rõ 1 hay 2 bánh rau, nếu 2 bánh rau phải pha riêng. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị và mô tả đại thể

- Nếu các bánh rau không dính nhau: khảo sát riêng lẻ từng bánh rau tương tự bánh rau đơn thai.
- Nếu các bánh rau dính nhau:
 - + Xem 2 dây rốn đã được đánh dấu phân biệt của thai A và thai B chưa. Nếu chưa, cần đánh dấu ngay.
 - + Xác định sự hiện diện và loại màng phân chia:
 - * Nếu không có (màng đệm đơn - màng ối đơn), ghi lại.
 - * Nếu có:
 - + Cắt 1 mảnh màng hình vuông, cuộn lại và cố định 24 giờ, cắt thành lát dày 3 mm để làm xét nghiệm mô bệnh học.
 - + Thử xác định trên đại thể màng phân chia có chứa màng đệm hay không.
 - + Ghi nhận loại và số lượng các loại thông nối mạch máu đối với loại bánh rau màng đệm đơn - màng ối đôi: động mạch - động mạch, tĩnh mạch - tĩnh mạch, động mạch - tĩnh mạch. Có thể thấy rõ hơn các thông nối động mạch - tĩnh mạch. Có thể bộc lộ thông nối động- tĩnh mạch bằng cách tiêm 30 - 50 ml dung dịch nước muối có phẩm nhuộm động mạch bánh rau thứ nhất (dọc theo mặt kết dính) để xem có dịch chảy ra tĩnh mạch của bánh rau thứ 2 không. Để làm thử nghiệm này, bánh rau phải còn nguyên vẹn. Động mạch bao giờ cũng dẫn lưu về tĩnh mạch.
 - + Phân chia bánh rau song thai dọc theo đường xích đạo mạch máu
 - + Khảo sát mỗi phân nửa tương tự bánh rau đơn thai.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Bánh rau thai A.
- Màng rau thai A.
- Dây rốn thai A.
- Bánh rau thai B.
- Màng rau thai B.
- Dây rốn thai B.
- Màng phân chia (nếu có).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

46. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM SẴY THAI

I. NGUYÊN TẮC

Khảo sát khi bệnh phẩm còn tươi, cả phần thai nhi và bánh rau. Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

Giữ nguyên, cắt thẳng đứng dọc giữa hoặc phẫu tích tùy thuộc vào kích thước của thai.

2. Mô tả đại thể

– Giới tính, cân nặng, chiều dài đầu - mông hoặc chiều dài đầu - gót hoặc chiều dài chân.

– Định tuổi thai (tương đối).

– Tình trạng chung: có bảo quản tốt không, có bị ngâm ướt không.

– Các bất thường bên ngoài và bên trong và những biến đổi khác.

– Dây rốn: hình dạng, mạch máu.

– Mô rau đi kèm với thai:

+ Cân nặng.

+ Màng rau: chỗ bám, màu sắc, độ trong suốt, có toàn vẹn không; thai ngoài màng rau không. Chảy máu ở rìa hoặc ở màng rau.

+ Dây rốn: chỗ bám, màu sắc, những biến đổi khu trú.

+ Màng đệm: kiểu mạch máu, khẩu kính mạch máu, màu sắc; chảy máu dưới bản đệm?

+ Gai rau: có thoái hoá nước không (ghi nhận tỉ lệ phần trăm các gai rau bị tổn thương và kích thước của các túi nước), các tổn thương khu trú.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

– Phôi nhỏ: toàn bộ hoặc một nửa phôi, tùy theo kích thước.

– Thai lớn: cắt một lát từ phôi, dạ dày (bao gồm các thành phần chứa đựng trong dạ dày), thận và các cơ quan khác, tùy theo chỉ định.

– Mô rau:

+ Màng rau nằm ngoài bánh rau (một mẫu).

+ Dây rốn (một mẫu).

+ Bản đệm (một mẫu).

+ Gai rau từ màng đệm lược, bao gồm rau phía mặt mẹ (một mẫu).

Để khám nghiệm kỹ lưỡng hơn các mẫu tìm dị dạng thai và bất thường nhiễm sắc thể, xem bảng dưới đây.

Bảng liên quan giữa tuổi, kích thước và cân nặng ở phôi thai người

Tuổi phôi	Chiều dài đầu-mông (CR) (mm)	Chiều dài đầu - gót (mm)	Đường kính ngoài của túi phôi (mm)	Trọng lượng (gam)	Số lượng tăng thêm mỗi tháng	
					Chiều dài CR	Trọng lượng
Một tuần	0,1	-	0,2			
Hai tuần	0,2	-	3			
Ba tuần	2	-	10			
Bốn tuần	5	-	10	0,02	49	40000
Năm tuần	8	-	25			
Sáu tuần	12	-	30			
Bảy tuần	17	19	40			
2 tháng ÂL	25	30	50	1	3,6	49
3 tháng ÂL	56	73	-	14	1,4	13
4 tháng ÂL	112	157	-	105	1	6,5
5 tháng ÂL	160	239	-	310	0,43	1,95
6 tháng ÂL	203	296	-	640	0,26	1,07
7 tháng ÂL	242	355	-	1080	0,14	0,69
8 tháng ÂL	277	409	-	1670	0,14	0,55
9 tháng ÂL	313	458	-	2400	0,13	0,43
Đủ tháng (38 tuần)	350	500	-	3300	0,12	0,38

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

47. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM BUỒNG TRỨNG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được cả các mô kế cận, phúc mạc, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh- tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Cắt bỏ buồng trứng toàn phần hoặc 1 phần. Phương pháp mổ bảo tồn thường gặp nhất là cắt u nang buồng trứng, giữ lại một phần nhu mô không có nang (cắt bỏ u nang buồng trứng).

1. Quy trình chuẩn bị

- Đo kích thước cơ quan. Cân trọng lượng nếu thấy có bất thường.
- Nếu nhận được bệnh phẩm tươi:
 - + Bệnh phẩm có kích thước bình thường hoặc gần bình thường: cắt đôi và cố định vài giờ.
 - + Bệnh phẩm có kích thước lớn: cắt vài lát và cố định vài giờ.

2. Mô tả đại thể

- Kích thước và hình dạng; cân nặng (nếu kích thước lớn).
- Vỏ bọc: có dày, dính, chảy máu, vỡ không, mặt ngoài trơn láng hay gồ ghề.
- Mặt cắt: tính chất vỏ, tuỷ, rốn; có u nang (kích thước và chất chứa); hoàng thể như thế nào, có calci hoá, chảy máu không.
- U: kích thước; mặt ngoài: nhẵn hoặc có nhú, đặc hoặc dạng nang? Thành u nang dày hay mỏng, chất chứa trong u nang, mặt trong vách u nang nhẵn hay sù sì, có chảy máu hay hoại tử hoặc calci hoá không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Đối với cắt bỏ buồng trứng ngẫu nhiên: 1 lát cắt tiếp tuyến toàn bộ buồng trứng.
- Đối với u nang: cắt 3 lát ở u nang (nhất là ở vùng có nhú).
- Đối với u: cắt 3 lát hoặc mỗi lát cắt cho mỗi cm nếu khối u lớn, nếu thấy được mô buồng trứng không có u, cắt thêm 1 lát.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thót pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

48. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM VÒI TỬ CUNG

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Cắt bỏ vòi tử cung có thể được thực hiện riêng rẽ trong trường hợp bệnh lý của vòi tử cung hoặc thường gặp hơn: cắt bỏ vòi tử cung là một phần của phẫu thuật cắt bỏ toàn bộ tử cung đường bụng phối hợp với cắt bỏ vòi tử cung - buồng trứng một bên hoặc hai bên.

1. Quy trình chuẩn bị

- Cố định bệnh phẩm trước khi cắt. Nếu vòi tử cung bị dính vào tử cung: cố định toàn bộ.
- Đo chiều dài và đường kính lớn nhất.
- Nếu vòi tử cung tương đối bình thường về kích thước: cắt hàng loạt cách nhau 5mm và quan sát. Lát cắt không đứt rời hoàn toàn, do đó, các mẫu vẫn còn dính nhau nhờ lớp thanh mạc.
- Nếu vòi tử cung to lên bất thường, cắt một lát dọc, sau đó là các lát cắt song song nếu cần.

2. Mô tả đại thể

- Chiều dài và đường kính lớn nhất.
- Thanh mạc: có tơ huyết, chảy máu, dính vào buồng trứng hoặc cơ quan khác không.
- Thành: có dày bất thường, vỡ không.
- Niêm mạc: có teo, tăng sản, mặt ngoài của loa vòi; có lộn ngược không.
- Lòng: có rõ ràng, có dẫn, có chất chứa bên trong không, đường kính thế nào (nếu to bất thường).
- Khối: kích thước, bề mặt, sự xâm nhập.
- U nang cạnh buồng trứng: kích thước, bề dày của thành u nang, chất chứa; không cuống hay có cuống.
- Trong trường hợp nghi ngờ chứa tại vòi tử cung: có khối chảy máu hay vỡ không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học (hình 22)

- Đối với vòi tử cung được cắt bỏ tình cờ và đại thể không có bất thường: cắt ba lát ngang qua mỗi ống, được lấy từ đầu gần giữa và những đoạn xa, để chung vào một khuôn nhựa.

– Đối với vòi tử cung nghi ngờ có thai ngoài tử cung: lấy tất cả các mẫu mô có vẻ là sản phẩm của thai. Nếu đại thể không rõ, lấy nhiều lát cắt từ 1 thành ống tại vùng chảy máu cũng như lấy nhiều lát từ cục máu đông trong lòng vòi. Nếu không tìm thấy các thành phần của thai trên vi thể, cắt thêm nhiều lát nữa.

– Đối với vòi tử cung có các tổn thương khác: cắt nhiều lát đủ để khảo sát mọi vùng bất thường nào của vòi tử cung. Nếu có u, cắt ít nhất 3 lát gồm cả vùng niêm mạc không bị tổn thương trên đại thể.

IV. KẾT QUẢ

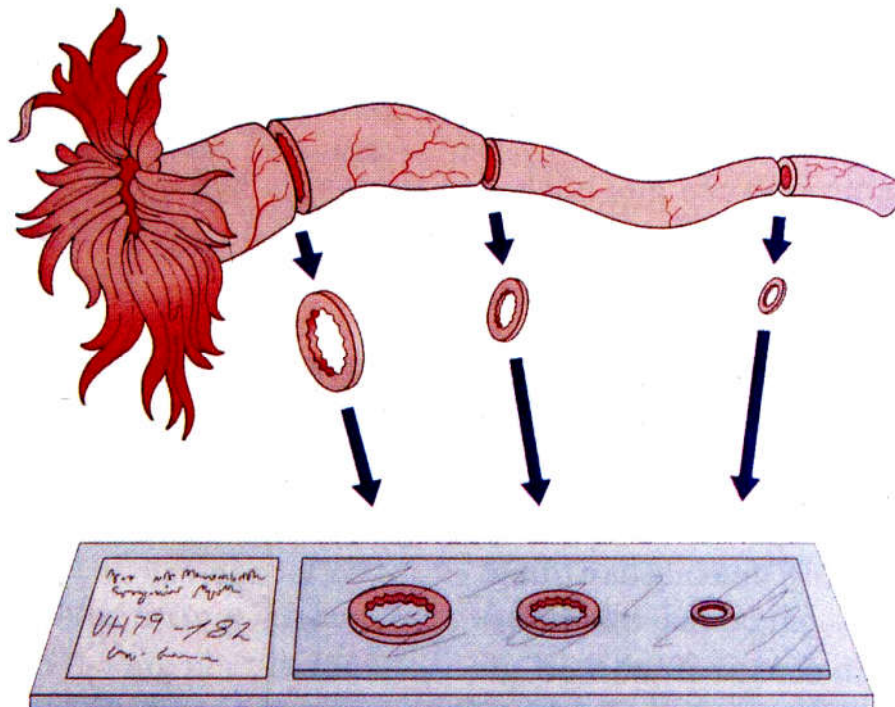
Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.



Hình 22. Phẫu tích bệnh phẩm vòi tử cung

49. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM VÚ (SINH THIẾT VÀ/HOẶC CẮT BỎ RỘNG ĐỐI VỚI CÁC U SỜ ĐƯỢC)

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Sinh thiết vú được thực hiện sau khi rạch da quanh vú (vì lý do thẩm mỹ) hoặc rạch da theo đường hướng tâm (nan hoa), sau đó lấy một phần mô u (sinh thiết một phần) hoặc toàn bộ mô u kèm một phần nhỏ mô bình thường xung quanh (sinh thiết toàn phần). Sinh thiết toàn phần đồng nghĩa với mổ lấy u và đôi khi kèm với sinh thiết hạch nách.

1. Quy trình chuẩn bị

- Đo các kích thước của bệnh phẩm. Cân bệnh phẩm nếu bệnh phẩm > 50g.
- Thấm khô bệnh phẩm, sau đó đánh dấu diện cắt bằng mực Tàu và thấm khô lần nữa.
- Nếu cần thiết, cho chụp X-quang bệnh phẩm.
- Cắt lọc bệnh phẩm: nếu mẫu mô ≤ 3 cm, mỗi lát cắt 3 - 4 mm. Nếu mẫu mô lớn hơn, cắt ngang mẫu mô, cố định nửa phần còn lại, úp mặt cắt xuống và cắt vuông góc với mặt cắt.
- Nếu có chỉ định nhuộm thụ thể hormon, dành một phần mô cho việc này.

2. Mô tả đại thể

- Các kích thước và mật độ của u.
- Các tính chất của mặt cắt bệnh phẩm: xơ hóa, dạng u nang (kích thước, số lượng, chất trong u nang), vôi hóa, tính chất mô u (kích thước, màu sắc, bờ, mật độ, hoại tử, khoảng cách đến các diện cắt).

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Mẫu mô nhỏ: đúc hết toàn bộ mô (có thể dùng đến 5 khuôn nhựa).
- Mẫu mô lớn: phụ thuộc vào việc lấy mẫu và nên lấy ít nhất 2/3 mô u, không bao gồm mô mỡ, nhưng bao gồm cả những tổn thương thấy được trên đại thể và cả các diện cắt đã được đánh dấu bằng mực.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm lấy làm xét nghiệm không sót tổn thương, cố định đúng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

50. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM VÚ (TOÀN PHẦN)

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp điều trị đã dùng trước phẫu thuật, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

– Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Có nhiều loại phẫu thuật cắt bỏ vú:

– Phẫu thuật cắt bỏ vú toàn phần Halsted bao gồm cắt bỏ toàn bộ vú kèm mô mỡ xung quanh và bên dưới, cơ ngực lớn, cơ ngực nhỏ và các hạch nách thành 1 khối. Loại phẫu thuật này hầu như đã không được dùng nữa.

– Phẫu thuật cắt bỏ vú toàn phần cải tiến (còn được gọi là cắt bỏ vú đơn giản mở rộng và cắt bỏ toàn bộ vú), bao gồm lấy toàn bộ mô tuyến vú, gồm cơ đuôi vú, núm vú, da xung quanh, mô mỡ chứa hạch ở vùng nách thấp; cơ ngực lớn được bảo tồn.

– Phẫu thuật cắt bỏ vú dưới da bao gồm cắt bỏ toàn bộ mô tuyến vú không kèm da bên trên, núm vú và mô vùng đuôi vú.

– Phẫu thuật cắt bỏ vú 1/4 là cắt bỏ một phần mô tuyến vú (1/4 góc vú), thường kèm với nạo hạch nách.

– Phẫu thuật cắt bỏ rộng u là lấy toàn bộ mô u và 1 phần mô bình thường quanh u.

– Phẫu thuật cắt bỏ 1/4 vú là một dạng của phẫu thuật lấy toàn bộ u, trong đó mô vú được phẫu thuật tương ứng với 1/4 của vú về giải phẫu.

1. Quy trình chuẩn bị

1.1. Ngày thứ nhất

– Cân bệnh phẩm.

– Định hướng bệnh phẩm. Trong trường hợp cắt bỏ vú toàn phần, sử dụng mô mỡ vùng nách là mốc để xác định mặt ngoài của bệnh phẩm, mô cơ để xác định mặt trên. Đặt bệnh phẩm lên thớt sao cho mặt sau ngửa lên, mặt dưới bệnh phẩm hướng về người cắt, như thể người cắt đứng phía sau mô vú. Chú ý, xếp bệnh phẩm sao cho tại vị trí của 1/3 giữa và 1/3 trên của cơ ngực lớn, các sợi cơ gần như có hướng nằm ngang.

– Cắt lọc hạch lymphô.

Cắt bỏ vú toàn phần cải tiến

– Bóc tách mô vùng nách ra khỏi tuyến vú.

– Do điểm mốc không có như trong bệnh phẩm cắt bỏ vú toàn phần, nên chia mô vùng nách là 2 phần: 1/2 trên và 1/2 dưới và cố định qua đêm.

– Lật bệnh phẩm lại cho mặt da quay lên và vị trí 6 giờ của bệnh phẩm ở vị trí gần người cắt lọc nhất, như thể đang đối diện với người bệnh.

– Đo kích thước và đánh giá hình thái bên ngoài. Sờ tìm khối u và hạch. Dùng mực không hòa tan trong nước vẽ 1 đường dọc đi ngang qua núm vú và 1 đường khác thẳng góc với đường trên cũng đi ngang qua núm vú. Hai đường này chia mô vú làm 4 phần: phần trên ngoài, dưới ngoài, trên trong và dưới trong.

– Cắt lọc núm vú và quầng vú, cố định qua đêm.

– Dùng dao dài cắt toàn bộ mô vú theo trục dọc, mỗi lát dày khoảng 2cm. Một trong những lát cắt phải đi chính xác theo đường vẽ mực ban đầu, điều này cho phép tách 2 phần một cách chính xác: 1/2 phần trong và 1/2 phần ngoài. Tách từng lát cắt cẩn thận và đánh giá từng lát nhưng luôn giữ nguyên định hướng ban đầu. Có thể chụp ảnh, chụp X-quang, lấy mẫu cho nhuộm hóa mô miễn dịch nếu cần thiết. Sau đó, cố định toàn bộ với định hướng ban đầu qua đêm.

1.2. Ngày thứ hai

– Bệnh phẩm hạch: bóc tách và cắt lọc tất cả các hạch. Tối thiểu phải được 20 hạch trong bệnh phẩm cắt bỏ vú toàn phần .

– Bệnh phẩm núm vú: nếu núm vú bình thường, cắt lát theo chiều trên xuống. Nếu núm vú bị co rút hoặc lộn ngược, cắt nhiều lát song song nhau, cách nhau 2 - 3mm, đường cắt phải đi qua núm vú, quầng vú và thẳng góc với da.

– Bệnh phẩm vú: kiểm tra lại từng lát cắt và nếu cần, có thể cắt thêm.

2. Mô tả đại thể

Ghi chú ngắn gọn bệnh phẩm ở ngày thứ nhất và ghi chú cụ thể vào ngày thứ 2.

– Xác định vú bên trái, bên phải và phương pháp cắt bỏ vú.

– Liệt kê các thành phần trong bệnh phẩm: da, núm vú, mô vú, cơ ngực lớn, cơ ngực nhỏ, cân cơ, mô vùng nách, cấu trúc thành ngực.

– Cân và đo các kích thước (chiều dài nhất của da và chiều dài thẳng góc với chiều dài thứ nhất)

– Mô tả hình thái bên ngoài:

+ Mô tả hình dạng và màu sắc da.

+ Xác định vị trí và mức độ của những thay đổi trên da (sẹo, vết mổ, đỏ da, phù, co rút, loét).

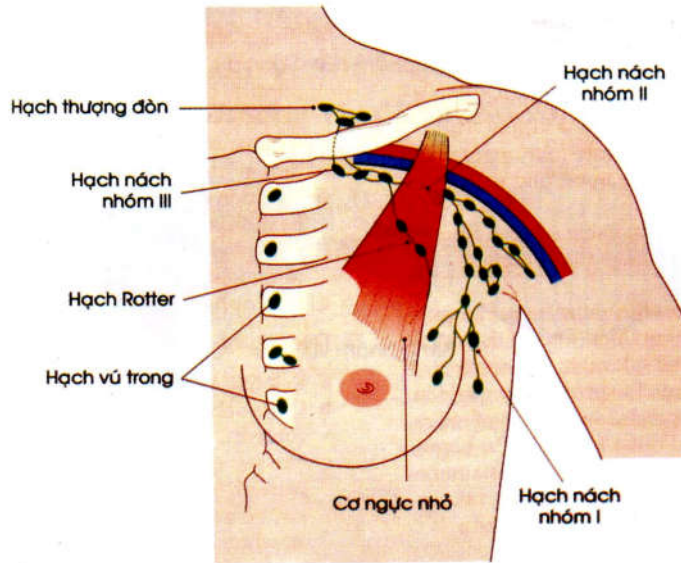
+ Hình dạng núm vú và quầng vú (có bào mòn, loét, co rút, lộn ngược không).

+ Xác định tổn thương và những thay đổi khác: định vị so với núm vú và ở 1/4 nào của bệnh phẩm.

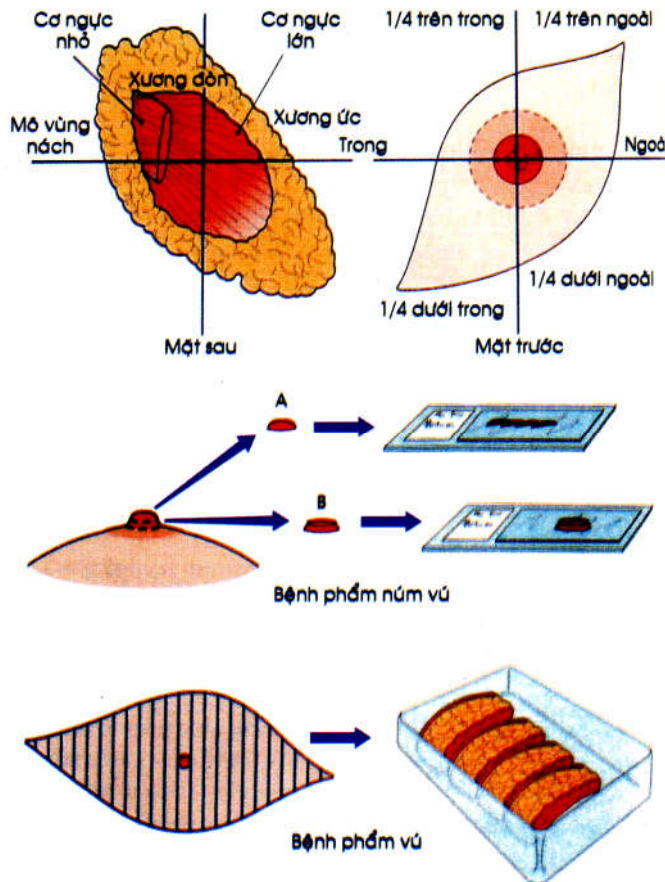
- + Mô tả những bất thường khi sờ nắn.
- Mô tả mặt cắt:
 - + Xác định (tương đối) lượng mô mỡ và nhu mô tuyến vú .
 - + Xem xét các nang, ống bị giãn: kích thước, số lượng, vị trí, chất trong lòng nang, ống.
 - + Mô u: vị trí ở 1/4 nào và khoảng cách tới núm vú, độ sâu so với da, kích thước, hình dạng, mật độ, màu sắc, hoại tử, xuất huyết, vôi hóa, có dính da, cơ, cân cơ hay núm vú hay không.
 - + Hạch lymphô: số lượng hạch ở mỗi nhóm hạch, kích thước hạch lớn nhất trong mỗi nhóm, kích thước và vị trí hạch có di căn rõ trên đại thể.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Mô vú: cắt 3 mẫu ở mô u, lấy mẫu tất cả các tổn thương thấy được trên đại thể hoặc X-quang; lấy tối thiểu mẫu ở mỗi 1/4 theo thứ tự: 1/4 trên ngoài, 1/4 dưới ngoài, 1/4 dưới trong, 1/4 trên trong.
 - Núm vú: xem ở phần Quy trình chuẩn bị.
 - Cơ ngực lớn (đối với phương pháp cắt bỏ vú toàn phần): lấy 1 mẫu ở vùng bất thường trên đại thể; nếu không có, lấy vùng gần mô u nhất.
 - Hạch: tất cả các hạch (nếu có) phải lấy xét nghiệm mô bệnh học. Hạch nhỏ phải đúc hết hạch; nếu hạch lớn hơn 0,5cm, phải cắt lát mỏng. Nếu mô vùng nách có nhiều mỡ, phải bộc lộ vùng đại diện. Cắt lọc và đúc theo thứ tự sau:
 - Cắt bỏ vú toàn phần:
 - + Hạch nách vùng thấp (nhóm I).
 - + Hạch nách vùng giữa (nhóm II).
 - + Hạch nách vùng cao (nhóm III).
 - + Hạch Rotter (nhóm hạch giữa và cơ ngực), nếu không có hạch, phải lấy mô mỡ vùng này làm xét nghiệm mô bệnh học.
 - Cắt bỏ vú toàn phần cải tiến:
 - + Nhóm hạch 1/2 dưới.
 - + Nhóm hạch 1/2 trên.
- (Không dùng các thuật ngữ hạch vùng thấp, giữa, cao như trong phẫu thuật cắt bỏ vú toàn phần nói trên).



Hình 23. Sơ đồ các nhóm hạch vú.



Hình 24. Phân tích bệnh phâm u vú.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, có bờ diện cắt, hạch, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

51. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM SINH THIẾT HẠCH

I. NGUYÊN TẮC

Lấy tất cả các hạch, không để sót tổn thương, lấy cả phần mô kế cận (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Nếu hạch còn tươi cắt 2 - 3 lát vuông góc với trục dọc và:

+ Lấy 1 mẫu nhỏ để cấy vi khuẩn, nếu cần.

+ 4 phiến kính áp hạch, cố định trong cồn Methanol, nhuộm HE 2 phiến đồ, nhuộm Wright 2 phiến đồ.

+ Cố định 1 phần trong dung dịch B5 để làm xét nghiệm mô bệnh học.

+ Trường hợp nghi bệnh lý u lymphô: để dành phiến đồ cho phương pháp đo tế bào dòng chảy, di truyền tế bào, di truyền học phân tử ...

+ Nếu còn mô, cố định trong formol trung tính 10%: cắt nhiều lát 3mm làm xét nghiệm mô bệnh học.

2. Mô tả đại thể

– Hạch tươi hay đã cố định.

– Kích thước hạch và tình trạng vỏ hạch.

– Mặt cắt, màu sắc, dạng nốt, chảy máu, hoại tử.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

Cắt ngang hạch, kèm theo ít nhất 1 phần vỏ bao: 1 đến 3 lát tùy kích thước hạch.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

52. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM HẠCH NẠO VẾT

I. NGUYÊN TẮC

Cần lấy toàn bộ các hạch đã được nạo vét và phân theo nhóm hạch, phải lấy cả mô kế cận (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Phẫu tích hạch có mô mỡ còn tươi, sử dụng kẹp và kéo sắc. Kiểm tra kỹ vùng sát cơ quan phẫu tích để lấy được hết hạch, phân chia theo từng nhóm hạch.
- Có 2 cách:
 - + Bệnh phẩm còn tươi: phẫu tích kỹ dưới ánh sáng đủ bằng kéo, kẹp. Tránh làm nát mô hạch (do bóp mạnh tay).
 - + Cố định qua đêm trong formol đậm trung tính 10% hoặc dung dịch Carnoy, sau đó tiến hành phẫu tích hạch thật kỹ.

2. Mô tả đại thể

- Số lượng hạch trong mỗi nhóm hạch.
- Kích thước hạch lớn nhất trong mỗi nhóm hạch.
- Hình dạng, màu sắc, nghi có di căn không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Tất cả hạch cần được xét nghiệm mô bệnh học.
- Hạch nhỏ (dày < 3mm) được thử riêng 1 mẫu.
- Vài hạch nhỏ hơn có thể để chung trong 1 khuôn nhựa.
- Hạch lớn được cắt đôi, sau đó có thể cắt lát 2 - 3 mm, diện cắt càng lớn càng tốt và có thể để riêng trong từng khuôn nhựa.
- Phần còn lại để trong lọ chứa formol, để riêng theo từng nhóm.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ, nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

53. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM NẠO VẾT TRIỆT ĐỂ HẠCH CỎ

I. NGUYÊN TẮC

Lấy toàn bộ các hạch, phân theo nhóm, cho vào các khuôn nhựa riêng, lấy mô quanh hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

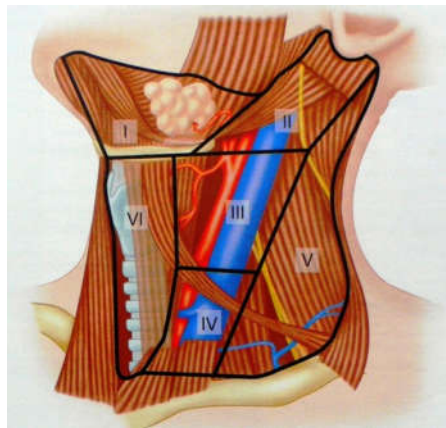
Phẫu thuật nạo vét triệt để *chuẩn* hạch cổ bao gồm: lấy tất cả các hạch cổ, cơ ức đòn chũm - tĩnh mạch cảnh trong, rễ thần kinh cổ, tuyến dưới hàm và đôi khi cả phần đuôi của tuyến mang tai.

Trong phẫu thuật nạo vét triệt để *lấy rộng* hạch cổ: ngoài những mô cấu trúc phải cắt bỏ trong phẫu thuật chuẩn, người ta còn cắt thêm phần mô sau hầu, cạnh khí quản, tuyến mang tai, dưới cằm và/hoặc hạch trung thất trên.

Trong phẫu thuật nạo hạch vùng (một phần hay chọn lọc), chỉ có các hạch “*gác*” được cắt bỏ. Những hướng dẫn sau đây chỉ áp dụng cho “Nạo vét triệt để chuẩn hạch cổ”. Đối với những phẫu thuật nạo vét hạch cổ khác, cần có những hướng dẫn riêng. Do thiếu những mốc giải phẫu học trong phẫu thuật cải biên và phẫu thuật “nạo vét hạch vùng” nên việc xác định các nhóm hạch sẽ do phẫu thuật viên quyết định.

1. Quy trình chuẩn bị

- Hướng bệnh phẩm và phân chia theo nhóm hạch: dưới hàm, da cổ, cơ ức đòn chũm, tĩnh mạch cảnh trong và hạch có chứa mỡ.
- Phân chia hạch theo 6 nhóm tùy theo ở phần trên hay phần dưới của bệnh phẩm và tùy theo sự liên quan với cơ ức đòn chũm (xem hình vẽ dưới đây). Cần tìm được ít nhất 40 hạch.



Hình 25. Phẫu tích bệnh phẩm nạo vét triệt để hạch cổ

2. Mô tả đại thể

- Vị trí và loại u nguyên phát.

- Chiều dài cơ ức - móng.
- Có kèm tĩnh mạch cảnh không. Chiều dài bao nhiêu. Có bị u xâm lấn không.
- Có dấu hiệu hạch bị di căn không. Tuyến dưới hàm, mô mềm hoặc cơ như thế nào.
- Kích thước hạch lớn nhất.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Hạch cổ trước - trên.
- Hạch cảnh trên.
- Hạch cổ sau - trên.
- Hạch cổ trước - dưới.
- Hạch cảnh dưới.
- Hạch cổ sau - dưới.
- Tuyến dưới hàm.
- Tĩnh mạch cảnh.
- Cơ ức đòn chũm.
- Tuyến giáp (nếu có).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

54. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM U MÔ MỀM

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Cưa, dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

– Máy ảnh: 1 cái.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Quy trình sau đây dành cho bệnh phẩm thu được bằng phẫu thuật cắt chi nhưng cũng áp dụng cho bệnh phẩm từ các phẫu thuật nhỏ hơn.

1. Quy trình chuẩn bị

- Xem lại các hình ảnh có trước phẫu thuật cắt chi (CT scan, MRI).
- Đo chiều dài và chu vi của chi bị cắt bỏ, vị trí và kích thước bướu.
- Kiểm tra vị trí và kích thước của các sinh thiết trước đó (nếu có).
- Xác định các nhóm hạch chính và đặt vào các lọ riêng.
- Phẫu tích cẩn thận qua da, mô mỡ dưới da, mạch máu và thần kinh quanh u và tránh cắt vào u. Cố gắng xác định rõ mối liên quan giữa u và các mô lân cận như da, mô mỡ dưới da, cơ, mạch máu và thần kinh, xương và màng xương. Nếu cần thiết, đánh dấu các mốc giải phẫu bằng các thẻ.
- Khi đã xác định được giới hạn của u, cắt bỏ toàn bộ phần còn lại, có chừa một phần mô lành quanh u.
- Có 2 cách chuẩn bị, cách đầu áp dụng cho đại đa số trường hợp; cách sau cho một số trường hợp chọn lọc. Trong cả hai trường hợp, nếu đã có sinh thiết trước đó thì cần lấy một mẫu mô dọc theo toàn bộ đường rạch sinh thiết này.
 - + Cách 1: cắt u thành từng lát mỏng, tiếp tục quan sát từng lát để xác định mối liên quan giữa u với những cấu trúc lân cận đã nói trên. Lấy một số mẫu từ những vùng khác nhau của u dựa vào màu sắc, mật độ, cố định bằng formol đậm trung tính 10% trong vài giờ hoặc qua đêm, sau đó cắt nhỏ lại để đặt vừa vào trong khuôn nhựa đựng mô.
 - + Cách 2: đặt toàn bộ u vào trong một chậu chứa formol đậm trung tính 10%, đậy kín, rồi để trong tủ lạnh 4°C qua đêm, sau đó cắt thành từng lát mỏng. Chụp X-quang và chụp ảnh (nếu cần) để xác định vị trí cần cắt lọc.
- Cắt lọc nhanh phần mô mềm còn lại, tìm những ổ u khác hoặc những tổn thương khác.
- Dùng cưa cắt dọc các xương chính của chi. Cắt một miếng xương gần mô u nhất để đánh giá sự xâm lấn (nếu có).
- Mở các khớp lớn để khảo sát.

2. Mô tả đại thể

- Kiểu cắt chi; chi bên phải hoặc trái.
- Chiều dài và chu vi của chi, kể cả vị trí và đường kính u.
- Vị trí và kích thước của các lần sinh thiết trước nếu có.
- Đặc điểm của u:
 - + Xác định vị trí u: mô mỡ dưới da, buồng cơ nào, Cân cơ.
 - + Sự lan rộng của u và mối liên hệ với da, mô mỡ dưới da, cơ, cân sâu, màng xương, mạch máu khớp, thần kinh và các tổn thương mạch máu thần kinh do u.
 - + Có thấy u trên các đường rạch sinh thiết trước đây không.
 - + Kích thước ba chiều, hình dạng, màu sắc, giới hạn (vỏ bao, phình lồi hoặc xâm nhiễm không) mật độ, các biến đổi thứ cấp (chảy máu, thoái hóa dạng nang, hoại tử không).
 - + Sự hóa mềm, các ổ calci hóa, sụn, hoặc xương.
 - + Khoảng cách nhỏ nhất giữa u và diện cắt.
- Ghi nhận các bất thường nếu có về hình dạng đại thể của phần chi còn lại, da, mô mỡ dưới da, các thần kinh mạch máu lớn, xương (sự xâm lấn của u, bệnh loãng xương, tủy xương), các khớp (bệnh thoái khớp).
- Số lượng hạch tìm thấy.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- U: tùy theo kích thước u, cắt 4 lát hoặc nhiều hơn. Nên lấy mẫu ở mọi vùng có dấu hiệu bất thường. Mẫu cắt lọc luôn bao gồm phần ngoại vi u và các mô lân cận như mỡ, cơ, xương, màng xương, mạch máu và thần kinh.
- Toàn bộ đường rạch sinh thiết trước đây cần phải được lấy mẫu.
- Hạch: nếu hình ảnh đại thể có vẻ bình thường, chỉ cần lấy đại diện một hạch, nếu bất thường hoặc nghi di căn, lấy toàn bộ hạch.
- Diện cắt gần: mô dưới da và cơ (thêm cả da và xương nếu có chỉ định).

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, có bờ diện cắt, hạch (nếu có), cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

55. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM DÂY THẦN KINH NGOẠI VI

I. NGUYÊN TẮC

Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, phải lấy được rìa diện cắt, hạch (nếu có). Bệnh phẩm sau khi pha cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có/không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Khảo sát và cắt lọc loại bệnh phẩm này nên được thực hiện tại giường bệnh hoặc ngay sau khi nhận bệnh phẩm ở khoa giải phẫu bệnh. Chú ý tránh làm kéo căng hoặc dập nát.

– Đo chiều dài và đường kính (sinh thiết thần kinh thường từ 3-6cm).

– Để vùi nén, cắt 1 đoạn dài 2 - 4 mm cố định trong B5, sau đó lại cố định trong formol đậm trung tính 10%, phân chia bệnh phẩm để có đủ đoạn cắt ngang và cắt dọc.

– Để làm “cắt mỏng” và làm xét nghiệm hiển vi điện tử, cố định 1 đoạn trong glutaraldehyde 2,5M ở pH 7,4. Sau khi cố định 2 giờ, đặt sợi thần kinh dưới kính hiển vi và cắt lọc thành nhiều đoạn 3-4 mm. Đặt 4 -5 mẫu này vào khối (block) lớn, các đoạn khác cắt theo chiều dọc. Cắt 20 - 30 mẫu, mỗi mẫu có 2 - 3 bó. Để làm xét nghiệm hiển vi điện tử, nên cắt các mẫu 1-3 mm³.

– Để chuẩn bị tách từng sợi thần kinh, cắt lọc các đoạn thần kinh dài 1 - 2cm ngay sau khi sinh thiết, cố định trong formol đậm trung tính 10%, sau đó cố định trong O₅O₄ trong dung dịch đậm Millionig ở pH 7,4 trong 3 - 5 giờ với nhiệt độ phòng, sau đó qua glycerin, để lưu trữ cho đến lúc quan sát.

– Nếu có chỉ định, dùng 1 mẫu nhỏ sợi thần kinh tươi để nghiên cứu sinh hóa, nhuộm lipid và làm kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.

2. Mô tả đại thể

– Chiều dài và đường kính.

– Màu sắc. Tính chất không đều.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

– Cắt 1 lát ngang và 1 lát dọc để vùi nén.

– Đối với các phần khác của sinh thiết xem phần quy trình chuẩn bị.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

56. PHẪU TÍCH BỆNH PHẪM LÁCH

I. NGUYÊN TẮC

Lách được cắt bỏ toàn bộ sau khi thắt động - tĩnh mạch lách. Không để sót tổn thương, các mảnh cắt phải đại diện cho tổn thương, hạch (nếu có). Nếu nghi có bệnh hồng cầu liềm thì lấy một mẫu mô lách và cho cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%. Cho cấy nếu nghi có tình trạng nhiễm khuẩn.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol đậm trung tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Cân, đo lách.
- Cắt lách còn tươi thành từng lát thật mỏng, quan sát từng lát để tìm các tổn thương khu trú; không được rửa mặt cắt dưới vòi nước chảy. Cố định mỗi lát vào trong các bình lớn.
- Cho nuôi cấy vi khuẩn nếu nghi có tình trạng nhiễm khuẩn.
- Lát cắt nào nghi có bệnh lý thì lấy 4 phiến đồ áp; 2 phiến đồ được nhuộm HE và 2 phiến đồ được nhuộm với phẩm Wright.
- Nếu nghi có bệnh hồng cầu liềm thì lấy một mẫu mô lách và cho cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.
- Tìm hạch và lách phụ trong vùng rốn lách.
- Nếu muốn khảo sát tủy đồ lách trong trường hợp cường lách, cố định lách bằng cách bơm formol đậm trung tính 10% vào động mạch lách, khi khảo sát vi thể, sẽ thấy sự tương phản rõ rệt giữa tủy trắng và tủy đỏ lách
- Trường hợp lách được lấy ra trong phẫu thuật mở bụng xếp giai đoạn, tham khảo phần tương ứng.

2. Mô tả đại thể

- Trọng lượng và kích thước.
- Rốn lách: tình trạng mạch máu, có hay không hạch bạch huyết và lách phụ.
- Vỏ lách: màu sắc, độ dày, các thay đổi khu trú, dính, vết rách (vị trí, chiều dài và độ sâu).
- Mặt cắt: màu sắc; mật độ; có phồng lên không. Tiểu cầu Malpighi (kích thước, màu sắc, có rõ không); các bè xơ; các nốt vàng màu tàn thuốc lá hoặc khối; thâm nhiễm lan tỏa không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Lách bệnh lý: cắt ít nhất 3 lát, 1 lát có vùng rốn lách và 2 lát có vỏ lách.

- Lách bị rách vỡ do chấn thương: 1 lát cắt qua chỗ vỡ và 1 lát cắt bên ngoài chỗ vỡ.
- Các trường hợp khác: chỉ cần 1 lát cắt có vỏ lách.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: Thốt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

57. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM XƯƠNG (SINH THIẾT)

I. NGUYÊN TẮC

Sử dụng toàn bộ bệnh phẩm sinh thiết, để riêng phần không khử calci để chuyển ngay, phần khử calci cũng chuyển ngay vào dung dịch khử calci. Bệnh phẩm sau khi pha, cần được cố định ngay trong formol đậm trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Cưa, dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Sinh thiết bằng dùi chọc (trocar) hoặc bằng kim: xé dọc mẫu thử nếu kích thước trên 5mm đường kính. Tách riêng phần mềm, xử lý không qua quy trình khử calci.
- Mẫu sinh thiết mổ hoặc nạo: tách phần mô calci hóa và phần không calci, xử lý riêng biệt.

2. Mô tả đại thể

- Số lượng và kích thước mẫu mô.
- Thành phần chứa bên trong, màu sắc, hóa nang, hoại tử, nang xương: vỏ nang, chất chứa, màu sắc ra sao.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

Lấy toàn bộ mẫu có được, trừ khi mẫu quá lớn. Phần cần khử calci để riêng và đưa vào dung dịch khử calci, sau khi khử xong sẽ chuyển đúc như quy trình thông thường.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

58. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM XƯƠNG - CẮT ĐẦU XƯƠNG ĐÙI

I. NGUYÊN TẮC

Có thể dùng cưa cắt những mảnh xương tươi, cố định trong formol đậm trung tính 10% rồi khử calci hoặc cố định toàn bộ mẫu mô trong formol đậm trung tính 10% qua vài giờ hoặc qua đêm, khử calci rồi cắt bằng dao thông thường.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Cưa, dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Máy ảnh.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

– Máy ảnh: 1 cái.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Kiểm tra sụn khớp và mặt cắt.
- Đo đường kính đầu xương đùi, chiều dày của xương và màng khớp (đo chỗ dày nhất).
- Chụp hình, nếu có yêu cầu.
- Dùng kim đặc biệt kẹp giữ, cắt qua giữa mặt khớp (như hình bên dưới).
- Cắt các lát cắt song song, cách đường cắt ban đầu 3 mm trong lúc vẫn kẹp giữ như trước.
- Kiểm tra mẫu cắt mỏng, chụp hình và chụp X-quang. Nếu cần thiết thì cắt những mẫu song song tương tự.

2. Mô tả đại thể

- Kiểu cắt xương, diện cắt (nếu biết).
- Đường kính đầu xương đùi, chiều dày của xương và màng khớp.
- Mặt khớp: trơn nhẵn hay không đều, có bong, mất không, ở ngoại vi có gờ tạo xương không.
- Màng khớp: rìa có phì đại, có lồi, có nhú không.
- Mặt cắt: chiều dày sụn khớp; có lộ xương không, hóa ngà dưới sụn không, tạo nang không (nếu có, kích thước và hình thái như thế nào); hình thái của xương xa mặt khớp; bằng chứng của chấn thương trước đó.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Lấy 2 mẫu từ những vùng bất thường nhất, tối thiểu là có 1 mẫu bao gồm cả mặt khớp và màng khớp.

– Có 2 cách để lấy mẫu. Cách thứ nhất nhanh chóng, tương đối chính xác, thường cho kết quả sớm. Cách thứ 2 cần nhiều thời gian hơn, dễ làm, cho kết quả tốt hơn.

+ Dùng dao hoặc cưa cắt những mảnh mô tươi tùy thuộc phần xương cứng; cố định qua formol đậm trung tính 10% và khử calci.

+ Hoặc cố định toàn bộ mẫu mô trong formol đậm trung tính 10% qua vài giờ hoặc qua đêm, khử calci rồi cắt bằng dao mổ thông thường.

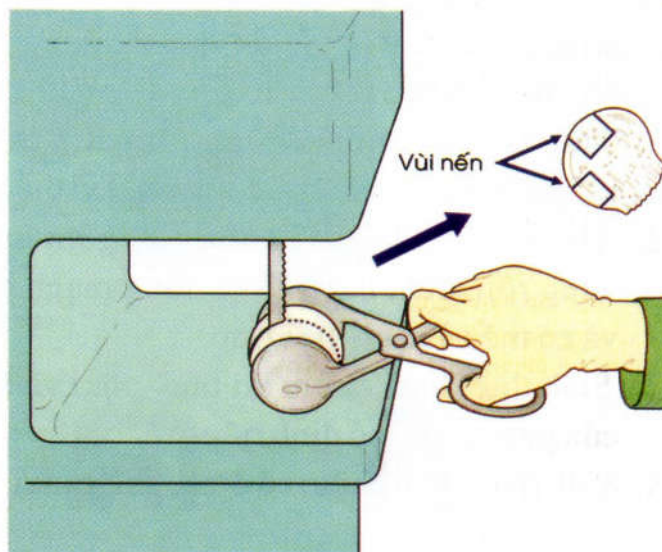
IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.



Hình 26. Dụng cụ và cách cắt bệnh phẩm đầu xương đùi.

59. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM U XƯƠNG

I. NGUYÊN TẮC

Quy trình này dùng cho các trường hợp cắt cụt (amputation) nhưng có thể áp dụng cho những trường hợp chỉ lấy u xương. Lấy cả hạch (nếu có).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

– Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.

– Cưa, dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.

– Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.

– Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.

– Máy ảnh, đèn Wood.

– Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...

– Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.

– Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

– Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.

– Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

– Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

– Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Xem lại phim X-quang chụp trước khi cắt cụt.
- Đo chiều dài và chu vi (bao gồm cả chu vi tại vị trí u, nếu thấy).
- Xác định hình ảnh, vị trí và đường kính những nơi sinh thiết..
- Tìm những nhóm hạch chính, xác định và đánh dấu vị trí có hạch đó.
- Dùng cưa cắt bờ giải phẫu gần của xương.
- Bóc tách toàn bộ mô mềm quanh xương (cho đến màng xương) bằng dao hoặc kéo. Dựa trên lâm sàng và X-quang, nếu u xâm nhiễm mô mềm xung quanh thì để lại phần mô mềm bị xâm nhiễm cùng với u. Nếu X-quang cho thấy u không có xâm nhiễm đến khớp, cắt rời khớp. Nếu có xâm nhiễm tới khớp thì để nguyên khớp, cắt cách khớp khoảng 5 - 10cm nếu có đường rạch trước đó thì lấy 1 mẫu dọc theo đường rạch cũ.
- Dùng cưa cắt dọc theo xương. Trong hầu hết các trường hợp, cắt thành 2 nửa trước và sau; trong những trường hợp khác, có thể cắt dọc giữa, cắt bên hoặc cắt chéo. Tùy theo loại xương, vị trí u thấy trên X-quang sẽ giúp xác định đường cắt thích hợp nhất.
- Kiểm tra mẫu cắt và chụp hình, xác định vị trí lấy mẫu.
- Để xác định những nốt vệ tinh của u, dùng đèn Wood kiểm tra trước khi cắt cụt bằng cách sử dụng tetracyclin.
- Dùng cưa cắt các lát song song dày 5 mm. Chụp X-quang mảnh cắt này. Cắt thêm mẫu khác của xương còn lại (nếu cần). Chụp hình tiếp những mẫu mới cắt.
- Bóc tách phần mô mềm ra khỏi xương; cắt dọc bằng cưa qua tất cả những xương chính, kiểm tra cẩn thận, tìm những ổ u khác. Mở khớp chính, kiểm tra thật kỹ.

2. Mô tả đại thể

- Loại cắt cụt; bên nào của chi.
- Chiều dài và chu vi lớn nhất, bao gồm cả chu vi tại u.
- Hình thái, vị trí, đường kính của nơi sinh thiết.
- Đặc điểm của u:
 - + Vị trí: xương liên quan; thân xương, hành xương, đầu xương. Tùy, vỏ hay màng xương. Đường đầu xương còn rõ (u qua đường đầu xương chưa). U có liên quan sụn

khớp và khe khớp không. U xâm lấn mô mềm không. Màng xương có bị đẩy lùi do u không (nếu có, xâm nhiễm đến đâu) Xâm nhiễm của u. Nếu có đường rạch trước đó, có xâm nhiễm u dọc theo đường rạch không.

+ Đặc điểm của u: kích thước, hình dạng, màu sắc, giới hạn, chất chứa bên trong; hình ảnh tạo xương, sụn, sợi không. Hóa u nang, xuất huyết hay hoại tử không.

+ Khoảng cách từ u đến diện cắt xương.

– Hình ảnh của xương xa u; có tổn thương vệ tinh không. Có ổ chiết quang khi kiểm tra bằng đèn Wood không

+ Những hình ảnh bất thường xa u; da, mỡ dưới da, cơ, mạch máu và thần kinh chính, những xương và khớp khác.

– Số lượng và hình thái hạch tìm thấy.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

– U: 4 mẫu hoặc nhiều hơn tùy thuộc vào kích thước u và sự xâm nhiễm. Tất cả những hình ảnh bất thường trên đại thể đều được lấy mẫu. Mẫu phải bao gồm cả phần ngoại vi của u, cạnh vỏ, tủy, đường đầu xương, sụn khớp, màng khớp và mô mềm.

– Nếu có vị trí rạch trước đó, lấy dọc theo chỗ đó.

– Lấy mẫu từ xương chưa bị xâm nhiễm trên đại thể, trên đường giữa u và diện cắt. Nếu u xâm nhiễm tới đầu trên của xương, lấy mẫu ở điểm giữa đầu gần xương.

– Rửa diện cắt xương.

– Bất kỳ vùng bất thường nào trên xương, mô mềm hay da.

– Hạch lymphô: nếu đại thể bình thường, chỉ lấy đại diện; nếu đại thể bất thường hoặc lâm sàng nghi ngờ di căn, phải lấy tất cả các hạch.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

60. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CHỌC HÚT TỦY XƯƠNG

I. NGUYÊN TẮC

Phần tủy được bơm ra từ chọc hút, phết nhanh một phần trên mặt phiến kính, cố định ngay và nhuộm để chẩn đoán tế bào; phần còn lại, làm theo quy trình mô học thường qui, nên để đông vón trước khi thực hiện kỹ thuật.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Phần tủy được bơm ra từ chọc hút, phết nhanh một phần trên mặt phiến kính, cố định ngay và nhuộm để chẩn đoán tế bào
- Phần còn lại, làm theo quy trình mô học thường quy, nên để đông vón trước khi thực hiện kỹ thuật.

2. Mô tả đại thể

- Ước số lượng bệnh phẩm lấy được.
- Hình thái đông vón của tủy lẫn máu.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Để toàn bộ mẫu lấy được cho đông lại toàn bộ.
- Nếu cục đông vón quá lớn, chọn những vùng tập trung nhiều tủy xương nhất.
- Nói chung, không cần khử calci.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mẫu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

61. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TỦY XƯƠNG (TỪ CẮT XƯƠNG SƯỜN)

I. NGUYÊN TẮC

Nếu quan sát không thấy có bất thường, chỉ lấy tủy xương làm theo quy trình pha tủy xương thông lệ (không khử calci). Nếu quan sát trên đại thể có bất thường, phải cắt, cố định, khử calci, lấy mẫu làm xét nghiệm mô bệnh học.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Cưa, dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

Trong một số trường hợp, xương sườn được cắt trong phẫu thuật cắt phổi hoặc cắt thùy phổi, đại thể không có bất thường, nhưng về nguyên tắc, vẫn phải kiểm tra.

- Đo chiều dài và chu vi của xương sườn.
- Dùng cưa cắt từ mẫu xương tươi lấy một mẫu khoảng 2cm chiều dài, có tủy xương ở 2 đầu.
- Dùng kim kẹp ép ở giữa để cho tủy xương chảy ra từ 2 đầu, lấy tủy xương.
- Mẫu tủy xương được cố định và làm xét nghiệm mô bệnh học; không cần khử calci.
- Cắt đoạn xương sườn đã lấy tủy theo chiều dọc, kiểm tra ống tủy.

2. Mô tả đại thể

- Xác định xương sườn phải hay trái, xương sườn số mấy.
- Chiều dài và đường kính lớn nhất bao nhiêu.
- Hình thái tủy xương trên mặt cắt: màu sắc, có ổ bất thường không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Nếu quan sát không có bất thường, chỉ lấy tủy xương làm xét nghiệm mô bệnh học như quy trình pha tủy xương bình thường (không khử calci).
- Nếu đại thể có bất thường thì phải lấy mẫu, cố định, khử calci, làm xét nghiệm mô bệnh học.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

62. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM TỦY XƯƠNG (SINH THIẾT LỖI KIM)

I. NGUYÊN TẮC

Mẫu sinh thiết bằng kim phải được cố định ngay sau khi lấy. Dung dịch cố định thường được lựa chọn là Zenker hay B5.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

Mẫu sinh thiết bằng kim phải được cố định ngay sau khi lấy được. Dung dịch cố định thường được chọn là Zenker hay B5.

2. Mô tả đại thể

- Số lượng, chiều dài và đường kính các mẫu.
- Màu sắc và mật độ có đồng nhất không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Lấy nguyên mẫu sinh thiết.
- Nếu sinh thiết 2 bên thì để mỗi bên riêng biệt.
- Chỉ khử calci sau khi đã cố định, chỉ rửa qua dung dịch khử calci trong thời gian ngắn.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

63. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM CHI DƯỚI DO TẮC NGHẼN MẠCH MÁU (cắt cụt chi)

I. NGUYÊN TẮC

Phải lấy được mạch, thần kinh chi nguyên vẹn cũng như lấy toàn bộ các vùng tổn thương khác (loét, hoại tử...).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem hủy.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Lấy bó mạch thần kinh đùi, khoeo, chày sau và các mạch máu:
 - + Đặt chi trên bàn cắt lọc, mặt sau chi quay lên trên. Phẫu tích sẽ nhanh hơn nếu có một người phụ giữ bệnh phẩm và giúp thu gọn các vật mô.
 - + Rạch da đường dọc giữa phía trên vùng khoeo và 2/3 trên của vùng chày sau.
 - + Rạch chéo trên da từ đầu dưới của đường rạch đầu tiên cho đến 2cm phía dưới bờ dưới của mắt cá trong.
 - + Dùng dao mổ cắt xuyên qua mô dưới da và cân bề mặt của toàn bộ đường rạch da.
 - + Trong vùng sau đùi và khoeo, bóc tách phần bán gân, bán màng và đầu trong của cơ bụng chân ra khỏi cơ nhị đầu đùi và đầu bên của cơ bụng chân. Quy trình chuẩn bị này sẽ bộc lộ thần kinh tọa và thần kinh chày sau và các mạch máu đùi và khoeo (thường mạch máu có chỉ thắt/buộc).
 - + Cắt sâu thêm lát cắt ở bước 2 và 3 vào vùng chày sau, cắt xuyên qua cơ bụng chân và cơ dẹt và gân gót. Đường cắt này cho thấy phía dưới của vách mạc liên cơ là bó mạch thần kinh chày sau và mạch máu.
 - + Bắt đầu từ đầu tận phía trên của bó mạch, phẫu tích và cắt thần kinh tọa và thần kinh chày sau xuống đến vị trí mà thần kinh chày sau nhập vào mạch máu khoeo.
 - + Bắt đầu từ đầu tận phía trên của bó mạch, phẫu tích và cắt các mạch máu đùi và khoeo xuống đến vị trí mà mạch khoeo nhập vào thần kinh chày sau.
 - + Cắt toàn bộ mạch khoeo và thần kinh chày sau thành một khối.
 - + Tiếp tục lấy toàn bộ bó mạch thần kinh chày sau xuống đến phần thấp nhất của đường rạch da và cắt ngang tại đó. Bó mạch phải được cắt ra cùng với những phần mạch cơ kề cận.
 - + Cuối cùng, lấy các mạch khoeo cùng với các sợi cơ kề cận. Các mạch máu này chủ yếu nằm sau xương mác và màng liên cốt, nằm giữa các sợi cơ của cơ gấp ngón cái dài.
- Lấy bó mạch thần kinh chày trước:
 - + Đặt chi với mặt trước hướng lên trên.
 - + Rạch dọc trên da từ một điểm nằm giữa đầu xương mác và lồi củ xương chày đến điểm nằm giữa đường nối giữa hai mắt cá (xem sơ đồ đi kèm).

+ Bằng dao mổ hoặc dao thường, cắt xuyên qua mô dưới da và mạc nông theo toàn bộ đường rạch.

+ Ở vùng giữa đường rạch, cắt bằng kéo hoặc dao, xuyên qua cơ chày trước xuống đến màng liên cốt. Đường cắt này sẽ làm lộ bó mạch thần kinh chày trước.

+ Tách từng phần những khối cơ ở phần trên và những dây chằng ở phần dưới để làm lộ theo chiều dọc bó mạch thần kinh chày trước.

+ Cắt bằng qua phần thấp nhất của bó mạch thần kinh chày trước. Kéo bó mạch xuống dưới, cắt rời chúng cùng với các cơ kế cận và màng liên cốt. Đầu tận phía trên của bó mạch thần kinh trở nên lỏng lẻo bằng cách kéo mạnh xuống dưới.

- Lấy khối mô với mạch máu mu chân:

+ Đánh dấu một hình chữ nhật chiều rộng 3 - 4cm phía trên mặt mu bàn chân, kéo dài từ phần thấp nhất của đường rạch chày trước đến phần gần của khoảng liên cốt thứ nhất.

+ Đi theo các bờ của hình chữ nhật, cắt qua da, mô dưới da, mạc nông, các cơ và dây chằng tại vùng và mạc sâu, cắt sâu xuống đến tận mặt lưng của xương tại vùng.

+ Bằng dao mổ hoặc dao thường, cắt toàn bộ khối mô ra, lấy tất cả mô mềm khỏi xương bên dưới. Các mạch máu nằm ở ngay trong vùng này.

- Lấy khối mô với các mạch máu giữa và bên của bàn chân:

+ Đặt chi mặt sau hướng lên trên

+ Đánh dấu một hình chữ nhật trên lòng bàn chân theo các mốc giải phẫu sau: bờ dưới của mắt cá trong, phía giữa chân, nền của khối xương bàn chân, cạnh bên của chân. Các đường giới hạn ngang cũng có thể được xác định, chia lòng bàn chân thành năm phần.

+ Đi theo các cạnh của hình chữ nhật, cắt xuyên qua da, mô dưới da, cân và mạc lòng bàn chân, các cơ tại vùng và dây chằng, cắt sâu cho đến mặt lòng của xương tại vùng.

+ Với dụng cụ phẫu tích sắc, lấy ra toàn bộ khối mô và bộc lộ toàn bộ phần xương và dây chằng tại vùng.

+ Cắt dọc làm đôi khối mô. Nửa trong đại diện cho khối mô của mạch máu phía trong bàn chân, trong khi nửa ngoài đại diện cho khối mô của mạch bên lòng bàn chân.

+ Lấy mẫu da và mô mềm từ những vùng bị loét, hoại tử hoặc nhiễm trùng và từ xương, nếu có chỉ định. Đến đây, chi có thể được tùy ý sử dụng.

- Cố định tất cả các mô đã cắt trong formol trung tính 10% qua đêm. Các bó mạch thần kinh nên được ghim xuống một tấm ván lie.

- Khi các bó mạch thần kinh được cố định tốt, cứ mỗi 4 - 5 mm cắt ngang, quan sát cẩn thận thành và lòng các mạch máu.

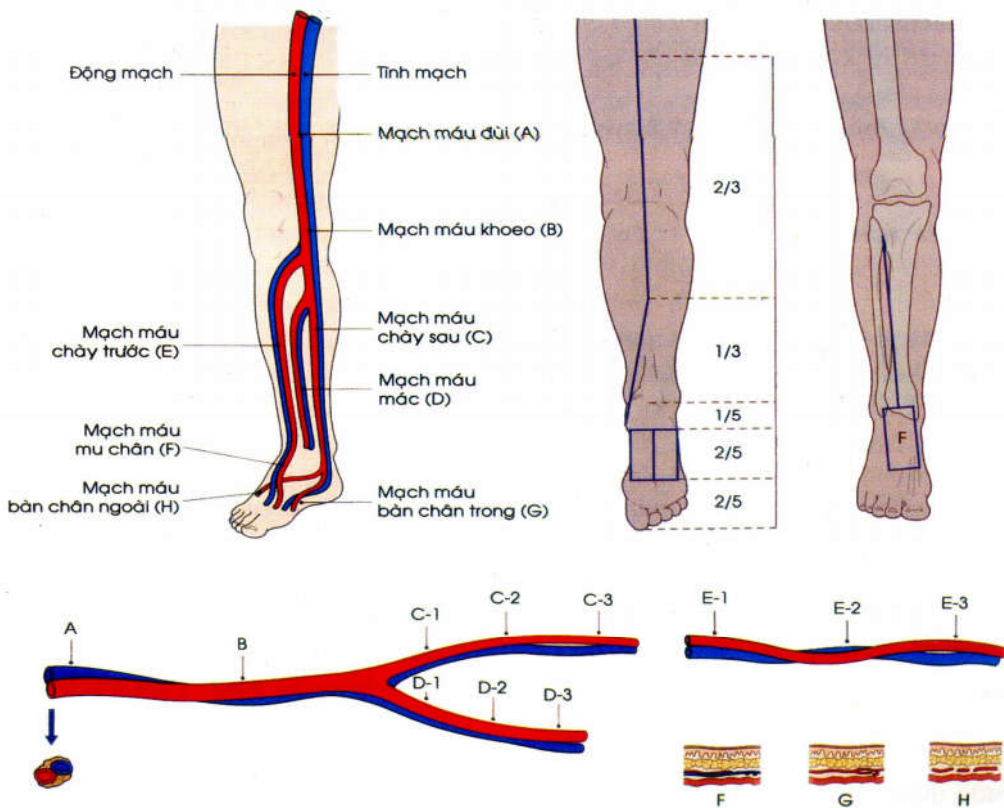
2. Mô tả đại thể

- Loại đoạn chi; chi bên phải hay bên trái, dạng cắt cụt: 1/3 trên hay giữa hay dưới hay tháo khớp.

- Chiều dài và chu vi.
- Hình thái bên ngoài của da: loét (kích thước, mức độ), chảy máu, viêm da ú máu, hoại tử khô... không.
- Mô dưới da: cơ, xương và các khớp.
- Mặt ngoài của các động mạch và tĩnh mạch lớn: xơ vữa động mạch (mức độ), huyết khối không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

- Da.
- Động mạch lớn, tĩnh mạch lớn và thần kinh tùy theo sơ đồ đi kèm hoặc một bản tóm tắt sơ đồ.
- Cơ vân
- Xương và khớp (khi thích hợp).



Hình 27. Phân tích bệnh phẩm chi dưới do tắc mạch máu

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

64. PHẪU TÍCH CẮT BỎ XƯƠNG THÁI DƯƠNG - TAI

I. NGUYÊN TẮC

Bệnh phẩm phẫu tích cắt bỏ một phần hoặc toàn bộ xương thái dương được thực hiện trong trường hợp ung thư ống tai ngoài, tai giữa hay xương chũm. Bệnh phẩm phải đầy đủ để đánh giá tổn thương, sau khi pha cần được cố định ngay trong formol trung tính 10%.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Cưa, dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy chụp ảnh.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh- tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

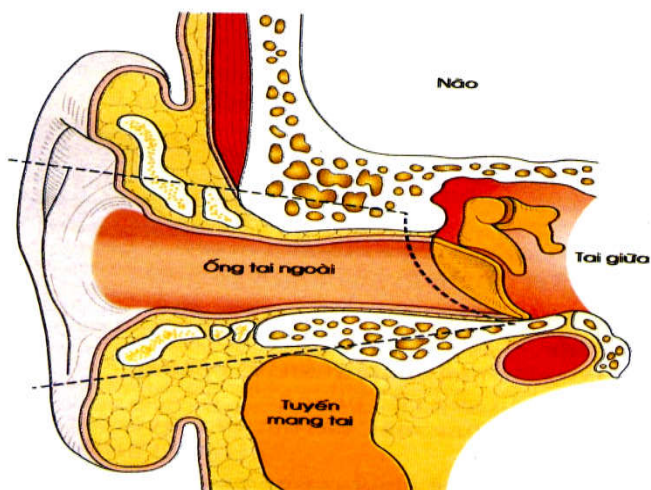
- Xem lại phim X-quang tổn thương trước phẫu thuật (nếu có), chụp ảnh và chụp X-quang bệnh phẩm trước khi phẫu tích (nếu có điều kiện).
- Định hướng bệnh phẩm theo các chiều trước - sau; trên - dưới và trong - ngoài.
- Đánh dấu các bờ bằng mực Tàu.

2. Mô tả đại thể

- Loại phẫu thuật (cắt bán phần hay toàn bộ).
- U: kích thước, đặc điểm, vị trí (tai ngoài, tai giữa, ống tai, nếu ở ống tai, cần ghi rõ u đã xâm lấn đến 1/3 ngoài của sụn hoặc 2/3 trong của xương).
- Vị trí của u trong ống tai: sàn, thành, trần, chu vi, có xâm nhập về phía trước đến tuyến mang tai, có xâm nhập về phía trên đến nền sọ không.
- Tình trạng màng nhĩ.
- Nếu bệnh phẩm có kèm tuyến mang tai, xem tuyến mang tai xem có bị u xâm lấn không.

3. Cắt lọc xét nghiệm vi thể

- Mô u: lấy toàn bộ.
- Lấy bờ diện cắt.
- Tuyến mang tai (nếu có).



Hình 28. Lược đồ giải phẫu tai.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm mềm: tránh dùng kẹp có máu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

65. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM SINH THIẾT CƠ VÂN

I. NGUYÊN TẮC

Tùy theo mục đích xét nghiệm (thường quy, hiển vi điện tử, hóa mô...), mẫu mô cần được cố định trong loại dung dịch cố định phù hợp.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

– Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– *Xét nghiệm mô học thường quy*: căng bệnh phẩm bằng loại kẹp sinh thiết cơ đặc biệt. Nếu nhận được bệnh phẩm tươi, ghim bệnh phẩm vào tấm bảng lie, cố định qua đêm.

– *Xét nghiệm enzym hóa mô*: đông lạnh 1 mảnh nhỏ trong ni tơ lỏng, cắt ngang. Nếu có đủ mẫu mô, làm đông lạnh 1 đoạn, cắt dọc.

– *Xét nghiệm hiển vi điện tử*: xem phần hướng dẫn ở Quy trình 3.

2. Mô tả đại thể

– Kích thước bệnh phẩm.

– Màu sắc và mật độ; có xơ hóa, phù nề, hoại tử không.

3. Cắt lọc bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

– Cắt theo chiều dọc.

– Cắt theo chiều ngang.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

– Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.

– Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

66. PHẪU TÍCH BỆNH PHẨM THAY VAN TIM

I. NGUYÊN TẮC

Theo truyền thống, phẫu thuật thay van tim đòi hỏi cắt bỏ toàn bộ van tim bị bệnh. Tuy nhiên, đối với van hai lá, những năm gần đây có xu hướng chỉ lấy lá trước của van hai lá trong khi thay van và chỉ một phần van (thường là từ lá sau) trong phương pháp tái tạo van. Cần cố định bệnh phẩm trước khi cắt lọc.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Bàn pha bệnh phẩm: phải đủ rộng, chiều cao thích hợp cho tư thế đứng pha bệnh phẩm.
- Dao sắc, kẹp, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Các lọ đựng dung dịch cố định bệnh phẩm (formol đậm trung tính 10%), thể tích dung dịch cố định lớn hơn 20-30 lần thể tích bệnh phẩm cần cố định.
- Khuôn nhựa đựng bệnh phẩm.
- Bút chì mềm, nhãn giấy ghi tên, tuổi người bệnh, mã số xét nghiệm, mô xét nghiệm...
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.
- Bình có chứa dung dịch cố định để lưu bệnh phẩm.
- Dụng cụ có nắp kín để đựng các bệnh phẩm đã pha còn dư để đem huỷ.
- Máy ảnh.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được cố định ngay (không quá 30 phút kể từ khi bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể) trong formol trung đậm tính 10%, do các khoa, phòng lâm sàng gửi tới.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Cố định bệnh phẩm trước khi cắt lọc.
- Chụp hình hoặc sao chép lại và chụp X-quang cho mỗi trường hợp. Đối với van nhĩ - thất, chụp hình cả hai mặt nhĩ và mặt thất. Đối với van động mạch chủ, chụp hình cả hai mặt động mạch chủ và mặt thất.

2. Mô tả đại thể

2.1. Van nhĩ thất

- Kích thước vòng van, đường kính lỗ van, lá van bị xơ, sùi loét, bị vôi hoá hoặc bình thường?
- Xơ hoá hoặc calci hoá, lan tỏa hay khu trú.
- Xơ hoá hoặc calci hoá phân bố trên lá van? (chỉ ở rìa của van hay trên một bề mặt van hoặc trên cả hai mặt van).
- Lá van không cử động, bị ngắn lại, bị kéo dài ra hoặc bình thường không.
- Mép van bị dính lại không (nếu có, phạm vi bị dính).
- Dây chằng không bị ảnh hưởng hay bị vỡ, bị rút ngắn, bị kéo dài, bị dính hoặc bình thường không.
- Các cột cơ bình thường, thành sẹo phì đại hoặc bị kéo dài ra không
- Van mất chức năng, hẹp hoặc cả hai.
- Nếu van mất chức năng: là do mô van quá ít, vòng van dẫn, hoặc dây chằng bị vỡ hoặc là do cột cơ bị vỡ, bị sẹo hoặc bị rút ngắn.

2.2. Van bán nguyệt

Tương tự như đối với van nhĩ thất, thêm:

- Số lượng lá van.
- Lá van có kích thước bằng nhau hoặc không bằng nhau.

3. Cắt bệnh phẩm làm xét nghiệm mô bệnh học

Nhiều lát cắt bao gồm bờ tự do; khử calci nếu cần thiết.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm không sót tổn thương, cố định đúng quy định.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần luôn nhớ nếu bệnh phẩm không được cố định ngay sau khi lấy ra khỏi cơ thể hoặc cố định không đúng cách sẽ bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Bệnh phẩm nhỏ, mềm: tránh dùng kẹp có mấu kẹp chặt làm nát bệnh phẩm.
- Bệnh phẩm của lần pha trước dính lại trên dụng cụ và dính vào bệnh phẩm sau: thớt pha bệnh phẩm, dụng cụ pha phải rửa sạch trước khi pha từng bệnh phẩm.

PHẦN II

CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CỐ ĐỊNH, CHUYỂN ĐÚC, CẮT MẢNH BỆNH PHẨM

67. CỐ ĐỊNH BỆNH PHẨM BẰNG FORMOL ĐỆM TRUNG TÍNH

I. NGUYÊN TẮC

Cố định là làm bất động những cấu trúc của mô cũng như tế bào nhưng vẫn giữ tới mức tối đa hình thái của chúng giống như khi còn sống. Trừ khi cần nhuộm tươi hay cần nghiên cứu về enzym, nuôi cấy tế bào... nói chung, mọi bệnh phẩm cần cố định ngay khi lấy ra khỏi cơ thể. Phải luôn nhớ, cố định tồi sẽ làm giảm chất lượng xét nghiệm và cố định hỏng bệnh phẩm là không thể sửa chữa được. Nồng độ formol thích hợp là 4-10%, không kết tủa protein nhưng cố định hoàn toàn các gel gelatin bằng cách làm cho chúng không hoà tan, cố định các lipid phức tạp kể cả ty lạp thể (mitochondrion) và bộ Golgi, tuy không tác dụng trực tiếp lên lipid, nhưng vẫn bảo toàn được chúng. Tốc độ xuyên thấm nhanh, khoảng 0,7-0,8mm/giờ. Không làm co nhưng làm cứng mạnh mô. Cấu trúc tế bào bảo toàn tốt. Làm tăng tính kiềm khi nhuộm mô. Hơi formol độc nên cần đậy kín và cố định xong phải rửa nước chảy đến 3 giờ trước khi thực hiện các bước tiếp theo.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định bệnh phẩm: formol đệm trung tính 10%.
- Các lọ thủy tinh có dung tích 50-300ml để cố định các bệnh phẩm đã phẫu tích.
- Bình thủy tinh có dung tích lớn (1000-3000ml), có nắp đậy để cố định các bệnh phẩm lớn, chưa phẫu tích.
- Cốc đong thủy tinh có chia ml.
- Phễu thủy tinh.
- Kẹp không máu gắp bệnh phẩm.
- Nhãn ghi mã số bệnh phẩm, mô u.
- Bút chì mềm để ghi mã số bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm tươi (hoặc không để quá 30 phút sau khi lấy ra khỏi cơ thể), đã được phẫu tích để xét nghiệm mô bệnh học hoặc chưa phẫu tích.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Pha dung dịch formol đậm trung tính 10%
- + Formaldehit 37-40% 100ml
- + Nước cất 2 lần 900ml
- + Sodium phosphat monobasic (NaH_2PO_4) 4gram
- + Sodium phosphate dibasic anhydrous (NaH_2PO_4 khan) 6,5gram

2. Các bước thực hiện

- Pha bệnh phẩm thành các mẫu nhỏ, dày 5mm có thể để vừa trong khuôn nhựa chuyên bệnh phẩm.
- Thả ngay bệnh phẩm tươi vừa pha vào trong lọ đã có dung dịch formol đậm trung tính 10%, không để bệnh phẩm dính vào thành lọ. Lượng dung dịch cố định phải nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm.
- Thời gian cố định 4- 12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ nhưng không dưới 4 giờ hay nhiều hơn 12 giờ.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm được cố định tốt, không “sống” nhưng cũng không quá mức (bệnh phẩm bị cứng).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Nồng độ formol < 10% sẽ làm bệnh phẩm sống, mô bị hoại tử do đó phải thay dung dịch cố định mới.
- Bệnh phẩm dính thành lọ khi cố định: bỏ bệnh phẩm vào lọ cố định khi trong lọ đã chứa dung dịch cố định, lắc nhẹ cho bệnh phẩm không bị dính.
- Nồng độ formol quá cao sẽ làm bệnh phẩm cứng, không khắc phục được.
- Cố định không đúng, bệnh phẩm bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Để lâu, dung dịch cố định bị oxy hoá có màu trắng sữa, nên cho một ít vôi vào đáy bình đựng formol và lọc trước khi dùng.

68. CỐ ĐỊNH BỆNH PHẨM BẰNG DUNG DỊCH BOUIN

I. NGUYÊN TẮC

Cố định là làm bất động những cấu trúc của mô cũng như của tế bào nhưng vẫn tôn trọng tới mức tối đa hình thái của chúng. Trừ khi cần nhuộm tươi hay cần nghiên cứu về enzym, nuôi cấy tế bào..., mọi bệnh phẩm cần cố định ngay khi lấy ra khỏi cơ thể. Phải luôn nhớ, cố định tồi sẽ làm giảm chất lượng xét nghiệm và cố định hỏng là không thể sửa chữa được. Hơi formol có trong dung dịch Bouin độc nên cần đậy kín và cố định xong phải rửa nước chảy đến 3 giờ. Bệnh phẩm sau cố định có màu vàng nên dễ nhận biết. Bởi vậy, cố định trong dung dịch Bouin thường dùng cho các mảnh bệnh phẩm nhỏ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định Bouin.
- Các lọ thủy tinh có dung tích 50-300ml để cố định các bệnh phẩm đã phẫu tích.
- Cốc đong thủy tinh có chia ml.
- Phễu thủy tinh.
- Kẹp không máu gấp bệnh phẩm.
- Nhãn ghi mã số bệnh phẩm, mô u.
- Bút chì mềm để ghi nhãn bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm tươi hoặc vừa được phẫu tích (không quá 30 phút sau khi lấy ra khỏi cơ thể) để xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Pha dung dịch Bouin:

+ Dung dịch nước bão hoà acid picric	75ml
+ Focmaldehit 37-40%	100ml
+ Acid acetic lạnh nguyên chất	5ml

2. Các bước thực hiện

- Phẫu tích bệnh phẩm thành các mẫu nhỏ, dày 5mm có thể để vừa trong khuôn nhựa chuyên bệnh phẩm.
- Thả ngay bệnh phẩm tươi vừa pha vào trong lọ đã có dung dịch Bouin, không để bệnh phẩm dính vào thành lọ. Lượng dung dịch cố định phải nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm.
- Thời gian cố định 4 - 12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ nhưng không dưới 4 giờ hay nhiều hơn 12 giờ.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm được cố định tốt, không “sống”, có màu vàng nhạt, nhưng cũng không quá mức (bệnh phẩm bị cứng).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Bệnh phẩm dính thành lọ khi cố định: bỏ bệnh phẩm vào lọ cố định khi trong lọ đã chứa dung dịch cố định, lắc nhẹ cho bệnh phẩm không bị dính.
- Cố định không đúng, bệnh phẩm bị hoại tử là không thể sửa chữa được.

69. CỐ ĐỊNH BỆNH PHẨM BẰNG DUNG DỊCH GENDRE

I. NGUYÊN TẮC

Cố định là làm bất động những cấu trúc của mô cũng như của tế bào nhưng vẫn tôn trọng tới mức tối đa hình thái của chúng. Thường dùng dung dịch Gendre trong các trường hợp nhuộm glycogen.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định Gendre.
- Các lọ thủy tinh có dung tích 50-300ml để cố định các bệnh phẩm đã phẫu tích.
- Cốc đong thủy tinh có chia ml.
- Phễu thủy tinh.
- Kẹp không máu gấp bệnh phẩm.
- Nhãn ghi mã số bệnh phẩm, mô u.
- Bút chì mềm để ghi nhãn bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Các bệnh phẩm đã phẫu tích để tìm glycogen.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

Pha dung dịch Gendre:

- Cồn 95 độ bão hoà acid picric 80ml
- Formandehit 37-40% 15ml
- Acid axetic lạnh nguyên chất 5ml

2. Các bước thực hiện

- Phần tích bệnh phẩm thành các mẫu nhỏ, dày 5mm có thể để vừa trong khuôn nhựa chuyên bệnh phẩm.

- Thả ngay bệnh phẩm tươi vừa pha vào trong lọ đã có dung dịch Gendre, không để bệnh phẩm dính vào thành lọ. Lượng dung dịch cố định phải nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm.

- Thời gian cố định 4 giờ.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm được cố định tốt, không “sông” nhưng cũng không quá mức (bệnh phẩm bị cứng), bảo toàn được glycogen trong các tế bào.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cố định không đúng, bệnh phẩm bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Cố định không đúng loại dung dịch sẽ không thể khắc phục được.

70. CỐ ĐỊNH BỆNH PHẨM BẰNG DUNG DỊCH ELFTMAN

I. NGUYÊN TẮC

Cố định là làm bất động những cấu trúc của mô cũng như của tế bào nhưng vẫn tôn trọng tới mức tối đa hình thái của chúng. Thường dùng dung dịch Elftman trong các trường hợp nhuộm lipid.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định Elftman.
- Các lọ thủy tinh có dung tích 50-300ml để cố định các bệnh phẩm đã phẫu tích.
- Kẹp không máu gấp bệnh phẩm.
- Cốc đong thủy tinh có chia ml.
- Phễu thủy tinh.
- Nhãn ghi mã số bệnh phẩm, mô u.
- Bút chì mềm để ghi nhãn bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm đã phẫu tích chuẩn bị sẵn sàng cho việc cố định.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

Pha dung dịch Elftman:

- Chlorid thủy ngân 5g
- Dichromat Kali ($K_2Cr_2O_7$) 2,5g
- Nước cất 100ml

Dung dịch pha để trên 3 ngày ở nhiệt độ phòng rồi mới sử dụng.

2. Các bước thực hiện

- Pha bệnh phẩm thành các mẫu nhỏ, dày 5mm có thể để vừa trong khuôn nhựa chuyên bệnh phẩm.

- Thả ngay bệnh phẩm tươi vừa pha vào trong lọ đã có dung dịch Elftman, không để bệnh phẩm dính vào thành lọ. Lượng dung dịch cố định phải nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm.

- Thời gian cố định 4 - 12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ, nhưng không dưới 4 giờ hay nhiều hơn 12 giờ.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm được cố định tốt, không “sống” nhưng cũng không quá mức (bệnh phẩm bị cứng), bảo toàn được lipid.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cố định không đúng, bệnh phẩm bị hoại tử là không thể sửa chữa được.
- Cố định không đúng loại dung dịch sẽ không thể khắc phục được.

71. KHỬ CALCI CÁC BỆNH PHẪM XƯƠNG

I. NGUYÊN TẮC

Các bệnh phẩm xương rất cứng, cần loại bỏ các muối calci không hòa tan (khử calci) mới cắt mảnh được và đồng thời bảo toàn được cấu trúc, tính chất bắt màu của tế bào và mô. Để khử calci, bệnh phẩm cần được cắt nhỏ thành các lát mỏng. Mỗi gam xương cần 20-30ml dung dịch khử calci, lắc đều dung dịch trong thời gian khử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch formaldehit 37-40%.
- Nước cất.
- HNO₃ đậm đặc.
- Acid formic nguyên chất.
- Acid chlohydric.
- EDTA (Ethylen diamine tetra acetic acid)
- Các lọ thủy tinh có dung tích 500-1000ml để đựng xương cần khử calci
- Kẹp gấp bệnh phẩm.
- Cưa nhỏ.
- Cốc đong thủy tinh có chia ml.
- Phễu thủy tinh.
- Nhãn ghi mã số bệnh phẩm, mô u.
- Bút chì mềm để ghi nhãn bệnh phẩm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Các mảnh xương đã được cưa nhỏ để khử calci.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ khử calci.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Pha dung dịch khử calci với fomandehit - acid nitric (xương cứng, giàu calci)

+ Formandehit 37-40%	10ml
+ Nước cất	80ml
+ HNO ₃ đậm đặc	10ml
- Pha dung dịch khử calci với HCl (xương có độ cứng trung bình, thời gian khử từ 2-3 ngày).

+ Acid formic nguyên chất	4ml
+ HCl	4ml
+ Nước cất vừa đủ	100ml
- Dung dịch khử xương EDTA đối với xương mềm, tủy xương.

+ EDTA	5,5g
+ Nước cất	90ml
+ Formandehit	10ml

2. Các bước thực hiện

- Xương đã được cố định trong formol đậm trung tính 10% trong 12-24 giờ trước khi cắt.
- Dùng cưa nhỏ, răng sắc, cắt xương thành các mảnh có kích thước 5mm.
- Thả các mảnh bệnh phẩm xương vừa cắt vào trong lọ đã có dung dịch khử calci, thay dung dịch khử hàng ngày.
- Kiểm tra mỗi ngày bằng cách đặt miếng xương đã khử lên thớt lie, dùng kim có đầu nhỏ và nhọn xuyên qua xương, nếu xuyên qua dễ dàng thì việc khử đã hoàn thành.
- Sau khi khử xương xong, phải rửa kỹ bệnh phẩm trong nước 24 giờ để loại acid.
- Cố định bệnh phẩm xương đã khử trong formol đậm trung tính 10% từ 10-24 giờ trước khi thực hiện các bước tiếp theo trong quy trình làm tiêu bản mô bệnh học.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm khử xương đạt yêu cầu nếu dùng kim xuyên qua dễ dàng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Dung dịch khử xương không chuẩn, thời gian khử rất lâu, khắc phục bằng cách thay dung dịch khử xương mới.
- Nồng độ acid quá cao sẽ gây thoái hóa các mô không phải xương và xương; tình trạng này không sửa chữa được.
- Tùy theo kích thước mảnh xương cần khử mà thời gian khử thay đổi.
- Nhiệt độ cao sẽ làm thời gian khử xương nhanh hơn và ngược lại. Tuy nhiên, chỉ được khử xương ở nhiệt độ phòng vì nhiệt độ cao làm tổn thương mô.

72. KỸ THUẬT CHUYÊN BỆNH PHẨM BẰNG TAY

I. NGUYÊN TẮC

Làm cho bệnh phẩm có thể cắt được trên máy cắt một cách dễ dàng, bảo quản bệnh phẩm được lâu dài mà không làm hư hại tới hình thái, cấu trúc của tế bào và mô.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ parafin có nhiệt độ từ 56°-58°.
- Các khay, hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Parafin chuyên dụng.
- Cồn các loại từ 80°, 90°, 95°, 100° mỗi loại đựng trong một bể riêng.
- Xylen (hoặc toluen) đựng trong 3 bể riêng ghi số từ I-III.
- Parafin lỏng đựng trong 3 bể riêng ghi số từ I-III.
- Giấy bọc bệnh phẩm có ghi mã số bằng bút chì mềm.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm đã được pha và cố định đúng quy cách.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ chuyển.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Chuẩn bị đầy đủ các loại cồn, xylen.
- Lọc parafin, để parafin nóng chảy sẵn trong các bể chứa.

2. Cách tiến hành

Cho bệnh phẩm lần lượt đi qua các loại hóa chất sau:

- Bệnh phẩm < 2mm
 - + Cồn 90° 15 phút
 - + Cồn 95° 15 phút
 - + Cồn 100° (I) 15 phút
 - + Cồn 100° (II) 30 phút
 - + Cồn 100° (III) 30 phút
 - + Toluen (I) 15 phút
 - + Toluen (II) 30 phút
 - + Toluen (III) 30 phút
 - + Parafin (I) 30 phút
 - + Parafin (II) 1 giờ
 - + Parafin (III) 1 giờ
- Bệnh phẩm 5mm ≤ 8mm
 - + Cồn 80° 2 giờ
 - + Cồn 90° 6 giờ
 - + Cồn 95° 8 giờ
 - + Cồn 100° (I) 4 giờ
 - + Cồn 100° (II) 6 giờ
 - + Cồn 100° (III) 8 giờ
 - + Toluen (I) 4 giờ
 - + Toluen (II) 8 giờ
 - + Toluen (III) 8 giờ
 - + Parafin (I) 4 giờ
 - + Parafin (II) 6 giờ
 - + Parafin (III) 10 giờ

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm đã được vùi đầy đủ trong parafin để sẵn sàng cho đúc bệnh phẩm.

73. KỸ THUẬT CHUYỂN BỆNH PHẨM BẰNG MÁY

I. NGUYÊN TẮC

Làm cho bệnh phẩm có thể cắt được ở máy cắt một cách dễ dàng, bảo quản bệnh phẩm được lâu dài mà không làm hư hại tới hình thái, cấu trúc của tế bào và mô.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ parafin có nhiệt độ từ 56^o-58^o.
- Các khay, hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Cồn 80^o, 95^o, 100^o.
- Xylen (hoặc toluen).
- Parafin lỏng.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động đã cài đặt phần mềm cho việc chuyển bệnh phẩm.
- Giấy bọc bệnh phẩm có ghi mã số bằng bút chì mềm.
- Túi giấy lọc đựng bệnh phẩm nhỏ/nát.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm đã được pha và cố định đúng quy cách.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.

- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.

- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

– Chuẩn bị đầy đủ các loại cồn, xylen (hoặc toluen), parafin nóng chảy sẵn trong các bể chứa của máy.

– Bệnh phẩm trong các khuôn nhựa đã đóng nắp cẩn thận, đúng mã số. Các bệnh phẩm nát, vụn phải đựng trong các túi lọc.

– Kiểm tra nguồn điện, các quy tắc an toàn vận hành thiết bị, bật nguồn.

2. Các bước tiến hành

2.1. Các bệnh phẩm nhỏ

– Thời gian cố định tối thiểu là 3 giờ.

– Rửa nhẹ trong nước chảy.

– Cồn 80° x 10 phút.

– Cồn 95° x 3 lần x 15-20 phút/lần.

– Cồn 100° x 3 lần/15 phút/lần.

– Cồn 100/xylen tỷ lệ 1/1 x 15 phút.

– Parafin x 3 lần x 15 phút/lần.

– Parafin trong hút chân không 15-20 phút. Nếu không có hút chân không thì tăng mỗi lần 5 phút.

2.2. Các mô thông thường khác

– Cồn 80 độ x 1 giờ.

– Cồn 95 độ x 3 lần x 1 giờ/lần.

– Cồn 100 độ x 3 lần x 1 giờ/lần.

– Xylen x 3 lần x 1 giờ/lần.

– Parafin x 3 lần x 1 giờ/lần.

– Parafin trong hút chân không 1 giờ.

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm đã được vùi đầy đủ trong parafin để sẵn sàng cho đúc bệnh phẩm.

74. KỸ THUẬT VÙI PARAFIN

I. NGUYÊN TẮC

Cố định mới chỉ giết chết tế bào và giữ cho các thành phần của chúng được bất động ở trạng thái tĩnh. Nếu đem cắt ngay thành các lát cắt mỏng, mối liên quan giữa các tế bào cũng như cấu trúc mô bị biến đổi, thậm chí đảo lộn do tác động cơ học. Giải quyết vấn đề này cần có một chất làm nền cho bệnh phẩm, có tác dụng như một khuôn giữ vững bệnh phẩm, đồng thời thâm nhập được vào bên trong tế bào, giữ cho các tế bào yên vị khi cắt mảnh. Đây chính là nguyên lý của vùi bệnh phẩm. Chất vùi bệnh phẩm phải đạt các yêu cầu sau: mềm, dễ ngâm, dễ cắt, nhiệt độ nóng chảy thấp, dễ loại bỏ. Parafin là chất thỏa mãn tất cả các yêu cầu trên. Hiện có nhiều loại parafin với các điểm nóng chảy khác nhau nhưng loại phù hợp nhất với kỹ thuật mô bệnh học là loại có độ nóng chảy từ 56°-58°. Nếu nhiệt độ nóng chảy cao sẽ phải chỉnh nhiệt độ của tủ parafin lên cao, do vậy, làm bệnh phẩm quá chín sẽ khó cắt và bắt thuốc nhuộm tồi. Người ta còn cho thêm vào parafin một số chất phụ gia để tăng chất lượng của nó như: histoplast, paraplast..

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ parafin có nhiệt độ từ 56°-58°.
- Các khay, hộp thép không rỉ đựng parafin.
- Parafin, sáp.
- Cồn 90°-100°.
- Xylen hay Toluen.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Do các khoa/phòng lâm sàng gửi tới, đã được pha thành các mảnh và đã cố định đủ thời gian.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.

- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.
- Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- + Bệnh phẩm đã pha và cố định từ 4-12 giờ.
- + Các hóa chất.
- + Cồn 90°.
- + Cồn 95°.
- + Cồn 100° (I), Cồn 100° (II), Cồn 100° (III).
- + Toluen (I), Toluen (II), Toluen (III).
- + Parafin (I), Parafin (II), Parafin (III).

2. Các bước tiến hành

- Khử nước
- + Parafin không tan trong nước nên không thể ngâm vào bệnh phẩm nếu còn nước. Chất để khử nước trong bệnh phẩm hay dùng nhất là cồn etylic.
- + Lượng cồn để khử nước gấp 10 lần thể tích bệnh phẩm với 4 lần ngâm.
- + Thời gian khử nước 4 giờ cho mỗi nồng độ cồn.
- Tắm dung môi trung gian của parafin (khử cồn)
- + Ngâm bệnh phẩm trong toluen hoặc xylen 180 phút.
- Tắm parafin (khử xylen)
- + Chuyển bệnh phẩm qua 2-3 lần parafin.
- + Thời gian chuyển trong parafin khoảng 180 phút

IV. KẾT QUẢ

Bệnh phẩm ngâm đều parafin trong, bóng để chuẩn bị cho quá trình đúc khối parafin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Vùi không đúng quy cách, bệnh phẩm ngâm parafin không đều, khi cắt sẽ gây rách mô.

75. KỸ THUẬT ĐÚC KHỐI PARAFIN

I. NGUYÊN TẮC

Đúc khối là làm cho parafin ở xung quanh cũng như ở bên trong bệnh phẩm đặc lại thành một khối thuần nhất. Để đạt được điều này, người ta dùng những khuôn bằng kim loại để dẫn nhiệt và nước lạnh có đá. Đúc bệnh phẩm phải thao tác nhanh sao cho nhiệt độ của parafin và bệnh phẩm không chênh lệch nhiều. Nếu nhiệt độ parafin hay bệnh phẩm quá chênh lệch, sẽ tạo ra một viền trắng quanh bệnh phẩm, khi khối parafin nguội hay khi cắt, bệnh phẩm có thể bật ra khỏi khối. Mặt khác, bệnh phẩm phải được đặt đúng hướng để các mảnh cắt có đầy đủ các thành phần của mô cần khảo sát.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ parafin có nhiệt độ từ 56°-58°.
- Các khay, hộp thép không rỉ đựng parafin.
- Parafin chuyên dụng.
- Khuôn nhựa ghi mã Người bệnh hoặc giấy ghi mã Người bệnh bằng bút chì mềm.
- Dụng cụ làm lạnh (khay đá hoặc bàn làm lạnh bằng điện).
- Khuôn đúc kim loại bằng thép không rỉ.
- Găng tay, khẩu trang, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Vòi nước chảy, các dụng cụ và thuốc tẩy trùng để làm sạch dụng cụ.

3. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm đã được pha, được cố định và vùi trong parafin đúng quy cách.

4. Phiếu xét nghiệm

- Có đầy đủ thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, địa chỉ, điện thoại), khoa phòng yêu cầu xét nghiệm.
- Có ghi đầy đủ chẩn đoán lâm sàng, bao gồm các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Có ghi rõ yêu cầu xét nghiệm, tên bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Ghi ngày giờ lấy bệnh phẩm, ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, có hay không có cố định bệnh phẩm sơ bộ, loại dung dịch cố định.

– Có phần mô tả đại thể, số lượng bệnh phẩm lấy xét nghiệm, vùng lấy bệnh phẩm, loại mô xét nghiệm...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Bệnh phẩm đã vùi trong parafin đủ thời gian.
- Sắp khuôn kim loại trên mặt phẳng (nếu đúc bằng tay).
- Khuôn kim loại bằng thép không rỉ đặt trong ngăn nóng, khuôn nhựa, bàn làm lạnh hoặc khay đá lạnh (nếu đúc bằng máy).

2. Cách tiến hành

- Đặt khuôn bằng kim loại trên mặt phẳng, rót parafin nóng chảy vào khuôn hoặc đặt khuôn dưới vòi rót parafin (nếu đúc bằng máy), rót parafin vào khuôn.
- Đặt bệnh phẩm vào khuôn theo mặt phẳng đúng yêu cầu (bệnh phẩm sát mặt đáy, định hướng đúng chiều bệnh phẩm). Gắn khuôn nhựa lên trên.
- Để nguội và dỡ khuôn hoặc chuyển sang bàn làm lạnh.

Lưu ý: người ta chọn mặt phẳng cắt là mặt đáy. Với các bệnh phẩm quá nhỏ, có thể dùng kính lúp để nhặt và đặt bệnh phẩm hoặc nhuộm bệnh phẩm với eosin 1% cho dễ nhận biết.

IV. KẾT QUẢ

- Khối parafin sau đúc phải đạt độ cứng đồng đều, không có viền trắng quanh bệnh phẩm, không có các khoảng trống giữa bệnh phẩm và parafin.
- Bệnh phẩm đặt đúng chiều.
- Mặt diện cắt phẳng đều, không hở bệnh phẩm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Nếu có viền trắng quanh bệnh phẩm, phải tiến hành đúc lại.
- Bệnh phẩm đặt không phẳng, không đúng chiều: phải để tan paraffin và đặt lại bệnh phẩm, đúc lại.

76. KỸ THUẬT CẮT MẢNH BỆNH PHẨM CHUYÊN ĐÚC TRONG PARAFIN

I. NGUYÊN TẮC

Chỉ có thể quan sát chi tiết hình thái tế bào và mô dưới kính hiển vi quang học sau khi nhuộm màu, nếu các mảnh bệnh phẩm có độ dày $< 5\mu\text{m}$. Vì vậy, với các mảnh bệnh phẩm có độ dày 5-10 mm trong các khối parafin, phải tiến hành cắt các bệnh phẩm này thành các mảnh cắt có độ dày từ 3-4 μm bằng máy (dao) cắt lát mỏng chuyên dụng để có thể tiến hành các công đoạn kỹ thuật tiếp theo.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02 người.

2. Phương tiện, hóa chất

- Lưỡi dao cắt: thường là loại dùng 1 lần, có 2 loại khác nhau:
- + Lưỡi dao vát 35° dùng cho các mảnh cắt thông thường, kể cả mô xương.
- + Lưỡi dao vát 22° dùng cho các mảnh cắt cần rất mỏng (0,5-1 μm).
- Máy cắt lát mỏng: cần kiểm tra các ốc vít và tra dầu bôi trơn.
- Que tãi bệnh phẩm.
- Phiến kính sạch.
- Dung dịch albumin.
- Bút viết kính.
- Bể nước dần bệnh phẩm ở 50° - 60°C (bể chuyên dụng hoặc có thể sử dụng nồi nấu lẫu để ở mức nhiệt thấp nhất).
- Phòng cắt: nhiệt độ phòng cắt khoảng 25° , cần có máy điều hoà nhiệt độ.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị dung dịch albumin

1.1. Albumin dự trữ

- Lòng trắng trứng: 1 thể tích.
- Glycerin nguyên chất: 1 thể tích
- Thy mol: 1 vài tinh thể (chống thối rữa)

Khuấy đều cho tới khi lòng trắng trứng và glycerin hòa tan hoàn toàn. Lọc và bảo quản ở 4⁰C trong lọ nút kín.

1.2. Albumin khi dùng

- Albumin dự trữ: 2ml
 - Nước cất: 98ml
- Trộn đều và dùng, không để nóng > 50⁰C.

1.3. Albumin dạng hạt bán sẵn

Pha với nước cất ở nồng độ không quá 2%. Pha đủ dùng để tránh lãng phí vì khi dùng không hết phải bỏ đi.

2. Các bước tiến hành

- Gá khối parafin lên máy cắt, vặn chặt để không bị bong bật khi cắt.
- Lắp dao lên máy cắt, chỉnh độ nghiêng của lưỡi dao khoảng 45⁰.
- Điều chỉnh độ dày, mỏng của mảnh cắt theo ý muốn.
- Quay vô lăng đều, nhẹ nhàng, loại bỏ những lát cắt đầu tiên (cắt phá). *Lưu ý:* khi cắt phá, nên sử dụng dao cắt ở phần ngoài, đến khi cắt lấy bệnh phẩm để nhuộm sẽ dùng phần dao ở giữa (không dùng lưỡi dao ở phần cắt phá).
- Chỉnh độ dày lát cắt khoảng 3-4 μ , dịch chuyển lưới dao về vị trí trung tâm. Lấy các lát cắt đạt tiêu chuẩn (mỏng đều, không rách, không xước, không nhăn và lấy hết mặt bệnh phẩm).
- Dùng que tải, đưa nhẹ nhàng các lát cắt vào phiến kính (có mã số của bệnh phẩm) đã nhúng qua albumin, đặt lên bàn hơi hoặc thả các lát cắt vào khay nước ấm, để mảnh cắt dần đều rồi vớt mảnh cắt, đặt lên phiến kính đã phủ albumin.
- Dụng tiêu bản trên giá đựng tiêu bản.
- Đưa tiêu bản vào tủ ấm 37⁰.

IV. KẾT QUẢ

- Bệnh phẩm mỏng đều, không xước, không gấp hoặc bị rách.
- Còn nguyên parafin quanh bệnh phẩm.
- Vị trí của mảnh cắt ở 2/3 phía ngoài của phiến kính.
- Kích thước của mảnh cắt tương đương kích thước thật của bệnh phẩm đã pha.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Mảnh cắt có độ dày không đều nhau do độ nghiêng của lưỡi dao hoặc cố định không chặt.

Khắc phục: kiểm tra lại máy cắt, bộ phận điều chỉnh độ dày hoặc tăng độ nghiêng lưỡi dao.

– Diện cắt của mảnh cắt không đều: nguyên nhân do một bộ phận máy cắt bị rung hay lưỡi dao cố định chưa chặt, do khối cắt cứng.

Xử trí: xem lại các vít đã chặt chưa hoặc thay lưỡi dao phù hợp.

– Các mảnh cắt tích điện và bị tất cả các vật kim loại hút, khó thao tác.

Xử trí: làm ẩm và làm nóng bằng cách hà hơi trên lưỡi dao và mảnh cắt.

– Mảnh cắt cuộn lại, không thẳng do nhiệt độ môi trường quá cao hay parafin quá cứng.

Xử trí: cắt mỏng hơn, giảm độ nghiêng lưỡi dao/áp lạnh khối parafin hay đúc lại parafin mềm hơn.

– Mảnh cắt nhiều vết răng và rách. Nguyên nhân do lưỡi dao cũ, mẻ hoặc có các mảnh vụn bệnh phẩm và bụi trên lưỡi dao.

Khắc phục: sau mỗi lần cắt, lau sạch lưỡi dao. Nếu dao mẻ nhiều, thay lưỡi dao mới.

– Mảnh cắt bị rạn nứt và vỡ vụn thường do độ nghiêng của lưỡi dao lớn quá, quay quá nhanh hay quá chậm.

Khắc phục: giảm độ nghiêng của lưỡi dao, tốc độ quay thích hợp.

– Mảnh cắt long ra và lỏng do vùi parafin nguội, bệnh phẩm và parafin không thành khối đồng nhất.

Khắc phục: đúc lại bệnh phẩm.

77. KỸ THUẬT CẮT LẠNH MẢNH MÔ

I. NGUYÊN TẮC

Là phương pháp xét nghiệm mô bệnh học nhanh, thường được áp dụng trong phẫu thuật. Mặt khác, các lát cắt lạnh còn có thể dùng để nhuộm một số kỹ thuật đặc biệt như nhuộm mỡ... Khi mẫu mô được làm lạnh, nước ở trong mô chuyển thành đá và đóng vai trò như chất trung gian giữ hình dạng (khung) của mô, vì thế mô trở nên cứng và có thể cắt mỏng được.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đang ở trạng thái hoạt động.
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng.
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm.
- Phiến kính, lá kính sạch.
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch.
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm.
- Gel cắt lạnh.
- Cồn tuyệt đối.
- Thuốc nhuộm: các thuốc nhuộm thông thường như Hematoxylin Eosin hoặc xanh Toluidin hoặc Diff-quick... Đối với các mảnh cắt lạnh cần nhuộm đặc biệt, xem thêm phần IV từ mục 98 đến mục 108.

3. Bệnh phẩm

Do phòng mổ hoặc các khoa lâm sàng gửi đến.

4. Phiếu xét nghiệm

Yêu cầu ghi đầy đủ:

- Các thông tin về người bệnh (họ tên, tuổi, giới).

- Khoa, phòng, bác sĩ yêu cầu xét nghiệm.
- Chẩn đoán lâm sàng, các triệu chứng lâm sàng, các kết quả cận lâm sàng khác.
- Loại bệnh phẩm gửi xét nghiệm, phương pháp lấy bệnh phẩm, vị trí, số lượng bệnh phẩm.
- Ngày, giờ lấy bệnh phẩm; ngày giờ chuyển đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Quy trình chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.
- Ghi mã số của người bệnh vào phiến kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

- Bác sĩ giải phẫu bệnh quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.
- Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.
- Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.
- Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát
- Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.
- Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt, nhuộm mảnh mô

- Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).
- Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.
- Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiến kính.



Hình 28. Cắt và dán mảnh mô cắt lạnh

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dán lên phiến kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

– Nhuộm mảnh mô: có nhiều loại thuốc nhuộm khác nhau, mỗi loại có tính chất bắt màu nhân và bào tương khác nhau, tùy thuộc vào kinh nghiệm của từng cơ sở giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học để lựa chọn phương pháp nhuộm phù hợp. Tuy nhiên, vì yêu cầu của cắt lạnh để chẩn đoán nhanh, thời gian nhuộm ngắn, nên thuốc nhuộm thường dùng là xanh Toluidin, Diff-Quick, HE... Thời gian nhuộm từ vài chục giây đến 2 phút.

– Sau khi đã lấy đủ bệnh phẩm cho cắt lạnh, cố định phần bệnh phẩm còn lại sau cắt lạnh (để xử lý, cắt, nhuộm thường quy - đối chiếu với chẩn đoán cắt lạnh và nhuộm đặc biệt nếu cần thiết).

– Vệ sinh dụng cụ, máy cắt lạnh

IV. KẾT QUẢ

Mảnh cắt mỏng, phẳng, không bị nhăn hay gấp, bắt màu thuốc nhuộm rõ và đồng đều, độ tương phản tốt.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ CÁCH XỬ TRÍ

– Mẫu bệnh phẩm bị khô hoặc mềm: thường do nhiệt độ buồng lạnh hoặc thời gian làm lạnh chưa hợp lý: cần điều chỉnh lại cho hợp lý.

– Mảnh cắt bị xước, gấp hoặc rách: thường do lưỡi dao cùn, chổi lông cứng hoặc thao tác không khéo: nên thay lưỡi dao hoặc chổi lông mới, thao tác nhẹ nhàng.

– Lấy chưa trúng và chưa đủ mẫu bệnh phẩm: cần lấy thêm và cắt nhuộm lại.

– Mẫu bệnh phẩm nhiều mô mỡ cần cắt các lát dày hơn (5-10 micromet).

PHẦN III

CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT NHUỘM MẢNH CẮT MÔ TRONG PARAFIN

78. NHUỘM HEMATOXYLIN- EOSIN (HE) CÁC MẢNH CẮT MÔ

I. NGUYÊN TẮC

Đây là phương pháp nhuộm hai màu liên tiếp. Nhuộm nhân theo nguyên tắc tăng dần, nhuộm bào tương theo nguyên tắc giảm dần.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02.

2. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

3. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm: phẩm nhuộm nhân và bào tương có thể mua dạng thương mại, dùng luôn. Nếu không có sản phẩm dùng ngay, có thể pha phẩm nhuộm theo cách thức dưới đây:

– Hematoxylin Harris:

+ Hematoxylin (tinh thể)	1g
+ Cồn (etanol) tuyệt đối	10ml
+ Alun (ammonium hay potassium)	20g
+ Nước cất	200ml
+ Oxyt thủy ngân (đỏ)	0,5g

– Tiến hành pha:

- + Hoà tan hematoxylin trong cồn.
- + Hoà tan alun trong nước cất nóng. Đưa ra khỏi lửa và trộn hai dung dịch với nhau.
- + Đun sôi hỗn hợp, kéo bình đun ra khỏi lửa và thêm vào dần oxyt thủy ngân.
- + Đun nóng lại, khi hỗn hợp có màu tím sẫm, tắt lửa và nhúng ngay bình đun vào nước lạnh.

+ Khi bình đun lạnh hẳn, thêm 2ml acid acetic lạnh để làm tăng tính nhuộm nhân.

– Eosine Y: ở Việt Nam thường pha dung dịch 0,5% trong cồn 95°.

+ L.G. Koss pha theo công thức :

+ Eosine Y (CI. N° 45830)	16g hoặc 1g
+ Dichromat kali	8g hoặc 0,5g
+ Acid picric (nước bão hoà)	160ml hoặc 10ml
+ Cồn etanol 95°	160ml hoặc 10ml
+ Nước cất	1280 ml hoặc 80ml

+ Hoà tan eosin và dichromat kali vào nước cất, đun nóng nếu cần, sau đó thêm dung dịch acid picric, cồn.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

– Cố định: Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

- Chuyển bệnh phẩm.
- Vùi parafin.

- Đúc khối parafin.
- Cắt và dán mảnh cắt.
- Nhuộm.

Thực hiện các bước sau:

- Tẩy parafin trong 3 bể toluen (hoặc xylen), mỗi bể 5 phút.
- Qua 4 bể cồn: 100° - 95° - 80° - 70°, mỗi bể nhúng 15 lần.
- Rửa nước cất: nhúng 15 lần.
- Nhuộm nhân bằng Hematoxylin Harris: 3-5 phút hoặc lâu hơn.
- Rửa nước chảy: 5-10 phút.
- Kiểm tra màu của nhân qua kính hiển vi, nếu đậm, tẩy nhẹ bằng cồn-acid.
- Rửa nước chảy: 1 phút.
- Nhuộm Eosin 1%: 1 -2 phút.
- Rửa nước chảy: 1 phút.
- Biệt hoá trong 2 bể cồn 95° - 100°, mỗi bể 15 lần nhúng.
- Qua 3 bể toluen, bể I và II nhúng 15 lần, bể III: 5-10 phút.
- Gắn lá kính

IV. KẾT QUẢ

Nhân tế bào:	xanh đến xanh đen
Bào tương tế bào:	hồng đến đỏ
Hồng cầu:	hồng đậm
Sợi tạo keo:	hồng nhạt.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Bào tương và nhân đều bắt màu nhạt: thuốc nhuộm cũ, thay thuốc nhuộm mới.
- Nhân nhạt màu: tăng thời gian nhuộm nhân.
- Nhân đậm màu quá mức: tẩy nhẹ bằng cồn-acid.

79. NHUỘM PERIODIC ACID SCHIFF (PAS)

I. NGUYÊN TẮC

Đây là kỹ thuật nhuộm chất nhầy với nguyên lý dùng tác nhân oxy hóa là acid periodic để phá vỡ mối liên kết của 2 nguyên tử các bon (các nhóm glycol 1-2, hydro-1 amino-2, hydroxy-1 alkylamino-2, hydroxyl -1ceto-2...) làm xuất hiện các nhóm aldehyt. Các nhóm aldehyt này nhìn được nhờ phản ứng với thuốc thử Schiff.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở 6.1 dưới đây), bao gồm: thuốc thử Schiff, acid periodic, hemalun Mayer.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt mảnh và dán mảnh

6. Nhuộm tiêu bản

6.1. Chuẩn bị thuốc nhuộm

– Thuốc thử Schiff:

Hòa tan basic fuchsin (hoặc pararosanilin)	1g
với nước cất đun sôi	200ml
Lắc mạnh, để nguội đến 50°C, lọc	
Cho thêm HCl 1N vào dịch đã lọc	20ml
Để nguội tới 25 °C	
Cho thêm sodium (hoặc potassium) metabisunfit	1g

– Acid Periodic:

Acid periodic	1g
Nước cất	100ml

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút.
- Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80°, 70° mỗi bể 2 phút.
- Ngâm trong nước cất: 10 phút.
- Oxy hóa trong acid periodic 1%: 10 phút.

- Rửa nước chảy: 5 – 10 phút rồi cho vào nước cất.
- Ngâm trong thuốc thử Schiff: 15- 30 phút (hoặc thấy có màu hồng là được).
- Nhuộm nhân bằng hemalum Mayer: khoảng 1phút.
- Rửa nước chảy trong 5 phút.
- Đẩy nước bằng cồn 95° và 100°
- Làm trong qua 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính bằng bôm như thường lệ

IV. KẾT QUẢ

- Nhân tế bào: xanh đen
- Nấm, chất nhầy: hồng đậm tới đỏ
- Glycoprotein: đỏ
- Glycogen: đỏ
- Chất nền: màu ve

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Dung dịch (thuốc thử Schiff) đựng trong lọ sạch, đậy nút kín, để ở nhiệt độ phòng tại nơi tối. Sau 24 giờ, nếu dung dịch chuyển thành màu vàng rom là được.

Trong trường hợp dung dịch không chuyển màu, cho thêm 2g than hoạt, lắc nhanh rồi lọc ngay. Bảo quản trong lọ màu, nút kín ở nhiệt độ 4°C. Dung dịch pha này có thể dùng trong vài tháng. Loại bỏ khi dung dịch chuyển thành màu hồng.

80. NHUỘM XANH ALCIAN (theo Mowry, 1960)

I. NGUYÊN TẮC

Đây là kỹ thuật nhuộm xác định các loại chất nhầy khác nhau (loại acid, trung tính hoặc kiềm, thường được áp dụng cho các tổn thương đường tiêu hóa). Nguyên lý dựa vào tính chất thuộc nhuộm cation và hình thành các liên kết với các anion nhất định trong mô mang nhóm carboxyl hoặc nhóm sunfat, tạo nên các liên kết tĩnh điện cation-anion. Gốc photphat của acid nhân không sẵn sàng liên kết với thuốc nhuộm xanh alcian. Có thể nhuộm xanh alcian ở các độ pH khác nhau để phân biệt các chất nhầy acid.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Thuốc nhuộm xanh alcian được pha theo hướng dẫn ở mục 6.1. dưới đây.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc bệnh phẩm

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị thuốc nhuộm

- Pha dung dịch xanh alcian 1% trong acid acetic 3% (pH 2,5)

Xanh alcian	1g
Acid acetic 3%	100ml

Hòa tan xanh alcian trong acid acetic. Lọc trước khi sử dụng.

* Pha dung dịch xanh alcian 1% trong acid hydrochloric 0,1M (pH 1,0)

Xanh alcian	1g
Acid hydrochloric 0,1M	100ml

Hòa tan xanh alcian trong acid hydrochloric. Lọc trước khi sử dụng.

- Pha dung dịch natri carbonat 0,3%
- Natri cacbonat 0,3 g
- Nước cất 100ml

Hòa tan natri carbonat trong nước cất, lắc đều cho đến khi tan hết.

6.2. Tiến hành nhuộm

- Tẩy nền trong toluen 3 lần, mỗi lần 2 phút
- Chuyển vào bể còn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa nước chảy 5 phút
- Đặt trong dung dịch acid acetic 3% trong 2 phút

- Nhuộm trong dung dịch xanh alcian 1%: 30 phút
- Rửa nước chảy 5 phút
- Để trong dung dịch natri carbonat 0,3% trong 30 phút
- Rửa nước chảy 5 phút
- Nhuộm nhân trong Hematoxylin Mayer: 7 phút
- Rửa nước chảy 5 phút
- Loại nước bằng cồn 80°, 95°, 100°.
- Làm trong qua 3 bể toluen.
- Gắn lá kính bằng bôm Canada.

IV. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ

Chất nhầy acid: màu xanh ngọc
 Nhân tế bào: màu xanh nhạt

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

1. Những sai sót và xử trí khi nhuộm nói chung

- Mảnh cắt bị bong, gấp quá nhiều:
 - + Có thể do cố định bệnh phẩm không tốt: không khắc phục được hoặc phải lấy bệnh phẩm mới và làm lại kỹ thuật.
 - + Do cắt quá dày hoặc dán mảnh cắt không tốt: cắt và dán lại mảnh cắt, nhuộm lại.
 - + Mảnh cắt bị rách, nhăn hoặc giãn quá mức: do cắt bị vấp hoặc do dán mảnh cắt quá mức hoặc bàn hơi quá nóng. Cần điều chỉnh nhiệt độ và cắt nhuộm lại nếu cần.
- Nhân tế bào và chất nhầy bắt màu yếu: tăng thời gian nhuộm.
- Nhiều bọt khí, hơi nước trong tiêu bản: gắn lá kính thật nhanh, ngay khi nhấc qua bể toluen, thực hiện kỹ thuật trong phòng khô (có điều hòa, máy hút ẩm, đặc biệt vào những khi thời tiết có độ ẩm cao).
- Mảnh cắt bị khô, bay mất thuốc nhuộm, không đánh giá được: cần phủ kín mảnh cắt bằng lá kính, gắn đủ bôm hoặc chất gắn lá kính.

2. Những sai sót và xử trí khi nhuộm xanh alcian

- Chất nhầy acid không bắt màu: kiểm tra lại để đánh giá chính xác độ pH của thuốc nhuộm.
- Tùy thuộc chất nhầy acid loại nào sẽ bắt màu ở các độ pH 1 hay 2,5, nên phải đánh giá sự bắt màu chất nhầy theo loại mô được nhuộm.

81. NHUỘM MUCICARMIN (MEYER)

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm nhằm phát hiện chất nhầy từ biểu mô.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (50⁰, 70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

- Carmin.
- AlCl_3
- Nước vàng metanil.
- Cồn tuyệt đối hoặc dung dịch sublimat 5%.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể, được cố định ngay trong cồn tuyệt đối hoặc trong dung dịch sublimat 5% trong 5 giờ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm mucicarmin

- Dung dịch dự trữ
 - + Hòa tan 1g carmin và 0,5g AlCl_3 khan trong 2ml nước cất bằng cách hâm nóng nhẹ trong 2 phút, khuấy luôn cho đến khi dung dịch sẫm màu.
 - + Tiếp tục khuấy và cho thêm từ từ 100ml cồn 50°.
 - + Để lắng 24 giờ rồi lọc
- Dung dịch dùng
 - + Pha loãng dung dịch dự trữ 10 lần bằng nước cất hoặc tốt hơn là pha loãng bằng cồn 50-70°.

6.2. Các bước nhuộm

- Loại parafin như thường lệ.
- Nhuộm mảnh cắt trong dung dịch mucicarmin pha loãng từ 10-15 phút hay lâu hơn.
- Rửa nhanh trong nước cất.
- Loại nước bằng cồn 80°, 95°, sau đó là cồn tuyệt đối.
- Làm trong bằng xylen.
- Gắn lá kính bằng bôm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Chất nhầy màu đỏ.

82. NHUỘM GIEMSA TRÊN MẢNH CẮT MÔ PHÁT HIỆN *HELICOBACTER PYLORI*

I. NGUYÊN TẮC

Các vi khuẩn *Helicobacter pylori* bắt màu tím đỏ ở khe tuyến, vùng chất nhày trên bề mặt biểu mô phủ dạ dày.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hốt phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm: hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây:

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 -30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

– Hoàn tan 0,8g Giemsa vào 100ml hỗn dịch glycerol và metanol với khối lượng bằng nhau, lắc đều 2-3 ngày trong bình lắc cơ học.

– Lọc hỗn dịch trên và coi là dung dịch Giemsa mẹ.

– Khi dùng, lấy Giemsa mẹ pha loãng với nước cất, tỷ lệ Giemsa/nước cất là 1/4. Lưu ý là độ pH nên bằng 7,2 và được điều chỉnh bằng đệm photphat.

6.2. Các bước tiến hành

– Mảnh cắt được tẩy nến như thường lệ (qua xylen, cồn).

– Rửa nước

– Nhuộm tiêu bản trong dung dịch Giemsa đã pha loãng trong 1 giờ.

– Rửa nước

– Biệt hóa trong acid acetic loãng (1 giọt acid acetic với 100ml nước cất)

– Rửa nước

– Loại phẩm thừa bằng cồn 95⁰

– Loại nước bằng xylen

– Gán lá kính bằng bôm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Các vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP) bắt màu tím đỏ.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Các mảnh cắt quá dày, không có phần niêm mạc sẽ không phát hiện được HP.
- Dung dịch dán mảnh cắt bị nhiễm khuẩn: sẽ ngộ nhận các vi khuẩn khác với HP, trường hợp này cần thay dung dịch dán mảnh cắt.
- Thời gian nhuộm lâu hoặc nồng độ Giemsa cao đều làm cho mô bắt màu mạnh, chuyển màu xanh đen, khó nhận định kết quả, xử lý bằng cách làm nhạt màu qua cồn.
- Nước dùng để rửa có nhiều cặn bẩn gây cặn bẩn trên tiêu bản, khó đánh giá kết quả, cần sử dụng nguồn nước sạch và sử dụng lõi lọc nếu cần.
- Thuốc nhuộm cũng có thể bị cặn và nhiễm vi khuẩn làm ảnh hưởng đến việc đánh giá kết quả, nên thay thuốc nhuộm mới.
- Dung dịch Giemsa pha loãng chỉ pha trước khi nhuộm.

83. NHUỘM VAN GIESON

I. NGUYÊN TẮC

Trong phẩm nhuộm hỗn hợp chất base và acid, thành phần acid tích điện âm sẽ có ái lực cao với các cấu trúc mô tích điện dương (như các protein tích điện dương của bào tương tế bào), còn phẩm nhuộm base sẽ có ái lực cao với thành phần acid (như nhân tế bào). Nhuộm Van Gieson là kỹ thuật nhuộm 3 màu phối hợp cả phẩm nhuộm base và phẩm nhuộm acid, gồm:

- Nhuộm nhân: Hematoxylin Weignt/ferric trioxyhematein (*phẩm nhuộm base*)
- Nhuộm bào tương: acid picric (*phẩm nhuộm acid*)
- Nhuộm “chọn lọc” sợi tạo keo: acid picro – fuchsin (*phẩm nhuộm acid*).

Cách nhuộm này được coi là có tính chọn lọc nhất đối với sợi tạo keo.

Nhược điểm là nhanh bị phai màu. Để tránh hiện tượng này, người ta phải gắn tiêu bản bằng D.P.X

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- | | |
|--|---|
| - Dung dịch cố định bệnh phẩm. | - Bể nhuộm bằng thủy tinh. |
| - Cồn (70 ⁰ , 80 ⁰ , 95 ⁰ , 100 ⁰). | - Bể thủy tinh đựng cồn, xylen. |
| - Xylen hay toluen. | - Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin. |
| - Nước cất 2 lần. | - Khuôn nhựa. |
| - Parafin. | - Giá đựng tiêu bản (đứng và nằm ngang). |
| - Sáp ong. | - Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml. |
| - Albumin + glycerin. | - Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất. |
| - Máy đo độ pH điện tử. | - Kẹp không máu, kéo. |
| - Máy chuyển bệnh phẩm tự động. | - Cân phân tích. |
| - Máy đúc khối parafin. | - Giấy lọc. |
| - Bàn hơi dùng điện. | - Phiến kính, lá kính. |
| - Máy cắt lát mỏng (microtome). | - Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính. |
| - Lưỡi dao cắt lát mỏng. | - Chất gắn lá kính: D.P.X. |
| - Lò nấu parafin. | |

- Tủ âm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): Hematoxylin Weight, acid picric, acid picro - fuchsin.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

- Dung dịch picro - fuchsin van Gieson

Acid fuchsin	100mg
Acid picric bão hòa trong nước	100ml
HCl đậm đặc (d:1,19)	0,25ml

Nếu muốn màu sắc tương phản rõ hơn, nên sử dụng thêm một loại dung dịch được pha như sau:

- | | |
|--------------------------------|--------|
| Acid picric bão hòa trong nước | 5ml |
| Acid fuchsin | 0,75ml |

Chú ý: dung dịch này chỉ pha trước khi dùng và chỉ sử dụng một lần

- Ferric hematoxylin theo Weight

Dung dịch mẹ gồm dung dịch 1 và dung dịch 2:

Dung dịch 1:

Hematoxylin	1g
Cồn etanol tuyệt đối	100ml

Đề dung dịch chín (ít nhất trong 8 ngày) trước khi dùng.

Dung dịch 2:

Dung dịch nước chlorua ferric 30%	4ml
Nước cất	100ml
Acid chlohydric	1ml

Trộn lẫn dung dịch 1 với dung dịch 2 trước khi nhuộm. Lưu ý, đổ từ từ dung dịch 2 vào dung dịch 1 sẽ dễ trộn hơn (không làm ngược lại). Cuối cùng cho ra dung dịch nhuộm có màu tím - đen. Đề chín (dung dịch 1 cần đề chín 8 ngày trước nhuộm). Thời gian nhuộm từ 20 - 30 phút. Kết quả nhuộm: nhân màu đen (phối màu tốt khi sử dụng trong các phương pháp nhuộm như van Gieson, Lillie,...).

6.2. Tiến hành kỹ thuật

1. Tẩy parafin bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút
2. Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
3. Rửa nhanh trong nước cất
4. Nhuộm nhân bằng dung dịch hematoxylin Weight: 5 – 10 phút
5. Rửa nước chảy: 20 phút
6. Thấm bớt nước bằng giấy lọc rồi nhỏ lên tiêu bản dung dịch micro – fuchsin (van Gieson): 3 – 5 phút
7. Biệt hóa trong 2 bể cồn etanol 95°: mỗi bể 5 lần nhúng
8. Đẩy nước bằng cồn 95° và 100°
9. Làm trong tiêu bản bằng 3 bể toluen sạch
10. Gắn lá kính bằng D.P.X

IV. KẾT QUẢ

Nhân tế bào:	xanh hoặc đen
Bào tương:	vàng
Sợi tạo keo:	đỏ đậm
Cơ vân, cơ trơn:	vàng - nâu nhạt
Biểu mô vảy sừng hóa:	vàng
Chất kính:	vàng

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Acid fuchsin dễ bị tách chiết bằng nước và acid picric lại bị tách chiết bởi cồn. Vì thế, bước rửa nước cần rất nhanh và tốt nhất nên dùng giấy thấm ngay để tránh mất màu của acid fuchsin. Hơn nữa, nên nhuộm nhân bằng hematoxylin sắt tốt hơn là dùng hematoxylin nhôm (alum) vì không bị tách chiết bởi acid picric.

84. NHUỘM BA MÀU CỦA MASSON (1929)

I. NGUYÊN TẮC

Nhiều kỹ thuật nhuộm rất thích hợp cho việc phát hiện thành phần của mô liên kết và được xếp vào nhóm “nhuộm 3 màu”. Thuật ngữ “nhuộm 3 màu” là tên gọi chung cho nhiều kỹ thuật nhằm phát hiện một cách chọn lọc thành phần cơ, sợi tạo keo, sợi tơ huyết và hồng cầu. Một trong 3 loại phẩm nhuộm của kỹ thuật này được dùng để nhuộm nhân tế bào. Các kỹ thuật nhuộm 3 màu gồm: kỹ thuật của Gomori, van Gieson, Masson, MSB cho sợi tơ huyết.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70^0 , 80^0 , 95^0 , 100^0).
- Cồn- acid 1%.
- Iodine, sodium thiosulfat.
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyên bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37^0 và 56^0 .
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.
- Nguồn cấp nước chảy.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1. dưới đây) gồm xanh celestin-hematoxylin, acid fuchsin, acid photphomolybdic, xanh metyl, acid acetic lạnh.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

a. Dung dịch A

Acid fuchsin	0,5g
Acid acetic (rất lạnh)	0,5ml
Nước cất	100ml

b. Dung dịch B

Acid Photphomolybdic	1,0g
Nước cất	100ml

c. Dung dịch C

Xanh metyl	2,0g
Acid acetic rất lạnh	2,5ml
Nước cất	100ml

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút.
- Chuyển vào các bể còn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút.
- Rửa trong nước cất 3 - 5 phút.

- Loại bỏ vết thủy ngân (nếu có) trong mảnh cắt bằng iodine, sau đó bằng sodium thiosunfat.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Nhuộm nhân bằng xanh celestin-hematoxylin.
- Biệt hoá bằng cồn - acid 1%.
- Rửa kỹ dưới vòi nước chảy.
- Nhuộm bằng dung dịch A (acid fuchsin) x 5 phút.
- Rửa bằng nước cất.
- Xử lý bằng dung dịch B (acid photphomolybdic) x 5 phút.
- Làm ráo nước.
- Nhuộm bằng dung dịch C (xanh metyl) x 2-5 phút.
- Rửa bằng nước cất.
- Xử lý bằng acid acetic 1% x 2 phút.
- Đẩy nước bằng cồn 95° và 100°
- Làm trong tiêu bản bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính

IV. KẾT QUẢ

- | | |
|----------------------------------|-------------------|
| - Nhân: | Xanh da trời- đen |
| - Bào tương, sợi cơ và hồng cầu: | Đỏ |
| - Sợi tạo keo: | Xanh da trời |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Khả năng bắt màu phẩm nhuộm tốt trong trường hợp mảnh cắt mô được cố định trong clorua thủy ngân hoặc trong acid picric.

Nếu mảnh cắt mô được cố định trong dung dịch formol trung tính, dung dịch Bouin, có khả năng nhuộm màu do hoạt động như chất gắn màu.

Nếu mảnh cắt bắt màu quá đỏ, cần biệt hóa trong dung dịch acid acetic 1% được hòa lẫn với 0,7g acid photphotungstic.

85. NHUỘM ĐA SẮC THEO LILLIE (1951)

I. NGUYÊN TẮC

Thuật ngữ “nhuộm đa sắc” là tên gọi cho nhiều kỹ thuật nhằm phát hiện một cách chọn lọc thành phần cơ, sợi tạo keo, sợi tơ huyết và hồng cầu. Một trong 3 loại phẩm nhuộm của kỹ thuật này được dùng để nhuộm nhân tế bào.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02.

2.1. Phương tiện, hóa chất

2.1.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Thuốc nhuộm ba màu được mua và/hoặc pha theo hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây gồm thuốc nhuộm Hematoxylin ferric Weigert, acid periodic 1% (dung dịch nước), thuốc thử Schiff, dung dịch xanh lơ metyl (hoặc anilin), dung dịch nước bão hoà acid picric, xanh lơ metyl (hay Anilin).

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể được đưa ngay vào dung dịch cố định (formol đậm trung tính 10%) với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20-30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau khi cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị thuốc nhuộm

* Pha chế thuốc thử Schiff

Hoà tan Fuchsin basic	1g
trong nước cất đun sôi	200ml
Lắc mạnh. Để nguội đến 50 ⁰ C. Lọc	
Cho thêm HCl 1N	20ml
Để nguội tới 25 ⁰ C	

Cho thêm metabesulfit sodium hay potassium 1g

Để trong tủ 24 giờ, lọ đậy nút kín, dung dịch pha đầy sát miệng lọ. Sau 24 giờ, bảo quản ở tủ lạnh trong lọ có màu. Thuốc thử Schiff phải trong suốt và chỉ còn hơi ánh vàng. Nếu có màu hồng là bỏ đi. Có thể dùng được trong vài tháng.

Dung dịch xanh lơ metyl (hoặc anilin).

Dung dịch nước bão hoà acid picric:	100ml
Xanh lơ methyl (hay Anilin):	40mg

6.2. Các bước nhuộm mảnh cắt

– Tẩy parafin.

- Oxy hoá trong acid periodic 1% (dung dịch nước) trong 10 phút.
- Rửa nước chảy 15 phút.
- Ngâm trong thuốc thử Schiff: 10 phút đến 20 phút.
- Rửa nước chảy 15 phút.
- Nhuộm Hematoxylin ferric Weigert: 2 phút
- Rửa nước chảy 4 phút.
- Nhuộm xanh lơ metyl trong 6 phút.
- Biệt hoá và loại nước qua hai lần ngâm trong cồn 95% rồi hai lần ngâm trong cồn tuyệt đối (làm nhanh).
- Làm trong mảnh cắt qua 3 bể xylene sạch
- Gắn lá kính bằng bôm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Nhân tế bào:	nâu hay đen
Bào tương, sợi cơ:	xám - xanh hay vàng - xanh
Sợi keo, liên võng:	xanh lơ
Màng đáy:	đỏ tím

86. NHUỘM CUSTER CHO CÁC MẢNH CẮT TỦY XƯƠNG

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm cho thấy rõ, chi tiết hình thái của tế bào tuỷ xương.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm formol Zenker (Helly).
- Dung dịch khử calci.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyên bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hốt phòng thí nghiệm.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.
- Nguồn cấp nước chảy.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây, bao gồm: cồn iốt 2%, Na₂S₂O₃ 5%, Eosin Y nước 0,1%, Azur II.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm sau khi được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol Zenker (Helly) từ 4 đến 6 giờ với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 10-12 giờ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

+ Rửa trong nước chảy 1 giờ.

+ Khử calci qua đêm (hoặc cho đến khi mảnh xương mềm châm kim vào dễ dàng) trong acid formic 5% hoặc trong dung dịch cải biên của Wagoner (acid formic 85 - 95%, 50ml; trộn với nước cất, 35ml; rồi cho thêm dung dịch Citrat sodium 17g trong 85ml nước cất ấm).

+ Cắt bỏ vỏ xương.

+ Rửa nhẹ nhàng trong nước chảy một giờ.

+ Loại nước bằng cồn ở các nồng độ cao dần.

+ Làm trong bệnh phẩm.

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị dung dịch nhuộm

A - Eosin Y nước 0,1%

B - Azur II. Các phần bằng nhau azur A và xanh lơ methylen - nước 0,1%

Ngay trước khi dùng, trộn các dung dịch theo các tỷ lệ sau đây:

A : 20ml

B : 10ml

Nước cất : 80ml

Lọc qua bông.

Chú ý: nếu mô có nhiều máu, chỉ dùng 5ml dung dịch A.

6.2. Các bước nhuộm

- Cho mảnh cắt qua xylen, cồn tuyệt đối, cồn 95°.
- Loại kết tủa thủy ngân bằng cách ngâm nhiều phút trong cồn iốt 2% rồi trong cồn 80°, nước chảy, Na₂S₂O₃ 5%, nước chảy và thay ba lần nước cất.
- Để mảnh cắt dựng đứng khoảng 15 - 16 giờ trong dung dịch nhuộm (đậy kín lọ).
- Ngâm trong cồn 95°, thay hai lần.
- Kiểm tra sự biệt hoá qua kính hiển vi.
- Rửa bằng cồn tuyệt đối, hai lần.
- Làm trong mảnh cắt bằng xylen, hai lần.
- Gắn bôm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Hồng cầu:	da cam
Bào tương của lymphô bào hoặc tế bào non:	xanh
Nhân:	xanh thẫm tới xanh - tím
Hạt của dưỡng bào (mastocyte):	tím tới tím đỏ
Sụn:	đỏ tím
Nền của xương:	hồng

87. NHUỘM SCHMORL CHO CÁC MẢNH CẮT XƯƠNG

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm cho thấy rõ cấu trúc xương. Phương pháp này không phải là nhuộm thực sự nhưng giống phương pháp Gomori. Một kết tủa chất màu thấm vào các hốc và các ống nhỏ, nó cũng thấm mạnh hơn vào các khoảng trống khác của tuỷ xương, trong các mô. Các mô có thể bị loại đi một phần nào mà không gây tác hại cho phẩm nhuộm bằng cách để các mảnh cắt ở bước 5 trong nửa giờ. Lúc đó các ống nhỏ sẽ bắt màu từ đỏ nhạt tới đỏ, chất xương xanh hoặc không có màu. Thông thường, nên nhuộm các mảnh cắt trước bằng hematoxylin-alun để làm rõ các nhân tế bào.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Cồn (50⁰, 70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hoặc toluen.
- Nước cất 2 lần
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtom).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰
- Tủ lạnh
- Điều hòa nhiệt độ
- Tủ hốt phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen
- Khuôn nhựa
- Giá đựng tiêu bản (đứng và nằm ngang)
- Cốc đong 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Cân phân tích
- Giấy lọc, phiến kính, lá kính sạch
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Hoặc dùng hoá chất có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn phía dưới, bao gồm:

- Dung dịch cố định bệnh phẩm: dung dịch Muller hoặc dung dịch Orth hoặc formol đậm trung tính 10%.
- Celloidin
- Cồn tuyệt đối- ete thể tích 1/1.
- Tinh dầu terpincol hoặc tinh dầu origanum.
- Dung dịch khử calci.
- Acid picric bão hoà trong nước (1,22%).
- Dung dịch Apathy, dung dịch Bolles Lee.
- Dung dịch thionin - carbol của Nicolle.
- Dung dịch thionin.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được cố định trong dung dịch Muller hoặc dung dịch Orth hoặc formol đậm trung tính 10%, không dùng dung dịch HgCl₂.

Khử calci bằng một trong những phương pháp chậm hơn: dịch Ebner (NaCl bão hoà trong nước) 100ml; HCl đậm đặc, 4ml và mỗi ngày cho thêm 2ml HCl trong khi cố định (hoặc dung dịch Muller, HNO₃ 3%).

- Bệnh phẩm đã cố định được khử nước thật cẩn thận.
- Chuyển ngay vào dung dịch cồn tuyệt đối- ete thể tích 1/1 tới khi ngấm hoàn toàn (khoảng 24 giờ).
- Chuẩn bị dung dịch Apathy: Clorofoc 40g + dầu origan 20g + tinh dầu bách hương 40 g + Cồn tuyệt đối 10g + Phenol 10g.
- Chuẩn bị dung dịch Bolles Lee: Clorofoc 1 thể tích + tinh dầu bách hương 2 thể tích.

2. Vùi celloidin

- Tắm bệnh phẩm trong các dung dịch celloidin 2%, 4% rồi 8% (pha trong dung dịch cồn tuyệt đối- ete thể tích 1/1). Nếu dùng dung dịch bán sẵn cần xem kỹ nồng độ trên nhãn sản phẩm. Thời gian tắm: 2 ngày với dung dịch 2%; 1 tuần với dung dịch 4% và 4 tuần với dung dịch 8%. Trong suốt thời gian tắm, bệnh phẩm bảo quản trong lọ thật kín, tránh ẩm ướt.

– Khi đã ngấm đủ celloidin, cho bay hơi một phần tới lúc nồng độ cuối cùng đạt 16-20% là được (dùng bình hút ẩm chứa acid sunfuric hay anhydric photphoric, lượng dung dịch vùi ban đầu giảm 50% là được).

3. Đúc

- Đổ dung dịch celloidin 8% cùng với bệnh phẩm vào một khuôn bằng giấy.
- Làm cứng khuôn bằng cách cho tiếp xúc với hơi cồn 70° hay hơi clorofoc (thường bằng cách sau: cho bệnh phẩm ở khuôn giấy vào một bình trong đó có một lọ nhỏ hở miệng chứa cồn 70° hay clorofoc).
- Khi khối bệnh phẩm đã cứng, cắt gọt bằng dao lưỡi dài.
- Chuyển khối bệnh phẩm vào trong cồn 70° hay clorofoc sau 24 giờ sẽ đủ độ cứng cần thiết.
- Làm trong bằng cách nhúng khối bệnh phẩm vào hỗn hợp Apathy hay Bolles Lee. Thay hỗn hợp 2 lần tới khi trong hẳn. Các khối bệnh phẩm này được bảo quản trong cồn hay tinh dầu terebentin.

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

6.1.1. Dung dịch thionin - carbol của Nicolle

Thionin, dung dịch bão hoà (0,25%) trong cồn 50 ⁰ :	10ml
Phenol nước 1%:	100ml.

6.1.2. Dung dịch thionin

Thionin dung dịch bão hoà (0,25%) trong cồn 50 ⁰ :	2ml
Nước cất:	10ml.

6.2. Các bước nhuộm

- Ngâm các mảnh cắt ít nhất 10 phút trong nước cất để loại hết cồn.
- Nhuộm 5 - 10 phút hoặc lâu hơn trong dung dịch A hoặc dung dịch B.
- Rửa trong nước cất.
- Ngâm 30 giây - 1 phút trong acid picric bão hoà trong nước (1,22%).
- Rửa nước cất.
- Ngâm trong cồn 70⁰ khoảng 5-10 phút cho đến khi không còn vẫn đục màu.
- Loại nước trong cồn 95⁰.
- Làm trong bằng tinh dầu terpincol hoặc tinh dầu origanum.
- Gắn bôm.

IV. KẾT QUẢ

Chất xương:	vàng tới nâu vàng nhạt
Các hốc và ống nhỏ của xương:	nâu thẫm tới đen
Các tế bào:	đỏ
Tế bào mỡ (sau dịch Muller):	tím đỏ nhạt
Mô xương:	vàng thẫm hơn mô dạng xương

88. NHUỘM XANH PHỔ PERL PHÁT HIỆN ION SẮT

I. NGUYÊN TẮC

Phản ứng Perl là một trong phản ứng hóa mô kinh điển đầu tiên. Mảnh mô được xử lý bằng dung dịch acid ferrocyanit sẽ bộc lộ ion sắt dưới dạng hydroxide $[Fe(OH)_3]$ bằng cách hòa tan acid hydrochloric. Sau đó, ion sắt phản ứng với dung dịch ferrocyanide kali để tạo ra phức màu xanh không hòa tan là ferrocyanide sắt (màu xanh Phổ).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung cho kỹ thuật

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70^0 , 80^0 , 95^0 , 100^0).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37^0 và 56^0 .
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây), bao gồm: ferrocyanid kali, acid hydrochloric, đỏ trung tính, đỏ nhanh (fast red).

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 - 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

Dung dịch ferrocyanid

1% dung dịch nước ferrocyanid kali 20 ml

2% dung dịch nước acid hydrochloric 20 ml

Lưu ý: chuẩn bị dung dịch ngay trước khi sử dụng

6.2. Tiến hành kỹ thuật

Nên có mảnh cắt chứng với nước

- Tẩy parafin mảnh cắt bằng 3 bể toluen (hoặc xylene), mỗi bể 2 phút
- Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa trong nước cất 3 - 5 phút
- Xử lý mảnh cắt bằng dung dịch acid ferrocyanid mới pha x 30 phút
- Rửa kỹ trong nước cất
- Nhuộm nhạt nhân bằng dung dịch đỏ trung tính 0,5% hoặc đỏ nhanh (fast red) 0,1%.
- Rửa nhanh trong nước cất.
- Đẩy nước bằng cồn 95° và 100°.

- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính.

IV. KẾT QUẢ

Ion sắt: xanh

Nhân: đỏ

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Nên chuẩn bị dung dịch nhuộm ngay trước khi sử dụng do dung dịch acid hydrochloric mới pha sẽ có tác dụng hiệu quả hơn để tách liên kết protein với ion sắt, đồng thời, nên có mảnh cắt chứng nhuộm với nước.

Trong bước 7, nếu sử dụng vòi nước chảy để rửa sẽ làm cho nền tiêu bản có màu đỏ và sẽ mất độ tương phản của nhân tế bào.

Bước 9 có tác dụng biệt hóa màu đỏ khi khử nước.

Nên tránh các chất cố định có acid hoặc dichromate hoặc các dung dịch acid dùng để khử calci. Các chất phản ứng như vậy có thể làm mất khả năng thủy phân ion sắt của mô, tạo ra kết quả âm tính giả.

89. NHUỘM GROCOTT

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật này dùng để phát hiện nấm, pneumocystis carinii dựa theo nguyên lý kỹ thuật Gomori trong bạc – methenamine. Nguyên lý chung của phản ứng gần giống với nguyên lý trong phản ứng PAS: nhóm các chất phản ứng bị oxy hóa bằng acid chromic hoặc permanganate sẽ tạo ra các aldehyd và người ta có thể phát hiện ra các aldehyd này nhờ vào hiện tượng thủy phân phức chất bạc - methenamine.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Dung dịch nhựa tổng hợp gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): dung dịch bạc – methenamin, dung dịch xanh lá cây sáng (Vert lumière) SF, dung dịch nước hàn the (borax), acid acetic đậm đặc, dung dịch chlorua vàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 -30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

6.1.1. Dung dịch bạc – methenamin

– Dung dịch mẹ

Hexamethylen tetramin 3%: 100ml

Bạc nitrat 5%: 5ml

Chú ý: cho từ từ bạc nitrate vào hexamethylen tetramin sẽ được một tủa trắng. Ngay sau đó, tủa này tự hòa tan. Có thể bảo quản dịch ở tủ lạnh trong nhiều ngày.

– Dung dịch pha trước khi dùng:

Dung dịch nước hàn the: 2ml

Nước cất: 25ml

Dung dịch mẹ: 25ml

6.1.2. Dung dịch xanh lá cây sáng

– Dung dịch mẹ

Xanh lá cây sáng: 0,2g

Nước cất: 100ml

Acid acetic đậm đặc: 0,2ml

- Dung dịch pha trước khi dùng

Dung dịch mẹ: 10ml

Nước cất: 50ml

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Các mảnh cắt được tẩy parafin qua 3 bể toluen (hoặc xylen), mỗi bể 2 phút
- Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa trong nước cất 3 - 5 phút
- Oxy hóa trong dung dịch acid chromic 5% trong 1 giờ
- Rửa nước chảy 2 - 3 phút
- Rửa trong dung dịch bisunfit Na 1% trong 1 phút
- Rửa qua nước chảy: 5 - 10 phút
- Rửa trong 3 - 4 bể nước cất: mỗi bể 5 lần nhúng
- Ngâm trong dung dịch bạc - methenamin ở nhiệt độ 58° khoảng 30 - 60 phút cho đến khi mảnh cắt có màu vàng nâu
- Lấy mảnh cắt ra, ngâm trong nước cất. Kiểm tra màu sắc dưới kính hiển vi.
- Rửa trong 6 bể nước liên tiếp, mỗi bể 5 lần nhúng.
- Thúc trong dung dịch chlorua vàng trong 2 - 5 phút
- Rửa trong nước cất
- Loại bỏ bạc thừa bằng dung dịch hyposunfit Na 2% trong 2 - 5 phút
- Rửa nước thật kỹ
- Nhuộm nền bằng xanh lá cây sáng: 30 - 50 giây
- Rửa nước bằng cồn 95° và 100°
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính bằng dung dịch nhựa tổng hợp.

IV. KẾT QUẢ

- Nấm: màu nâu đen - đen
- Chất nền: xanh nhạt
- Chất nhầy: màu ghi đậm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Dung dịch bạc - methenamin là chất oxy hóa có độc tính cao, do đó khi tiếp xúc với dung dịch phải rất cẩn thận, phải đeo khẩu trang, găng tay và phải ở nơi thoáng gió. Có thể giữ dung dịch ở 4°C trong vài tháng.

– Khi nhuộm, cần có mảnh cắt chứng đã có thành phần nấm dương tính với phẩm nhuộm này. Nếu mảnh cắt âm tính giả, nên kiểm tra hạn dùng của dung dịch bạc – methenamin để thay dung dịch mới hoặc để thời gian nhuộm lâu hơn.

– Trong bước 9 của quy trình nhuộm, dung dịch methenamin được chuẩn bị ngay trước khi sử dụng và cần hâm nóng đến 58°C bằng cách nhanh nhất, mảnh cắt sẽ được tráng màu nâu vàng bằng dung dịch bạc - methenamin và được kiểm tra mức độ bắt màu.

90. NHUỘM BẠC WARTHIN - STARRY PHÁT HIỆN *HELICOBACTER PYLORI*

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật này dùng để phát hiện xoắn khuẩn và *Helicobacter pylori* cùng một số loại vi khuẩn khác. Cơ sở của kỹ thuật là dựa vào khả năng của một số vi khuẩn có thể gắn với ion bạc có trong dung dịch. Sau bước gắn ion bạc, mảnh mô được tiếp xúc với chất khử hydroquinon, nhờ đó, các ion bạc đã gắn với mô và vi khuẩn có thể chuyển ngược trở thành bạc kim loại nhìn thấy được.

Trước khi nhuộm, mảnh mô được xử lý làm tăng tính miễn cảm với phức hợp bạc. Dung dịch nước của bạc nitrat có gia thêm chất khử hydroquinon để giúp tạo ra phức hợp diammin bạc.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.

- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây), bao gồm: bạc nitrat, sodium thiosulfat, acid acetic, hydroquinon, gelatin.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 -30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

- Pha dấm

Acid acetic 1,2%:	10ml
Nước cất:	1000ml

Dung dịch này chỉ để được tối đa 3 tuần.

- Dung dịch tẩm (ngấm)

Dung dịch bạc nitrat 6%:	10ml
Dấm:	50ml

Dung dịch được đựng trong bể có nắp đậy, khuấy lên rồi cho vào bể nước nóng được hâm nóng tới 60°C. Không sử dụng bất cứ dụng cụ nào bằng kim loại.

- Dung dịch tráng

+ Chuẩn bị: 60ml dấm kèm 2 thìa gelatin đựng trong bể có nắp đậy và đặt trong bể nước nóng được hâm tới 60°C. Thỉnh thoảng khuấy lên. Gelatin cần phải tan hoàn toàn.

+ Cuối cùng, thêm 2 thìa hydroquinon và trộn kỹ. Thêm 3ml dung dịch tẩm (ngâm) nóng và trộn kỹ.

Lưu ý: các mảnh cắt cần đặt ngay vào dung dịch tráng vừa mới pha.

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin mảnh cắt bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút
- Chuyển vào các bể còn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa nước
- Nhấn chìm mảnh cắt trong bể nước đã làm mất ion (*bể đựng nước này phải rửa sạch*).
- Ủ trong bạc nitrat 1% (AgNO₃) x 30 – 60 phút ở nhiệt độ 45 - 60°C.
- Chuẩn bị thuốc hiện hình (developer).
- Ủ trong thuốc hiện hình 1 phút ở 56°C.
- Soi kiểm tra sự bắt màu trên kính hiển vi.
- Rửa dưới vòi nước ấm để ngừng phản ứng.
- Rửa bằng nước cất nóng ở 56°C.
- Rửa bằng nước cất lạnh.
- Ủ trong sodium thiosunfat 2 – 5% x 1 phút.
- Rửa bằng nước cất.
- Làm mất nước nhanh bằng cồn 95° và cồn tuyệt đối
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính bằng bôm Canada

IV. KẾT QUẢ

- Vi khuẩn: đen
- Mô nền: vàng tươi

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Nên sử dụng mảnh cắt chứng để đánh giá tính khách quan của kỹ thuật. Ở bước 7, bước quan trọng nhất của kỹ thuật, mảnh cắt được nhuộm một cách lý tưởng khi có màu nâu – vàng sáng (nhìn bằng mắt thường). Cần thay đổi thời gian tráng khác nhau tùy theo mảnh cắt để có thể đạt được kết quả tối đa.

91. NHUỘM ĐỎ CONGO KIỀM (theo Puchtler 1962)

I. NGUYÊN TẮC

Đỏ Congo là phẩm nhuộm acid nhóm diazo, gồm hai nửa giống nhau, trong đó, mỗi nửa có vòng phenol gắn với nhóm phân tử naphtalen nhờ nhóm diazo. Hai nhóm phenyl gắn với nhau bằng liên kết diphenyl. Tuy nhiên, việc nhuộm chất dạng tinh bột (amyloid) bằng đỏ Congo là nhờ liên kết hydrogen khác với liên kết hóa điện tử được tạo ra giữa phẩm nhuộm và hầu hết các thành phần mô được nhuộm. Trong dung dịch nước, đỏ Congo nhuộm nhiều thành phần mô khác nhau, mặc dù ái lực với chất dạng tinh bột lớn hơn đối với thành phần khác.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hốt phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

- Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): đỏ Congo, chlorit sodium, hydroxit sodium, alun hematoxylin.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 -30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

- Dung dịch A lưu trữ: Chlorit sodium bão hòa trong 80% etanol.
- Dung dịch B lưu trữ: đỏ Congo bão hòa trong 80% etanol được bão hòa bằng chlorit sodium.
- 1% dung dịch nước hydroxit sodium.

Dung dịch làm việc

- Cứ 100 ml dung dịch A lưu trữ thêm 1 ml dung dịch nước hydroxit sodium 1% rồi lọc.
- Cứ 100ml dung dịch B lưu trữ thêm 1ml dung dịch nước hydroxit sodium 1% rồi lọc.

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin mảnh cắt bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút
- Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa trong nước cất 3 – 5phút

- Nhuộm nhân trong alun hematoxylin, biệt hóa và làm xanh
- Nhúng trong dung dịch chlorit sodium kiềm x 20 phút
- Chuyển ngay sang dung dịch đỏ Congo kiềm x 20 phút
- Đẩy nước bằng cồn 95° và 100°
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính.

IV. KẾT QUẢ

Chất dạng tinh bột, sợi chun, hạt bạch cầu ưa toan: đỏ

Nhân: xanh

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Mặc dù dung dịch lưu trữ có khả năng ổn định khoảng 2 tháng, nhưng để có màu sắc tốt, không nên để lưu dung dịch làm việc mà chỉ sử dụng trong khoảng 20 phút sau chuẩn bị.

Để bảo hòa trong 100ml etanol 80%, cần sử dụng 0,2g phẩm đỏ Congo. Lưu giữ dung dịch trong tủ lạnh.

92. NHUỘM HYDROXIT SẮT (THEO HALE)

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm dựa vào ái lực của sắt (hoá trị 3) với các nhóm acid. Cơ chế hoá học chính xác của hiện tượng gắn kết này vẫn còn chưa sáng tỏ. Tuy nhiên, hydroxit sắt dạng keo, ngay khi được cố định, sẽ có thể được phát hiện ở bước nhuộm thứ 2 với ferrocyanur kali (phản ứng sẽ cho màu xanh).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

- Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): FeCl₂, acid acetic đặc, đỏ nhân, Kernechtrot, sunfat nhôm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 - 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

6.1.1. Dung dịch mẹ hydroxit sắt dạng keo

- Nước cất: 250 ml
- Clorua sắt (29%): 4,4ml

Thêm clorua sắt cho đến khi nước cất sôi lên.

Chờ cho dung dịch chuyển sang màu đỏ thẫm, để vào lạnh.

Dung dịch được bảo quản tối đa trong 2 tháng.

6.1.2. Dung dịch làm việc

- Acid acetic đậm đặc: 5 ml
- Dung dịch mẹ: 20 ml
- Nước cất: 15ml

6.1.3. Đỏ nhân

- Kernechtrot: 0,5g
- Sunfat nhôm: 12,5g
- Nước cất: 250 ml

Hoà tan bằng cách đun nóng. Thêm ít tinh thể thymol.

Bảo quản trong tủ lạnh.

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin các mảnh cắt bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút.
- Chuyển vào các bể còn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút.
- Rửa nước.
- Nhúng mảnh cắt rất nhanh vào dung dịch acid acetic 12%.
- Không rửa; đặt các mảnh cắt vào trong dung dịch làm việc khoảng 1 giờ.
- Rửa trong 4 bể acid acetic 12% (3 phút mỗi bể).
- Đặt mảnh cắt vào trong dung dịch Ferrocyanua Kali (2%) + HCl (2%) với thể tích bằng nhau, khoảng 20 phút.
- Rửa nước chảy rồi qua nước cất.
- Nhuộm nhân bằng đồ nhân trong 3 - 10 phút.
- Rửa trong nước chảy, rồi nước cất.
- Làm mát nước nhanh bằng còn 95° và còn tuyệt đối.
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch.
- Gắn lá kính như thường lệ.

IV. KẾT QUẢ

Mucopolysaccarit acid: xanh đậm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Ở pH 3,1 và 2,5, màu xanh cho biết hầu hết là các mucin acid (trừ một số nhóm sunphat hóa mạnh). Ở pH 1,0, chỉ các mucin acid sunphat hóa yếu có màu xanh, trong khi ở pH 0,2, mucin acid sunphat hóa mạnh lại bắt màu xanh.

93. NHUỘM DIAMIN SẮT CAO (HIGH IRON DIAMINE)

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật diamin sắt cao được coi là kỹ thuật chuẩn để phát hiện các chất nhày có nhóm sunfat. Nguyên lý của phương pháp: một hỗn hợp các muối diamin được oxy hoá bằng clorua sắt hình thành một chất màu đen, liên kết với các nhóm sunfat este. Bằng cách nhuộm tương phản với xanh alcian (mà chỉ nhuộm các chất nhày carboxyl hoá), đã phân biệt được rõ về màu sắc giữa 2 nhóm chính của chất nhày acid. Một điều đáng chú ý, đó là các chất nhày sunfat của các tuyến phế quản đường như không phản ứng với hỗn hợp diamin clorua sắt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Các hóa chất cần riêng cho phân nhuộm như sau:

- Sodium photphat monobasic
- Sodium photphat dibasic (khan: anhydrous)
- Xanh alcian
- Acid acetic
- Đỏ trung tính.
- N,N - dimethyl - meta - phenylenediamin - dihydrochlorit.
- N,N - dimethyl - para - phenylenediamine- dihydrochlorit.
- Clorua sắt
- Cồn etylic 95⁰, 100⁰
- Nước cất 2 lần.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 -30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Pha phẩm nhuộm

- N,N - dimethyl - meta - phenylenediamin - dihydrochlorid: 120mg
- N,N - dimethyl - para - phenylenediamin - dihydrochlorid: 20mg
- Nước cất 2 lần: 50mg
- Clorua sắt: 0,084g trong 1,4ml nước cất 2 lần.

Hoà tan riêng rẽ 2 muối diamin trong nước cất, sau đó thêm dung dịch clorua sắt rồi trộn lẫn. Bảo quản trong lọ màu, nút mài.

6.2. Các bước nhuộm

- Để khô mảnh cắt ở tủ 37°C , 12 giờ trước khi nhuộm.
- Các mảnh cắt làm chứng và các mảnh cắt cần nhuộm được tẩy parafin, qua cồn, rửa nước và rửa nước cất.
- Nhúng các mảnh cắt trong dung dịch diamine 18-24 giờ.
- Rửa kỹ trong nước chảy.
- Nhuộm tương phản (nếu cần thiết) bằng xanh alcian 1% trong acid acetic 3% trong 5 phút.
- Nhuộm nhân bằng đồ trung tính 0,5% trong 2-3 phút.
- Rửa qua nước.
- Tẩy nước bằng cồn tuyệt đối.
- Làm trong bằng xylene và gắn lá kính bằng bơm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Sulfat mucin	: đen-nâu
Carboxylate mucin	: xanh
Nhân	: đỏ.

94. NHUỘM SỢI VÕNG THEO GOMORI

I. NGUYÊN TẮC

Dựa vào tính ưa bạc của sợi võng, người ta đã sử dụng phương pháp nhuộm tẩm/ngấm bạc để phát hiện loại sợi đặc biệt này. Hai phương pháp nhuộm sợi võng thông dụng nhất là Gomori và Gordon – Sweet. Bước đầu tiên của quy trình là thực hiện oxy hóa chất đường hexose có trong sợi võng để tạo ra aldehyt. Bước tiếp theo làm “tăng độ nhạy” do lắng đọng thành phần kim loại (ammonium sunfat) quanh sợi võng. Hiện tượng tẩm/ngấm bạc xảy ra khi dung dịch bạc diamini hoặc bạc ammoniac bị oxy hóa tạo ra aldehyt. Oxy hóa tiếp theo của bạc diamini khi mảnh cắt được chuyển vào trong formaldehyt. Bước này được gọi là “trắng bạc”. Sau cùng, kim loại vàng có trong clorua vàng đã thay thế kim loại bạc để làm tăng độ “sắc nét” sợi võng, làm chúng chuyển từ màu nâu sang màu đen.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyên bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.

- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn dưới đây): hydroxit kali, bạc nitrat, ammonium.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 - 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

Cứ 10ml dung dịch hydroxit kali 10% lại thêm 40ml dung dịch bạc nitrat 10%. Sau đó để tua lắng cạn và gạn bỏ chất nổi trên bề mặt dung dịch, chỉ để lại chất tua. Rửa chất tua lắng cạn vài lần bằng nước cất. Thêm từng giọt ammonium cho tới khi chất tua được hoà tan hết. Tiếp theo, thêm dung dịch bạc nitrat 10% cho tới khi xuất hiện lại một chút chất tua. Sau đó, thêm nước cất vào dung dịch vừa pha để thành 100ml và lọc. Cất trữ vào bình màu sẫm.

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin các mảnh cắt bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút.
- Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút.
- Rửa trong nước cất 3 – 5 phút.
- Xử lý bằng dung dịch permanganat kali 1% x 2 phút.

- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Làm trắng trong dung dịch metabisunfat kali 2% .
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Xử lý bằng dung dịch phèn sắt (iron alum) 2% x 2 phút.
- Rửa vài lần bằng nước cất.
- Đặt mảnh cắt vào trong bình Coplin đựng dung dịch bạc x 1 phút.
- Rửa vài lần bằng nước cất.
- Khử bằng dung dịch nước formalin 4% x 3 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Làm sắc nét bằng dung dịch clorua vàng 0,2% x 10 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Xử lý bằng dung dịch metabisunfat kali 2% x 1 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Xử lý bằng dung dịch sodium thiosunfat 2% x 1 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Nhuộm đổi màu bằng van Gieson hoặc eosin.
- Đẩy nước bằng cồn 95° và 100°
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính

IV. KẾT QUẢ

- Sợi võng: đen
- Nhân: xám nhạt
- Mô khác: phụ thuộc chất nhuộm đổi màu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Nên dùng bình thót cổ đựng dung dịch bạc và khuấy kỹ mỗi khi thêm một giọt amoniac, vì nếu thêm quá nhiều amoniac sẽ làm cho dung dịch bạc kém tác dụng. Dung dịch bạc có thể pha hàng ngày trước sử dụng, nếu cần thiết.

Dung dịch bạc amoniac có thể cất trữ ở 4°C trong vài tuần. Dung dịch này có thể nổ, nếu để tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.

Thời gian xử lý bằng dung dịch bạc – amoniac rất khác nhau phụ thuộc vào nhiệt độ môi trường và hiệu lực của dung dịch bạc.

95. NHUỘM ANDEHIT FUCSIN (ALDEHYDE FUCHSIN) CHO SỢI CHUN

I. NGUYÊN TẮC

Fucsin basic và para andehit sẽ tạo thành phẩm nhuộm màu đỏ tía khi có mặt của acid vô cơ. Phẩm này được gọi là “andehit fucsin”, có khả năng nhuộm sợi chun, dưỡng bào, tế bào B của tụy nội tiết. Khi có mặt acid clohydric, para andehit sẽ giải trùng hợp tạo thành acetandehit và bị ngưng tụ lại khi gặp nhóm amino tự do của fucsin basic để tạo thành base Schiff (azomethine). Phản ứng andehit fucsin với các thành phần mô là do liên kết cộng hóa trị hoặc liên kết tĩnh điện. Khả năng nhuộm rất mạnh cho các mô anion, chẳng hạn như mô có chứa gốc sunfonat tự do là do cơ chế ion. Hiện nay, cơ chế nhuộm sợi chun hoặc tế bào B của tụy nội tiết vẫn còn chưa sáng tỏ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính.

- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

- Dung dịch permanganat kali 1%.
- Dung dịch acid oxalic 1%.
- Thuốc nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): fucsin basic, para andehit, acid clohydric.
- Thuốc nhuộm hoặc eosin hoặc van Gieson hoặc đỏ trung tính.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 -30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

Hoà tan 1g fucsin basic trong 100 ml etanol 70%. Hâm nóng để làm tăng tốc độ phản ứng. Sau khi làm lạnh và lọc, thêm 1ml acid clohydric đậm đặc và 2 ml para andehit. Để ở nhiệt độ phòng trong 2 ngày nhằm hoàn thiện quá trình chín (**dấu hiệu chín**: dung dịch chuyển từ màu đỏ sang đỏ tím). Có thể làm giảm thời gian chín bằng cách tăng nhiệt độ tới 50⁰-60⁰C. Sau khi dung dịch chín, lưu trữ bằng cách để trong tủ lạnh.

Khả năng nhuộm tốt nhất của aldehyde fucsin vào khoảng 2-4 ngày sau khi chuẩn bị dung dịch. Tuy nhiên, nếu để lưu trữ trong lạnh 4⁰C, dung dịch vẫn có thể hoạt động tốt trong vài tuần.

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin các mảnh cắt bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút
- Chuyển vào các bể còn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa trong nước cất 3- 5 phút
- Oxy hoá trong permanganat kali 1% x 5 phút.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Loại permanganat kali bằng dung dịch acid oxalic 1%.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Rửa trong etanol 70°.
- Đặt mảnh cắt vào trong bể (lọ) đựng andehit fucsin được đậy kín x 15 phút.
- Rửa kỹ trong etanol 70°.
- Rửa dưới vòi nước chảy.
- Nhuộm tương phản (đổi màu) theo ý muốn (hoặc eosin, hoặc van Gieson, hoặc đỏ trung tính).
- Khử nước bằng cồn 95° và 100°.
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch.
- Gắn lá kính.

IV. KẾT QUẢ

Sợi chun: xanh da trời - tím đỏ.

Kỹ thuật này cũng được sử dụng để nhuộm phát hiện các hạt trong tế bào Beta của tụy, một số chất nhầy, nấm, chất cơ bản sụn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Độ tương phản giữa các sợi chun mảnh với sợi keo không được rõ ràng, nếu nhuộm đổi màu bằng van Gieson. Tuy nhiên, nếu chỉ dùng để đổi màu cho nhân thì vẫn thích hợp khi dùng van Gieson.

96. NHUỘM ORCEIN CẢI BIÊN THEO SHIKATA PHÁT HIỆN KHÁNG NGUYÊN HBsAg

I. NGUYÊN TẮC

Kháng nguyên virus viêm gan B gồm 2 thành phần là kháng nguyên lõi (HBcAg) có bản chất DNA và kháng nguyên bề mặt (HBsAg) có bản chất lipoprotein. Thông thường, orcein sẽ nhuộm cầu nối disunfit có trong thành phần xistin của HBsAg; nhờ vậy, người ta có thể phát hiện được sự có mặt của virus trong tế bào gan.

Kỹ thuật orcein cải biên theo Shikata có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn một số kỹ thuật orcein thông thường, đồng thời giá thành rẻ, dễ thực hiện và lợi thế của kỹ thuật là có thể thực hiện được kể cả khi mô gan đã được vùi parafin, thậm chí đã lưu trữ rất lâu, mặc dù hiện nay, cơ chế của hiện tượng nhuộm vẫn chưa hoàn toàn sáng tỏ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Eukitt gắn lá kính.

- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

- Dung dịch oxalic acid 2%.
- Dung dịch cồn 70% - HCl.
- Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): Permanganat kali, acid sunfuric đậm đặc, Orcein, HCl đậm đặc.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 - 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

6.1.1. Hỗn hợp dung dịch (A)

- Dung dịch nước permanganat kali 0,5%: 95ml
- Acid sunfuric đậm đặc: 5ml

Chú ý: chuẩn bị dung dịch trước khi dùng.

6.1.2. Dung dịch cồn – orcein (B)

- Orcein: 1g
- Cồn etylic 70%: 100ml
- HCl đậm đặc: 2ml

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin các mảnh cắt bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút.
- Chuyển vào các bể còn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút.
- Rửa nước.
- Oxy hóa trong dung dịch (A): 5 phút.
- Rửa nước
- Làm mất màu trong oxalic acid 2%
- Rửa bằng nước cất, sau đó rửa nước chảy 3 phút
- Nhuộm màu bằng dung dịch orcein (B): 2 - 4 giờ
- Rửa nước
- Biệt hóa trong dung dịch cồn 70% - HCl.
- Làm mất nước nhanh bằng cồn 95° và cồn tuyệt đối.
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch.
- Gắn lá kính bằng Eukitt.

IV. KẾT QUẢ

Bào tương tế bào gan nhiễm virus viêm gan B: dạng thủy tinh mờ.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Ở bước 6, thời gian tẩy trắng mô chỉ kéo dài nếu cần thiết. Nói chung, chỉ vào khoảng 1 giây.

Ở bước 8, mảnh cắt được nhuộm màu tăng dần bằng dung dịch orcein và kiểm tra đậm độ màu sắc bằng kính hiển vi quang học.

97. NHUỘM ORCEIN PHÁT HIỆN KHÁNG NGUYÊN HBsAg TRONG MÔ GAN

I. NGUYÊN TẮC

Thông thường, virus có kích thước rất nhỏ và chỉ có thể quan sát được dưới kính hiển vi điện tử. Virus chỉ được coi là vật ký sinh khi chúng sinh sản (được nhân lên) trong tế bào vật chủ. Các tiểu phần virus nằm bên trong tế bào vật chủ được gọi là “thể vùi virus” và có thể thấy bằng kính hiển vi quang học. HBsAg (kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B) thường xuất hiện dưới dạng thể vùi trong bào tương tế bào gan. Bào tương của tế bào Küpffer cũng có thể có kháng nguyên này.

Phẩm nhuộm orcein và andehit - fuscic có khả năng nhuộm cầu nối disunfit có trong thành phần cistin của HBsAg và tạo ra hình ảnh “thủy tinh mờ” của tế bào gan bị nhiễm virus.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (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 máu, kéo.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.

- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hốt phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Bơm Canada hoặc keo gắn lá kính.
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.6.1 dưới đây): permanganat kali, acid sunfuric đậm đặc, acid oxalic, Orcein, acid periodic, HCl.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đậm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 - 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định từ 2-12 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ.

Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

6. Nhuộm mảnh cắt

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

6.1.1. Dung dịch permanganat kali được acid hóa:

- Permanganat kali: 0,3 g
- Nước cất: 100ml
- Acid sunfuric đậm đặc: 0,3ml

6.1.2. Dung dịch acid oxalic: 1,5%

6.1.3. Pha orcein:

- Hòa tan 1,0g orcein tổng hợp bằng cách đổ dần dần từng ít cồn 70 độ trong khi đang đun nóng nhẹ, cách thủy, vào khoảng 56°C (tổng lượng cồn cần dùng để hòa tan là 100ml) cho đến khi hòa tan hết.

- Sau đó, thêm 1 ml HCl đậm đặc.

6.1.4. Dung dịch acid periodic 5%

Acid periodic:	0,5g
Nước cất:	100ml

6.1.5. Dung dịch biệt hóa cồn - acid

Cồn 70 độ:	100ml
HCl:	1ml

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Tẩy parafin bằng 3 bể toluen (xylen), mỗi bể 2 phút
- Chuyển vào các bể cồn 100°, 95°, 80° mỗi bể 2 phút
- Rửa nước
- Oxy hóa trong permanganat kali (5 - 10 phút)
- Rửa nước
- Tẩy trắng trong acid oxalic (nhìn cho tới trắng)
- Rửa nước chảy, rồi rửa lại bằng nước cất
- Acid periodic 5% trong 5 phút
- Rửa nước chảy, rồi rửa lại bằng nước cất
- Nhuộm orcein trong lò vi sóng ở công suất thấp trong 30 - 45 giây, rồi tiếp tục để như vậy trong 30 phút. Kiểm tra dưới kính hiển vi, có thể nhuộm lại nếu chưa đủ màu đen.
- Rửa trong cồn 70°.
- Biệt hóa trong cồn-acid 1% cho tới khi không còn phẩm màu chảy ra từ mảnh cắt.
- Rửa bằng cồn 70°.
- Làm mất nước nhanh bằng cồn 95° và cồn tuyệt đối
- Làm trong bằng 3 bể toluen sạch
- Gắn lá kính như thường lệ

IV. KẾT QUẢ

- Kháng nguyên HBsAg, sợi chun: đỏ tía
- Các protein liên kết với đồng : đỏ tía sẫm
- Nền: đỏ tía ánh nâu nhạt

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Các kháng nguyên này thường tập trung thành hạt to, nhỏ khác nhau trong bào tương tế bào gan. Trường hợp hạt nhỏ, thường ở dạng lan tỏa, trong khi, dạng hạt lớn hơn, có hình tròn hoặc bầu dục lại tụ thành nhóm.

PHẦN IV

CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT NHUỘM PHẢI DÙNG MẢNH CẮT LẠNH

98. NHUỘM SOUDAN III HOẶC IV TRONG DUNG DỊCH ETANOL

I. NGUYÊN TẮC

Nhận dạng các lipid kỵ nước ở trạng thái lỏng theo cơ chế vật lý vật chuyển một thể có màu (lysochrom) từ dung môi hoà tan (cồn, diacetyl, propylen, ethylen glycol, v.v...) vào trong lipid ở trạng thái lỏng.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi Người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Phẩm nhuộm Soudan III hoặc IV trong etanol
- Cồn tuyệt đối.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

- Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiến kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát.

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật gá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào gá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiến kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiến kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm Soudan III hoặc IV trong etanol

– Soudan III hoặc IV: 1g

– Etanol 70%: 50ml

– Aceton: 50ml

Bảo quản trong lọ nút kín, lọc trước khi sử dụng.

4.2. Các bước nhuộm

– Mảnh cắt rửa trong nước cất.

- Ngâm mảnh cắt vào etanol 70% vài giây.
- Ngâm vào trong dung dịch bão hoà Soudan trong cồn 70% trong 5 phút (có thể dùng dung dịch Herxheimer).
- Ngâm nhiều lần trong ethanol 70% cho đến khi không còn vết của phẩm nhuộm thôi ra nữa.
- Rửa nước cất.
- Nhuộm nhân bằng Hemalun hoặc xanh lơ toluidin 0,5%.
- Rửa nước cất.
- Gắn glyxerogel hoặc sirô Apathy.

IV. KẾT QUẢ

Các lipid kỵ nước trong trạng thái lỏng (triglycerit không bão hoà, cholesterit không bão hoà và acid béo tự do không bão hoà): màu đỏ.

Các cerebrosit nhuộm nhạt

Photpholipid nhuộm rất yếu (Adams, 1965).

99. NHUỘM DẦU ĐỎ O

I. NGUYÊN TẮC

Hòa tan có chọn lọc là cơ chế mà nhờ nó các phẩm nhuộm được phân tán trong dung môi lại có khả năng hòa tan mạnh hơn khi đi vào thành phần mô, trong khi mức độ hòa tan của chúng trong dung môi lại yếu hơn. Cơ chế này lần đầu tiên được sử dụng để phát hiện các lipid trên các mảnh cắt lạnh.

Độ cồn thích hợp nhất cho phẩm nhuộm lipid là 70%. Tuy nhiên, ở độ cồn này, một số lipid trung tính có thể bị mất trong quá trình nhuộm nhưng chỉ ở mức tối thiểu, nên không ảnh hưởng tới vị trí, kích thước của tổn thương. Kỹ thuật nhuộm dầu đỏ O cho phép nhuộm cả nhân của tế bào tổn thương, nên rất có lợi cho việc nhận định cấu trúc mô học.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.4.1 dưới đây): dầu đỏ O, cồn isopropyl tuyệt đối, dextrin, Gill II hematoxylin.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số Người bệnh.
- Ghi mã số của người bệnh vào phiến kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.
- Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.
- Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.
- Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát.
- Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật gá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.
- Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

- Đặt mẫu bệnh phẩm vào gá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).
- Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.
- Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiến kính.
- Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiến kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

4.1.1. Dung dịch dầu đỏ O

Dầu đỏ O:	0,5 g
Cồn isopropyl tuyệt đối:	100 ml

Đề dung dịch này qua đêm.

4.1.2. Dung dịch dextrin

Dextrin:	1g
Nước cất:	100ml

4.1.3. Dung dịch nhuộm

Dầu đỏ O được lưu trữ:	60 ml
Dextrin:	40 ml

Có thể giữ dung dịch này trong 1 tháng và lọc trước khi sử dụng

4.2. Tiến hành kỹ thuật

- Đặt các mảnh cắt lạnh trực tiếp vào dung dịch dầu đỏ O – dextrin 0,5% khoảng 20 giây.
- Rửa nhẹ nhàng, nhanh, trong nước chảy.
- Nhuộm đổi màu bằng Gill II hematoxylin x 20 – 30 giây
- Rửa nước nhẹ nhàng, làm xanh và gấn trong môi trường nước.

V. KẾT QUẢ

- Lipid: đỏ rực rỡ
- Nhân: xanh

100. NHUỘM ĐEN SOUDAN B TRONG DIACETIN

I. NGUYÊN TẮC

Nhận dạng các lipid kỵ nước ở trạng thái lỏng theo cơ chế vật lý vật chuyển một thể có màu (lysochrom) từ dung môi hoà tan (cồn, diacetin, propylen, etylen glycol, v.v...) vào trong lipid ở trạng thái lỏng.

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, hoá chất

- Máy cất lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cất lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm Đen Soudan B trong diacetin, Kernechtrol.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiến kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiến kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm) sau khi lát cắt được dàn lên phiến kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm đen Soudan B trong diacetin

– Hoà tan đến độ bão hoà Đen Soudan B trong một dung dịch nước có 50% diacetin.

– Để trong tủ ấm 55⁰ trong cả ngày.

– Để nguội.

– Lọc trước khi sử dụng.

4.2. Các bước nhuộm

- Chuyển các mảnh cắt lạnh vào dung dịch nước 50% diacetin, trong 30 giây và lắc đều.
- Nhuộm trong dung dịch Đen Soudan B vừa mới lọc trong một giờ.
- Biệt hoá nhanh (30 giây) trong dung dịch nước 50% diacetin.
- Rửa nước cất.
- Nhuộm nhân bằng Kernechtrol.
- Rửa nước cất.
- Gắn trong glycerogel hoặc sirô Apathy.

IV. KẾT QUẢ

Lipid ở trạng thái lỏng (triglycerit không bão hoà, cholesterit không bão hoà, acid béo không bão hoà, glycolipid và photpholipid) bắt màu đen.

101. NHUỘM ĐEN SOUDAN B HÒA TAN TRONG PROPYLEN- GLYCOL

I. NGUYÊN TẮC

Nhận dạng các lipid kỵ nước ở trạng thái lỏng theo cơ chế vật lý vật chuyển một thể có màu (lysochrom) từ dung môi hoà tan (cồn, diacetin, propylen, etylen glycol, v.v...) vào trong lipid ở trạng thái lỏng.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm Đen Soudan B trong propylen-glycol, Kernechtrol.
- Giấy lọc Whatman số 2

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

– Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

– Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số Người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm Đen Soudan B trong propylen-glycol

– Đen Soudan B: 0,7g

– Propylen glycol: 100ml

– Hoà tan lúc đang nóng ở 100⁰C (không được vượt quá 110⁰C) và lắc đều.

– Lọc lúc còn nóng trên giấy lọc Whatman số 2.

– Sau khi nguội, lọc lại trên các sợi thủy tinh ở trong chân không.

4.2. Các bước nhuộm

- Loại nước trong prolylen glycol từ 3 đến 5 phút.
- Nhuộm trong dung dịch Đen Soudan B trong 5 đến 7 phút.
- Rửa mảnh cắt trong dung dịch nước 85% propylen glycol, từ 2 đến 3 phút, thỉnh thoảng lại lắc.
- Rửa trong nước cất ấm từ 1 đến 3 phút.
- Nhuộm nhân bằng Kernechtrol.
- Rửa trong nước cất.
- Gắn lá kính trong glycerogel hoặc sirô Apathy.

IV. KẾT QUẢ

Lipid ở trạng thái lỏng (triglycerid không bão hoà, cholesterid không bão hoà, acid béo không bão hoà glycolipid và photpholipid) bắt màu đen.

102. NHUỘM ĐEN SOUDAN B HÒA TAN TRONG ETANOL - GLYCOL

I. NGUYÊN TẮC

Nhận dạng các lipid kỵ nước ở trạng thái lỏng theo cơ chế vật lý vật chuyển một thể có màu (lysochrom) từ dung môi hoà tan (cồn, diacetin, propylen, etylen glycol, v.v...) vào trong lipid ở trạng thái lỏng.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm Đen Soudan B trong etanol-glycol, Kernechtrol.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiến kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiến kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiến kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm Đen Soudan B trong ethanol-glycol

– Trộn lẫn Etanol tuyệt đối 30ml + Glycol 30ml.

– Cho thêm 500mg đen Soudan B và lắc mạnh để hoà tan (có thể hâm nóng nhẹ để hoà tan tốt hơn).

– Sau cùng cho thêm nước cất 40ml.

– Để trong 1 giờ.

– Lọc trước khi dùng.

Dung dịch chỉ sử dụng được tối đa trong hai đến ba ngày.

4.2. Các bước nhuộm

- Cho mảnh cắt vào etanol-glycol trong 5 phút.
- Nhuộm trong dung dịch Đen Soudan B vừa mới pha từ 5 đến 10 phút (15 đến 30 phút nếu tìm các sắc tố lipid trên các mảnh cắt parafin).
- Rửa trong etanol-glycol từ 2 đến 3 phút.
- Rửa nước cất.
- Nhuộm nhân bằng Kernechtrol.
- Rửa nước cất.
- Gắn lá kính trong glycerogel hoặc sirô Apathy.

IV. KẾT QUẢ

Lipid ở trạng thái lỏng (triglycerid không bão hoà, cholesterid không bão hoà, acid béo không bão hoà glycolipid và photpholipid) bắt màu đen.

103. NHUỘM LIPID TRUNG TÍNH VÀ ACID BẰNG SUNFAT XANH LƠ NIL (THEO CAIN)

I. NGUYÊN TẮC

Nhuộm để phân biệt giữa các lipid trung tính và acid bằng một thuốc nhuộm phức tạp (Sunfat xanh lơ Nil). Thuốc nhuộm này có lysochrom, đỏ Nil, nhuộm màu hồng các lipid ở trạng thái lỏng, ngoài ra còn có một chất màu base, xanh lơ Nil nhuộm những thể có phản ứng acid.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm sulphat xanh lơ Nil, Kernechtrol.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

– Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

– Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số Người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt, cắt thành các mảnh có độ dày 10 μ . Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây và nhúng vào nước cất. Cắt 3 mảnh cắt.

4. Nhuộm mảnh cắt

– Mảnh cắt thứ nhất dùng để kiểm tra đặc tính lipid của những chất nghiên cứu: Nhuộm đơn giản bằng đen Soudan B trong dung môi cồn hoặc trong diacetyl.

– Hai mảnh cắt khác được xử lý như sau:

+ Chuyển hai mảnh cắt 2 và 3 vào trong dung dịch nước xanh lơ Nil 1% ở 60⁰C, trong 5 phút.

+ Nhuộm lại mảnh cắt 3 trong dung dịch xanh lơ Nil 0,02%, ở 60⁰C, trong 5 phút.

- + Nhuộm nhanh cả hai mảnh cắt trong nước ở 60⁰C.
- + Biệt hoá các mảnh cắt trong acid acetic 1%, ở 60⁰ C, trong 30 giây
- + Rửa sạch.
- + Gắn lá kính cho các mảnh cắt bằng glycerogel.

IV. KẾT QUẢ

– Tính chất lipid của các chất nghiên cứu đã được xác định do nhuộm Đen Soudan B:

- Các lipid acid bắt màu xanh của xanh lơ Nil
- Các lipid trung tính bắt màu hồng
- Sự bắt màu phải giống hệt nhau trên cả hai mảnh cắt, các lipid phải nhuộm được cả ở dung dịch 0,02% cũng như ở dung dịch 1%.

104. NHUỘM LIPID TRUNG TÍNH VÀ ACID BẰNG SUNFAT XANH LỢ NİL (THEO MENSCHICK)

I. NGUYÊN TẮC

Nhuộm để phân biệt giữa các lipid trung tính và acid bằng một phẩm nhuộm phức tạp, sunfat xanh lơ Nil. Phẩm này còn có một lysochrom, đỏ Nil, nhuộm màu hồng các lipid ở trạng thái lỏng, ngoài ra còn có một chất màu base, xanh lơ Nil nhuộm những vật thể có phản ứng acid.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm sunfat xanh lơ Nil
- Bình acetone.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

– Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

– Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số Người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt, cắt thành các mảnh có độ dày 10 μ . Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây và nhúng vào nước cất.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Pha phẩm nhuộm

Dung dịch sunfat xanh lơ Nil bão hoà trong nước 20⁰ 500ml

Acid sunfuric 0,5% 50ml

Đun sôi hỗn hợp trên trong 2 giờ trước khi dùng ở 60⁰C.

Dùng ngay trong 90 phút.

4.2. Nhuộm

- Rửa các mảnh cắt trong nước cất.
- Ngâm trong bình aceton, hâm nóng 50⁰C.
- Đưa bình aceton ra và để các mảnh cắt trong đó khoảng 30 phút.
- Biệt hoá trong acid acetic 5% trong 30 phút.
- Rửa nước cất.
- Biệt hoá lần nữa trong acid chlorhydric, 0,5% trong 3 phút.
- Rửa trong nước cất.
- Gắn lá kính bằng glycerogel.

IV. KẾT QUẢ

Các photpholipid: màu xanh.

105. NHUỘM LIPID TRUNG TÍNH VÀ ACID BẰNG SUNFAT XANH LỢ NİL (THEO DUNNIGAN)

I. NGUYÊN TẮC

Nhuộm để phân biệt giữa các lipid trung tính và acid bằng một phẩm nhuộm phức tạp, sunfat xanh lơ Nil. Phẩm này còn có một lysochrom, đỏ Nil, nhuộm màu hồng các lipid ở trạng thái lỏng, ngoài ra còn có một chất màu base, xanh lơ Nil nhuộm những vật thể có phản ứng acid.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: glycerogel hoặc sirô Apathy.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm sunfat xanh lơ Nil

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

– Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát.

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt, cắt thành các mảnh có độ dày 10 μ . Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây và nhúng vào nước cất. Cắt 3 mảnh.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Pha phẩm nhuộm

Dung dịch sunfat xanh lơ Nil bão hoà trong nước 20⁰: 500ml

Acid sunfuric 0,5%: 50ml

Đun sôi hỗn hợp trên trong 2 giờ trước khi dùng ở 60⁰C.

Dùng ngay trong 90 phút.

4.2. Nhuộm

- Lấy một vài mảnh cắt, chiết xuất bằng acetone trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng thí nghiệm.
- Nhuộm các mảnh cắt đã được xử lý và chưa xử lý bằng chiết xuất trong dung dịch sunfat Xanh lơ Nil (điều chế như trong phương pháp Menschick), trong 30 phút ở nhiệt độ 70°C .
- Rửa mạnh các mảnh cắt ở nước cất 70°C và gắn lá kính bằng glycerogel.
- Cùng một lúc nhuộm các mảnh cắt đã được chiết xuất và không chiết xuất bằng đen Soudan B trong cồn 70° trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng.
- Rửa nhanh trong cồn 70° và rửa nước cất, gắn lá kính bằng glycerogel.

IV. KẾT QUẢ

1. Các mảnh cắt nhuộm bằng sunfat xanh lơ Nil

Trên các mảnh cắt không bị chiết xuất:

Photpholipid: xanh

Các lipid trung tính (triglycerit và cholesterit): đỏ

Acid béo tự do: đỏ thẫm

Chú thích: cholesterol và các sterol tự do khác không nhuộm. Sự chiết xuất làm tăng độ chính xác của sự khu trú các photpholipid do đã loại các lipid kỵ nước.

2. Các mảnh cắt nhuộm đen Soudan dùng để kiểm tra

Sự đánh giá các mảnh cắt bắt màu sunfat xanh lơ Nil chỉ có thể ứng dụng cho các chất mà tính chất lipid đã được chứng minh do bắt màu đen Soudan.

106. NHUỘM PHÁT HIỆN ADENOSIN TRIPHOSPHATASE (ATPase)

I. NGUYÊN TẮC

Phản ứng ATPase là kỹ thuật ngấm bạc được Wachstein và cộng sự mô tả lần đầu năm 1960. Enzym này có thể tạo ra photphat từ cơ chất adenosin triphotphat (ATP). Trong phương pháp chì của Wachstein, ion photphat được giải phóng sẽ kết hợp với ion chì để tạo chất tủa là chì photphat. Chất tủa này có khả năng biến đổi thành chì sunfit khi được xử lý bằng ammonium sunfit hòa tan. Chất này sẽ tạo tủa màu đen hoặc nâu sẫm tại vị trí có enzym hoạt động. ATP cũng có thể được phát hiện bằng kỹ thuật ngấm kim loại tương tự phương pháp calcium – cobalt được Gomori mô tả giống kỹ thuật phát hiện photphatase kiềm. Kỹ thuật này thường được sử dụng để nhuộm các bệnh phẩm sinh thiết cơ xương.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- -Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chôi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: bằng thạch glicerol hoặc DPX.
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.4.1 dưới đây), gồm: ATP, cobalt - chlorit, ammonium sunfit, đệm glycine 0,1 M, đệm glycine 0,1M với CaCl_2 0,75M, đệm veronal-acetat 0,1M pH 4,2 và pH 4,6; NaOH 0,1M; HCl 0,1M, hematoxylin Harris.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ BN được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.
- Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.
- Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.
- Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.
- Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát
- Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.
- Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

- Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).
- Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.
- Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.
- Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

4.1.1. Đệm glycin 0,1 M

Glycin:	0,75g
NaCl:	0,585g
Nước cất:	100ml

4.1.2. Đệm glycin 0,1M với CaCl₂ 0,75M

Đệm glycin 0,1M (dung dịch A):	50ml
CaCl ₂ 0,75M (11,03g CaCl ₂ /2H ₂ O pha trong 100ml nước cất):	10ml

Trộn lẫn, sau đó cho thêm khoảng 22ml NaOH 0,1M cho tới khi pH = 9,4

4.1.3. Dung dịch đệm veronal-acetat 0,1M, pH 4,2 và pH 4,6

4.1.4. Dung dịch ủ

ATP:	5mg
Dung dịch B:	10ml

Thêm NaOH 0,1M hoặc HCl 0,1M cho tới pH = 9,4

4.2. Tiến hành nhuộm

- Trường hợp nhuộm với pH 9,4:
 - + Ủ mảnh cắt lạnh trong dung dịch ủ (d) ở 37°C
 - + Rửa kỹ trong nước cất
 - + Nhúng trong cobalt-chlorit 2% trong 5 phút
 - + Rửa kỹ dưới vòi nước chảy, sau đó tráng 3 lần nước cất.
 - + Nhúng trong dung dịch ammonium sunfit pha loãng 1:10 trong 30 giây (trong tủ hút).
 - + Rửa kỹ dưới vòi nước chảy.
 - + Nhuộm nhanh trong hematoxylin Harris.
 - + Gắn bằng thạch glycerin hoặc khử nước, làm trong và gắn DPX.
- Trường hợp nhuộm với pH 4,2 – 4,6:
 - + Mảnh cắt lạnh được xử lý trước khi ủ bằng đệm veronal – acetat 0,1 M ở 4°C × 10 phút
 - + Rửa nhanh trong nước cất.
 - + Ủ mảnh cắt lạnh trong dung dịch ủ (d) ở 37°C

- + Rửa kỹ trong nước cất
- + Nhúng trong cobalt chlorit 2% trong 5 phút
- + Rửa kỹ dưới vòi nước chảy sau đó tráng 3 lần nước cất.
- + Nhúng trong dung dịch ammonium sunfit pha loãng 1:10 trong 30 giây (trong tủ hút).
- + Rửa kỹ dưới vòi nước chảy.
- + Nhuộm nhanh trong hematoxylin Harris.
- + Gắn bằng thạch glycerin hoặc khử nước, làm trong và gắn DPX.

IV. KẾT QUẢ

Typ sợi cơ	ATPase pH 4,2	ATPase pH 4,6	ATPase pH 9,4	NADH diaphorase SDH và LDH	Phosphorylase
Typ 1	+++	+++	+	+++	+/-
Typ 2A	-	-	+++	++	+++
Typ 2B	-	+++	+++	+	+++
Typ 2C	+	+++	+++	++	+++

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Chỉ trong trường hợp pH 4,2, mảnh cắt mới cần nhuộm đổi màu trong hematoxylin.
- Mảnh cắt phải được rửa rất kỹ sau bước cobalt - chlorit và ammonium sunfit để tránh hiện tượng dương tính giả.

107. NHUỘM PHOTPHATASE KIỀM

I. NGUYÊN TẮC

Photphatase kiềm thường có mặt ở màng tế bào của mô thận cũng như nhiều mô khác của cơ thể. Enzym thủy phân cơ chất sodium α - naphthyl photphat để sinh ra α - naphthol không hòa tan. Sản phẩm phản ứng đầu tiên này sẽ liên kết với muối diazonium thích hợp (fast red TR) để tạo ra màu đỏ của phẩm azo không hòa tan, đồng thời chúng đọng lại tại vị trí enzym. Như vậy, qua màu sắc của phẩm nhuộm, người ta biết được vị trí và mức độ hoạt động của enzym cần nghiên cứu.

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, hoá chất

- Máy cắt lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cắt lạnh
- Gắn lá kính: thạch glycerin
- Cồn tuyệt đối
- Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn ở III.4.1 dưới đây), bao gồm: sodium α - naphthyl photphat, đệm Tris, fast red TR.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

- Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.

- Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

- Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

- Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

- Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

- Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

- Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

- Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tractor đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

- Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

- Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.

- Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm) sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

Chuẩn bị môi trường ủ

Sodium α - naphthyl photphat: 10 mg

0,2 M đệm Tris (dd A lưu trữ) pH 10: 10 ml

Muối diazonium (fast red TR): 10 mg

pH cuối cùng của môi trường ủ phải trong khoảng 9,0 – 9,4.

4.2. Tiến hành kỹ thuật

- Ủ mảnh cắt lạnh trong môi trường ủ ở 37 °C, khoảng 15 – 60 phút
- Rửa bằng nước cất
- Nhuộm đổi màu bằng xanh metyl 2%
- Rửa dưới vòi nước chảy
- Gắn lá kính bằng thạch glycerin

IV. KẾT QUẢ

- Hoạt tính của photphatase kiềm: nâu hơi đỏ
- Nhân: xanh

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

pH cuối cùng của dung dịch ủ phải đạt khoảng 9,2. Nếu sử dụng mảnh cắt parafin, thời gian ủ cần kéo dài hơn.

108. NHUỘM GOMORI CHỈ PHÁT HIỆN PHOSPHATASE ACID

I. NGUYÊN TẮC

Phosphatase acid thường có mặt ở màng tế bào của mô thận cũng như nhiều mô khác của cơ thể. Enzym thủy phân cơ chất Sodium β - glycerophosphat để sinh ra β - glycerol không hòa tan. Sản phẩm phản ứng đầu tiên này sẽ liên kết với chỉ nitrat để tạo ra màu đen của phẩm azo không hòa tan, đồng thời chúng đọng lại tại vị trí enzym. Như vậy, qua màu sắc của phẩm nhuộm, người ta biết được vị trí và mức độ hoạt động của enzym cần nghiên cứu.

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, hoá chất

- Máy cất lạnh đã ở trạng thái sẵn sàng hoạt động
- Dao sắc, thớt nhựa sạch, phẳng
- Bộ dụng cụ phẫu tích bệnh phẩm
- Phiến kính, lá kính sạch
- Bút chì mềm (để ghi tên tuổi người bệnh, mã số tiêu bản trên phiến kính).
- Giấy thấm, gạc sạch
- Găng tay, khẩu trang, mũ, kính bảo vệ mắt và quần áo bảo hộ.
- Chổi lông mềm
- Gel cất lạnh
- Cồn tuyệt đối
- Gắn lá kính: thạch glycerin.

– Phẩm nhuộm (hoặc dùng phẩm nhuộm có sẵn của các hãng hoặc pha như hướng dẫn dưới đây) bao gồm: sodium β -glycerophosphat, chỉ nitrat, đệm acetat pH 5,0; ammonium sunfit, xanh metyl hoặc carmalum theo Mayer.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị

– Bệnh phẩm sau khi lấy ra từ người bệnh được gửi ngay đến khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

– Kỹ thuật viên tiếp nhận, ghi các thông tin về người bệnh vào sổ đăng ký và mã số người bệnh.

– Ghi mã số của người bệnh vào phiếu kính và dán mã số vào hộp đựng bệnh phẩm.

2. Cắt lọc bệnh phẩm

– Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học quan sát bệnh phẩm, mô tả kỹ về loại bệnh phẩm, số lượng, đo kích thước, màu sắc, tính chất, mặt cắt... của bệnh phẩm, xác định vùng tổn thương cần lấy mẫu cắt lạnh.

– Động tác lấy bệnh phẩm phải nhẹ nhàng, tránh gây dập nát hay biến đổi do tác động cơ học.

– Không kẹp vào vùng định lấy mẫu xét nghiệm, không rửa mẫu mô.

– Dùng dao sắc cắt theo một hướng, sao cho đường cắt gọn, không bị dập nát

– Kích thước của mảnh mô được cắt tùy theo kích thước của vật giá mẫu bệnh phẩm của máy cắt lạnh, thông thường kích thước 1 x 1 x 0,2cm.

– Số lượng mảnh cắt tùy từng trường hợp.

3. Làm lạnh mẫu bệnh phẩm và cắt mảnh mô

– Đặt mẫu bệnh phẩm vào giá đúc lạnh rồi đưa ngay vào vị trí tương ứng trên thanh làm lạnh (Cryobar) trong buồng làm lạnh của máy, phủ gel cắt lạnh, xoay khối Head tracter đặt lên trên khuôn đúc chứa bệnh phẩm rồi đóng kín cửa kính phía trên buồng máy, chờ cho đến khi khối bệnh phẩm đông cứng (có màu trắng).

– Mẫu mô sau khi đã đông cứng được cắt thành những lát thật mỏng. Bắt đầu cắt thô với độ dày từ 10-15 micromet để tạo mặt phẳng. Sau đó điều chỉnh độ dày lát cắt từ 2-5 micromet. Quay máy cắt với nhịp độ vừa phải.

– Kết hợp với chổi lông mềm dàn mảnh mô lên phiếu kính.

– Cố định mảnh mô: (để cấu trúc mô và tế bào giữ nguyên hình dáng và bắt màu thuốc nhuộm), sau khi lát cắt được dàn lên phiếu kính, phải được cố định ngay bằng cồn tuyệt đối 95-96⁰ hoặc cồn acetic-formol trong 20 giây.

4. Nhuộm mảnh cắt

4.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

– Chuẩn bị dung dịch ủ

0,05M đệm acetat pH 5,0:	10 ml
Sodium β-glycerophotphat:	32 mg
Chì nitrat:	20 mg

Lưu ý: chì nitrat phải được hòa tan trong dung dịch đệm trước khi cho thêm sodium β -glycerophotphat. Môi trường ủ phải có độ pH gần bằng 5,0.

4.2. Tiến hành kỹ thuật

- Ủ mảnh cắt trong dung dịch ủ, ở 37 °C, khoảng nửa giờ - 2 giờ
- Rửa bằng nước cất.
- Nhúng trong dung dịch ammonium sunfit 1% trong 2 phút.
- Rửa kỹ trong nước cất.
- Nhuộm đổi màu hoặc bằng xanh metyl 2% hoặc carmalum theo Mayer.
- Rửa dưới vòi nước.
- Gắn lá kính bằng thạch glycerin.

IV. KẾT QUẢ

Photphatase acid: màu đen

Nhân: xanh lá cây hoặc đỏ

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Chì nitrat phải được hòa tan trong dung dịch đệm trước khi cho thêm sodium β -glycerophotphat. Môi trường ủ phải có độ pH gần bằng 5,0.

Nên lấy các chất phản ứng ra khỏi tủ lạnh và để ở nhiệt độ phòng trong thời gian trước khi tiến hành quy trình nhuộm để phản ứng enzym có thể diễn ra nhanh hơn.

PHẦN V

CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT MIỄN DỊCH VÀ SINH HỌC PHÂN TỬ

109. NHUỘM HÓA MÔ MIỄN DỊCH CHO MỘT DẤU ẤN (cho các mảnh cắt parafin)

I. NGUYÊN TẮC

Hoá mô miễn dịch (HMMD) là sự kết hợp của hai chuyên ngành miễn dịch học và mô học, trong đó có việc ứng dụng các nguyên lý và các kỹ thuật của miễn dịch học để nghiên cứu tế bào và mô. Kỹ thuật hoá mô miễn dịch được sử dụng không chỉ để xác định xem một mô có biểu hiện (hay không biểu hiện) một kháng nguyên riêng biệt mà còn xác định tình trạng kháng nguyên của các tế bào riêng biệt trong mô đó và vị trí của các kháng nguyên này trong cấu trúc tế bào. Hoá mô miễn dịch giúp chẩn đoán phân biệt về bản chất và nguồn gốc của tế bào, bản chất của mô u thông qua sự hiện diện của một số kháng nguyên đặc hiệu, đặc biệt trong trường hợp các mô kém biệt hoá hoặc không biệt hoá trên mô học. Trong một số trường hợp, HMMD giúp cho việc chẩn đoán phân biệt giữa u lành và u ác, chẳng hạn như sử dụng một số dấu ấn miễn dịch trong chẩn đoán phân biệt các u lympho ác tính với các tổn thương khác của hạch. Hoá mô miễn dịch còn giúp xác định các dấu hiệu của thành phần tế bào ở mức sinh học phân tử, qua đó người ta có thể tìm thấy mối liên quan giữa tình trạng của tế bào và mô với các rối loạn về quá trình phát triển như quá trình phát sinh, phát triển của mô ung thư (các dấu hiệu liên quan đến gen ung thư, yếu tố phát triển bì, yếu tố tăng sinh...) hoặc các rối loạn khác như rối loạn chuyển hoá, rối loạn do viêm, nhiễm trùng gây ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện, hóa chất chung

- Dung dịch cố định bệnh phẩm.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 95⁰, 100⁰).
- Xylen hay toluen.
- Nước cất 2 lần.
- Parafin.
- Sáp ong.
- Albumin + glycerin.
- Máy đo độ pH điện tử.
- Máy chuyển bệnh phẩm tự động.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xylen.
- Hộp bằng thép không rỉ đựng parafin.
- Khuôn nhựa.
- Giá đựng tiêu bản (đứng và nằm ngang).
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút bằng nhựa, ống hút tự động.
- Kẹp không máu, kéo.

- Máy đúc khối parafin.
- Bàn hơi dùng điện.
- Máy cắt lát mỏng (microtome).
- Lưỡi dao cắt lát mỏng.
- Lò nấu parafin.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Cân phân tích.
- Giấy lọc.
- Phiến kính, lá kính.
- Acid picric ngâm, làm sạch phiến kính.
- Gắn lá kính bằng Resin nếu dùng DAB hoặc Geltol nếu dùng EAC
- Kính hiển vi 2 mắt để kiểm tra kết quả nhuộm.
- Kính phòng hộ, găng tay các loại, mặt nạ phẫu thuật, áo choàng phẫu thuật.

2.2. Phương tiện, hóa chất riêng biệt cho kỹ thuật

- Trang thiết bị:
 - + Lò vi sóng hoặc nồi áp suất hoặc sử dụng proteinase K*.
 - + Phiến kính có tráng chất gắn Silan (3-aminopropyltriethoxy-silane).
- Phẩm nhuộm:
 - + Dung dịch H₂O₂ 3%.
 - + Các kháng thể (dấu ấn) mua của các hãng cung cấp (theo bộ, kể cả chứng). Mỗi loại kháng thể có cách thức pha loãng khác nhau theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
 - + Hematoxylin để nhuộm nhân tế bào.
- + Pha dung dịch đệm:
 - Đệm TBS (tris buffer Saline) pH 7,2.
 - Dung dịch đệm citrat, pH 6,0.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Cố định

Bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể được cố định ngay trong dung dịch formol đệm trung tính 10% với tỷ lệ thể tích dung dịch cố định nhiều gấp 20 - 30 lần thể tích bệnh phẩm. Thời gian cố định thông thường từ 2-24 giờ tùy theo mảnh bệnh phẩm to hay nhỏ. Sau cố định, bệnh phẩm được thực hiện qua các khâu kỹ thuật sau:

2. Chuyển bệnh phẩm

3. Vùi parafin

4. Đúc khối parafin

5. Cắt và dán mảnh cắt

Các mảnh cắt dày 3-4 μm , dán lên phiến kính đã được tráng Silan (3-aminopropyl-triethoxy-silane).

6. Nhuộm hóa mô miễn dịch theo các bước như sau:

- Sấy khô các phiến kính có lát cắt ở tủ ẩm 37°C : 12 giờ (qua đêm)
- Khử parafin : 10 phút
- Nhúng nước cất : 5 phút
- Khử peroxidase nội sinh bằng dung dịch H_2O_2 3% : 5 phút
- Rửa các phiến kính có lát cắt bằng nước cất : 5 phút
- Bộc lộ kháng nguyên: bằng đun cách thủy trong nồi áp suất hoặc trong lò vi sóng hoặc sử dụng proteinase K*.
- Rửa nước cất : 5 phút
- Rửa các mảnh cắt bằng dung dịch TBS : 6 phút
(Qua 2 bể, mỗi bể 3 phút)
- Ủ với kháng thể thứ nhất (primary antibody) : 60 phút
- Rửa bằng dung dịch TBS : 6 phút
(Qua 2 bể, mỗi bể 3 phút)
- Ủ với kháng thể thứ hai có gắn với biotin : 30 phút
(Biotinylated secondary antibody)
- Rửa bằng dung dịch TBS : 6 phút
(Qua 2 bể, mỗi bể 3 phút)
- Ủ với phức hợp ABC hoặc streptavidin peroxidase : 30 phút
- Rửa phiến kính có lát cắt bằng dung dịch TBS : 6 phút
(Qua 2 bể, mỗi bể 3 phút)
- Phủ dung dịch tạo màu DAB (Diamino benzidin) hoặc EAC (3-amino-9-ethylcarbazole) : 10 phút
- Rửa phiến kính có lát cắt bằng dung dịch TBS : 6 phút
(Qua 2 bể, mỗi bể 3 phút)
- Nhuộm nhân: bằng Hematoxylin : 1 phút
- Rửa nước chảy:
 - * Nếu dùng DAB thì tiếp tục khử nước.
- Khử nước bằng cồn, rồi qua xylene
- Gắn lá kính bằng Resin nếu dùng DAB hoặc Geltol nếu dùng EAC.

IV. KẾT QUẢ

– Dương tính: có sự hiện diện của phức hợp kháng nguyên - kháng thể trên tế bào và mô, được hiển thị bằng màu vàng nâu (nếu dùng DAB) hoặc màu đỏ (nếu dùng EAC).

– Âm tính: không có sự hiện diện của phức hợp kháng nguyên - kháng thể trên tế bào và mô, không được hiển thị bằng màu vàng nâu (nếu dùng DAB) hoặc màu đỏ (nếu dùng EAC).

– Nhân tế bào bắt màu xanh tím của Hematoxylin.

Kiểm tra chất lượng:

– Trong khi tiến hành nhuộm HMMD, việc kiểm tra chất lượng là hết sức quan trọng, để đảm bảo loại trừ các khả năng dương tính giả và âm tính giả. Phải có các mảnh cắt chứng dương tính và âm tính được nhuộm kèm theo.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Nếu bệnh phẩm không được cố định trong dung dịch formol đậm trung tính 10% thì khả năng bộc lộ kháng nguyên rất thấp.

– Thời gian cố định quá lâu có thể làm mất tính kháng nguyên của mô, do đó, thời gian cố định tối đa là 6 giờ (bệnh phẩm sinh thiết nhỏ), 48 giờ (bệnh phẩm lớn).

– Cần pha kháng thể theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tìm một nồng độ thích hợp nhất để tránh âm tính giả hoặc dương tính giả.

– Luôn kiểm tra hạn sử dụng của các kháng thể, nhất là với các kháng thể đã sử dụng còn dư từ lần nhuộm trước.

– Tuân thủ quy trình kiểm tra chất lượng.

110. NHUỘM MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG TRỰC TIẾP PHÁT HIỆN KHÁNG NGUYÊN

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang cũng tương tự kỹ thuật hoá mô miễn dịch: có sự kết hợp giữa kỹ thuật mô bệnh học với kỹ thuật miễn dịch học, nhưng sự khác biệt là: trong miễn dịch huỳnh quang, chất đánh dấu là các kháng thể được gắn với một chất nhuộm huỳnh quang (fluorochrome) có đặc tính phát quang dưới kích thích của nguồn sáng là tia cực tím. Trong phương pháp miễn dịch huỳnh quang trực tiếp, muốn phát hiện mỗi kháng nguyên lại cần có một kháng thể huỳnh quang tương ứng.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy cắt lạnh
- Phiến kính
- Lá kính
- Kính hiển vi huỳnh quang
- Giá đựng tiêu bản nằm ngang
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút tự động
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Tủ ấm 37°.
- Cồn - ete tỷ lệ 1/1.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính, parafin nóng chảy.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.
- Dung dịch đệm photphat pH 7,2.

- Dung dịch glycerin đậm photphat 1%.
- Kháng thể huỳnh quang.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bệnh phẩm tươi (chưa cố định) được tiến hành cắt lạnh theo quy trình cắt lạnh bệnh phẩm.

- Cắt các lát mỏng, có độ dày 5 μ m.
- Kháng thể huỳnh quang đã pha theo chuẩn độ, thông thường là 1/80.

- Nhỏ lên các mảnh cắt đã được cố định trên phiến kính từ 1-3 giọt kháng thể huỳnh quang, để 30 phút trong một hộp ẩm, kín, ở nhiệt độ 37⁰C.

- Đổ kháng thể huỳnh quang thừa đi rồi tráng kỹ và nhẹ nhàng bằng dung dịch đậm photphat pH 7,2.

- Ngâm bằng dung dịch đậm photphat pH 7,2 trong 30 phút x 2 lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.

- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt glycerin đậm photphat 1%, đặt bằng lá kính. Gắn xung quanh lá kính bằng parafin hoặc bằng bất cứ loại nhựa nào, đảm bảo không làm khô mảnh cắt.

- Ví dụ: muốn phát hiện virus dại trong bệnh phẩm mô não người hoặc não súc vật, lấy bệnh phẩm làm phiến đồ hoặc làm các mảnh cắt lạnh và cố định cồn + ete hoặc bằng acetone.

- Nhỏ lên phiến kính một giọt globulin của kháng huyết thanh kháng virus dại đã đánh dấu bằng thuốc nhuộm huỳnh quang. Trường hợp dương tính, sẽ thấy rõ các tiểu thể Negri trong tế bào thần kinh bắt huỳnh quang màu xanh lục.

IV. KẾT QUẢ

Kháng nguyên cần phát hiện có màu xanh lục.

111. NHUỘM MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG GIÁN TIẾP PHÁT HIỆN KHÁNG NGUYÊN

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang cũng tương tự kỹ thuật hoá mô miễn dịch: có sự kết hợp giữa kỹ thuật mô bệnh học với kỹ thuật miễn dịch học, nhưng sự khác biệt là: trong miễn dịch huỳnh quang, chất đánh dấu là các kháng thể được gắn với một chất nhuộm huỳnh quang (fluorochrome) có đặc tính phát quang dưới kích thích của nguồn sáng là tia cực tím. Trong phương pháp gián tiếp, chỉ cần một số kháng thể huỳnh quang đặc hiệu đối với từng loại để phát hiện tất cả những kháng nguyên khác nhau, nhưng do cường độ huỳnh quang đặc hiệu thường lớn hơn, có thể phát hiện được cả những phần tử kháng nguyên rất nhỏ.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy cắt lạnh
- Phiến kính
- Lá kính
- Kính hiển vi huỳnh quang
- Giá đựng tiêu bản nằm ngang
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút tự động
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Tủ ấm 37°.
- Cồn - ete tỷ lệ 1/1.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính, parafin nóng chảy.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.

- Dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Dung dịch glycerin đệm photphat 1%.
- Kháng huyết thanh.
- Kháng kháng thể huỳnh quang

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bệnh phẩm tươi (chưa cố định) được tiến hành cắt lạnh theo quy trình cắt lạnh bệnh phẩm.

- Cắt các lát mỏng, có độ dày 5 μ m.
- Kháng huyết thanh đã pha theo chuẩn độ, thông thường là 1/80.
- Nhỏ lên các mảnh cắt đã được cố định trên phiến kính 1-3 giọt kháng huyết thanh, để 30 phút trong một hộp ẩm, kín, ở nhiệt độ 37⁰C.
- Đổ huyết thanh thừa đi rồi tráng kỹ và nhẹ nhàng bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Ngâm bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2 trong 30 phút x 2 lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt kháng kháng thể huỳnh quang, để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ kháng kháng thể huỳnh quang thừa đi, tráng kỹ.
- Ngâm bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2 trong 10 phút x 2 lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường, khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt glycerin đệm photphat. Đặt lá kính. Gắn rìa lá kính vào phiến kính bằng parafin.

Thí dụ: muốn phát hiện các tế bào ung thư của ung thư nguyên bào nuôi trong bệnh phẩm nạo buồng tử cung, lấy bệnh phẩm làm phiến đồ hoặc làm các mảnh cắt lạnh, cố định bằng cồn-ete hoặc bằng aceton lạnh trong 30 phút.

- Nhỏ lên mảnh cắt một giọt kháng huyết thanh kháng ung thư biểu mô màng đệm (ví dụ: huyết thanh của thỏ đã được miễn dịch với các tế bào ung thư). Phức hợp kháng nguyên kháng thể (không huỳnh quang) được hình thành. Sau đó nhỏ lên các mảnh cắt một giọt globulin - kháng globulin thỏ đã đánh dấu (kháng kháng thể huỳnh quang), kháng kháng thể huỳnh quang sẽ kết hợp đặc hiệu với globulin của huyết thanh thỏ và phức hợp kháng nguyên - kháng thể - kháng kháng thể huỳnh quang được hình thành.

Trong trường hợp dương tính, sẽ thấy rõ các tế bào ung thư bắt huỳnh quang màu xanh lá cây.

IV. KẾT QUẢ

Kháng nguyên cần phát hiện có màu xanh lá cây.

112. KỸ THUẬT KHÁNG BỔ THỂ HUỖNH QUANG PHÁT HIỆN KHÁNG NGUYÊN

I. NGUYÊN TẮC

Nguyên lý của phương pháp này về cơ bản cũng tương tự nguyên lý của phương pháp huỳnh quang gián tiếp. Ở đây, có thêm hệ thống bổ thể - kháng bổ thể huỳnh quang làm cho việc phát hiện tất cả các loại kháng nguyên chỉ cần có một kháng thể huỳnh quang duy nhất là globulin kháng globulin chuột lang đánh dấu; trong khi ở phương pháp gián tiếp, cần phải có những kháng thể huỳnh quang đặc hiệu cho từng loại (ví dụ: globulin kháng globulin người, globulin kháng globulin thỏ, globulin kháng globulin ngựa ...).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy cắt lạnh
- Phiến kính
- Lá kính
- Kính hiển vi huỳnh quang
- Giá đựng tiêu bản nằm ngang
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút tự động
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Tủ ấm 37°.
- Cồn - ete tỷ lệ 1/1.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính, parafin nóng chảy.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.
- Dung dịch đệm photphat pH 7,2.

- Dung dịch glycerin đệm photphat 1%.
- Kháng huyết thanh, đặc hiệu- bổ thể.
- Kháng kháng thể huỳnh quang

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bệnh phẩm tươi (chưa cố định) được tiến hành làm phiến đồ hoặc cắt lạnh theo quy trình cắt lạnh bệnh phẩm.

- Cắt các lát mỏng, có độ dày 5 μ m.
- Nhỏ lên các mảnh cắt đã cố định trên các phiến kính: kháng huyết thanh đặc hiệu.
- Bổ thể (đã pha 1:5 đến 1:10 tùy theo chuẩn độ) để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ huyết thanh thừa đi, tráng kỹ nhẹ nhàng bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Ngâm 30 phút trong dung dịch đệm trên, thay đổi hai lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một vài giọt bổ thể đã đánh dấu, để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ kháng thể - bổ thể thừa đi rồi tráng kỹ và nhẹ nhàng bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Ngâm bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2 trong 30 phút x hai lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt glycerin đệm photphat 1%, đặt bằng lá kính. Gắn xung quanh lá kính bằng parafin hoặc băng bất cứ loại nhựa nào, đảm bảo không làm khô mảnh cắt.

IV. KẾT QUẢ

Kháng thể cần phát hiện có màu xanh lá cây.

113. NHUỘM MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG GIÁN TIẾP PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang cũng tương tự kỹ thuật hoá mô miễn dịch: có sự kết hợp giữa kỹ thuật mô bệnh học và kỹ thuật miễn dịch học, nhưng sự khác biệt là: trong miễn dịch huỳnh quang, chất đánh dấu là các kháng nguyên được gắn với một chất nhuộm huỳnh quang (fluorochrome) có đặc tính phát quang dưới kích thích của nguồn sáng là tia cực tím. Trong phương pháp nhuộm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp, trên các mảnh cắt là các kháng nguyên đã biết. Nhỏ lên các mảnh cắt một giọt huyết thanh Người bệnh (đã pha loãng theo yêu cầu của từng trường hợp chẩn đoán). Nếu trong huyết thanh Người bệnh có kháng thể tương ứng với kháng nguyên ở các mảnh cắt thì phức hợp kháng nguyên - kháng thể sẽ hình thành. Phức hợp này có thể phát hiện được nếu nhỏ lên trên đó một giọt globulin kháng globulin huỳnh quang (kháng người). Vì vậy, khi kháng nguyên bắt màu huỳnh quang có nghĩa là trong huyết thanh Người bệnh có kháng thể.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy cắt lạnh.
- Phiến kính.
- Lá kính.
- Kính hiển vi huỳnh quang.
- Giá đựng tiêu bản nằm ngang.
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút tự động.
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Tủ ấm 37°.
- Cồn - ete tỷ lệ 1/1.

- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính, parafin nóng chảy.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.
- Dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Dung dịch glycerin đệm photphat 1%.
- Huyết thanh người bệnh.
- Globulin kháng globulin gắn huỳnh quang.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bệnh phẩm tươi (chưa cố định) được tiến hành cắt lạnh theo quy trình cắt lạnh bệnh phẩm.
 - Cắt các lát mỏng, có độ dày 5 μ m.
 - Ly tâm máu người bệnh lấy huyết thanh.
 - Nhỏ lên trên các mảnh cắt đã được cố định trên các phiến kính từ 1 đến 3 giọt huyết thanh, để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
 - Đổ huyết thanh thừa đi, tráng kỹ nhẹ nhàng bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2.
 - Ngâm 30 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
 - Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
 - Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên các mảnh cắt một giọt kháng globulin huỳnh quang để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
 - Đổ globulin - kháng globulin huỳnh quang thừa đi, tráng kỹ.
 - Ngâm 10 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
 - Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
 - Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt glycerin đệm photphat 1%, đặt bằng lá kính. Gắn xung quanh lá kính bằng parafin hoặc bằng bất cứ loại nhựa nào, đảm bảo không làm khô mảnh cắt.

IV. KẾT QUẢ

Kháng thể cần phát hiện có màu xanh lá cây.

114. KỸ THUẬT ỨC CHẾ HUỖNH QUANG PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ

I. NGUYÊN TẮC

Nhỏ lên trên mảnh cắt một giọt huyết thanh người bệnh (đã được pha loãng theo yêu cầu của từng trường hợp chẩn đoán). Nếu trong huyết thanh người bệnh có kháng thể tương ứng với kháng nguyên ở mảnh cắt thì phức hợp kháng nguyên - kháng thể được hình thành, tức là kháng thể đã tiếp cận với kháng nguyên. Sau đó, nếu nhỏ lên một giọt kháng thể đánh dấu thuốc nhuộm huỳnh quang tương ứng với kháng nguyên của mảnh cắt thì kháng thể này không còn chỗ để kết hợp với kháng nguyên nữa, vì các vị trí tiếp nhận của kháng nguyên đã bị chiếm lĩnh. Vì vậy, khi kháng nguyên không bắt màu huỳnh quang có nghĩa là trong huyết thanh người bệnh có kháng thể.

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy cắt lạnh
- Phiến kính
- Lá kính
- Kính hiển vi huỳnh quang
- Giá đựng tiêu bản nằm ngang
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút tự động
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Tủ ấm 37°.
- Cồn - ete tỷ lệ 1/1.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính, parafin nóng chảy.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.

- Dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Dung dịch glycerin đệm photphat 1%.
- Huyết thanh Người bệnh.
- Kháng thể kháng kháng nguyên gắn huỳnh quang.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bệnh phẩm tươi có kháng nguyên đã biết (không cố định).
- Cắt bệnh phẩm bằng máy cắt lạnh thành các lát mỏng có độ dày 5µm theo quy trình cắt lạnh bệnh phẩm.
- Ly tâm máu người bệnh lấy huyết thanh.
- Nhỏ lên trên các mảnh cắt đã cố định trên các phiến kính từ 1 đến 3 giọt huyết thanh, để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ huyết thanh thừa đi, tráng kỹ nhẹ nhàng bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Ngâm 30 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên các mảnh cắt một giọt kháng thể kháng kháng nguyên gắn huỳnh quang để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ kháng thể kháng kháng nguyên gắn huỳnh quang thừa đi, tráng kỹ.
- Ngâm 10 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt glycerin đệm photphat 1%, đặt bằng lá kính. Gắn xung quanh lá kính bằng parafin hoặc bằng bất cứ loại nhựa nào, đảm bảo không làm khô mảnh cắt.

IV. KẾT QUẢ

Khi kháng nguyên không bắt màu huỳnh quang có nghĩa là trong huyết thanh người bệnh có kháng thể.

115. KỸ THUẬT KHÁNG BỔ THỂ HUỖNH QUANG PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ

I. NGUYÊN TẮC

Các mảnh cắt chứa kháng nguyên đã biết, nhỏ lên các mảnh cắt một giọt huyết thanh Người bệnh (đã làm mất hoạt tính) và một giọt bổ thể (huyết thanh tươi của chuột lang). Nếu trong huyết thanh Người bệnh có kháng thể tương ứng với kháng nguyên ở các mảnh cắt thì sẽ hình thành một phức hợp kháng nguyên - kháng thể - bổ thể. Phức hợp này có thể phát hiện bằng một kháng thể huỳnh quang (globulin kháng globulin chuột lang đã được đánh dấu), khi có hiện tượng huỳnh quang là phản ứng dương tính (chỉ áp dụng được phương pháp này trong việc phát hiện những kháng thể có khả năng kết hợp bổ thể mà thôi).

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: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy ly tâm
- Máy cắt lạnh
- Phiến kính
- Lá kính
- Kính hiển vi huỳnh quang
- Giá đựng tiêu bản nằm ngang
- Cốc đong loại 1000ml, 500ml, 100ml và 50ml.
- Ống hút tự động
- Ống hút bằng nhựa, quả bóp cao su hút hóa chất.
- Kẹp không máu, kéo.
- Tủ ấm 37°.
- Cồn - ete tỷ lệ 1/1.
- Bôm Canada hoặc keo gắn lá kính, parafin nóng chảy.
- Nguồn cấp nước chảy.

- Kính phòng hộ, găng tay, khẩu trang, áo choàng.
- Dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Dung dịch glycerin đệm photphat 1%.
- Huyết thanh người bệnh đã làm mất hoạt tính.
- Bỏ thể (huyết thanh tươi của chuột lang)
- Globulin kháng globulin chuột lang đã được gắn huỳnh quang.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bệnh phẩm tươi có kháng nguyên đã biết (không cố định).
- Cắt bệnh phẩm bằng máy cắt lạnh thành các lát mỏng có độ dày 5 μ m theo quy trình cắt lạnh bệnh phẩm.
- Ly tâm máu người bệnh lấy huyết thanh.
- Nhỏ lên trên các mảnh cắt đã cố định trên các phiến kính 1 giọt huyết thanh (đã làm mất hoạt tính) để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ huyết thanh thừa đi, tráng kỹ nhẹ nhàng bằng dung dịch đệm photphat pH 7,2.
- Ngâm 30 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên các mảnh cắt một giọt bỏ thể để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ kháng nguyên- bỏ thể thừa đi, tráng kỹ.
- Ngâm 10 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
- Nhỏ lên trên các mảnh cắt 1 giọt globulin kháng globulin chuột lang gắn huỳnh quang, để 30 phút trong hộp ẩm ở 37⁰C.
- Đổ globulin kháng globulin chuột lang gắn huỳnh quang thừa đi, tráng kỹ.
- Ngâm 10 phút trong dung dịch đệm photphat pH 7,2, thay đổi hai lần.
- Để ráo nước ở nhiệt độ thường.
- Khi các mảnh cắt còn hơi ẩm, nhỏ lên một giọt glycerin đệm photphat 1%, đặt bằng lá kính. Gắn xung quanh lá kính bằng parafin hoặc bằng bất cứ loại nhựa nào, đảm bảo không làm khô mảnh cắt.

IV. KẾT QUẢ

Kháng thể cần phát hiện có màu xanh lá cây.

116. KỸ THUẬT LAI TẠI CHỖ GẮN HUỖNH QUANG (FISH)

I. NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm lai tại chỗ gắn huỳnh quang (FISH) sử dụng mồi dò DNA gắn huỳnh quang để xác định khuếch đại gen Her-2/neu.

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
- Cử nhân sinh học (không bắt buộc): 01

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy ThermoBrite
- Kính hiển vi huỳnh quang
- Phiến kính, lá kính
- Máy cắt lát mỏng
- Lưỡi dao cắt lát mỏng
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰
- Tủ lạnh
- Ống hút.

2.2. Hóa chất

- Bộ kit PathVysion
- Cồn (70⁰, 80⁰, 85⁰, 90⁰, 100⁰).
- Xylen
- Dung dịch rửa.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị mẫu

- Mẫu mô được cắt mỏng 4 micromet, gắn lên phiến kính đã được tráng silan.

- Các mảnh cắt được ủ qua đêm ở nhiệt độ 56⁰C.
- Đánh dấu vùng tế bào u xâm lấn bằng bút viết kính.

2. Khử parafin của mảnh cắt

- Nhúng các mảnh cắt vào xylen 3 lần, mỗi lần 5 phút.
- Khử nước bằng cồn 90^o, 2 lần, mỗi lần 5 phút.
- Làm khô các mảnh cắt ở 45⁰C: 2-5 phút.
- Rửa nước cất 1 lần: 3 phút.
- Rửa các mảnh cắt bằng dung dịch đệm 1 lần: 3 phút.
- Nhúng trong dung dịch đệm nhiệt độ 80⁰C: 30 phút.
- Rửa nước cất 1 lần: 1 phút.
- Rửa bằng dung dịch đệm ở nhiệt độ phòng 2 lần, mỗi lần 5 phút.

3. Xử lý protease

- Các mảnh cắt được lau khô các vùng nước đọng.
- Ngâm trong dung dịch protease: 10-60 phút ở nhiệt độ 37⁰ C.
- Rửa bằng dung dịch đệm 2 lần, mỗi lần 5 phút.
- Làm khô ở 45⁰C: 2-5 phút.

4. Khử nước

- Cồn 70⁰: 1 phút, nhiệt độ phòng
- Cồn 85⁰: 1 phút, nhiệt độ phòng
- Cồn 100⁰: 1 phút, nhiệt độ phòng
- Làm khô ở 45⁰C: 2-5 phút.

5. Tách DNA và lai đồng thời

- Dùng máy ThermoBite, thực hiện công đoạn trong buồng tối.
- Làm ấm lọ chứa đoạn đầu dò bằng máy lắc.
- Lấy 5 µl đoạn dò, nhỏ lên vùng ung thư xâm nhập đã được đánh dấu.
- Gắn lá kính kích thước 22 mm x 22 mm, phủ mép lá kính bằng nhựa cao su.
- Kích hoạt chương trình của máy.
- Tách DNA ở 75⁰C: 5 phút.
- Lai đoạn dò DNA đích ở 37⁰C: 18 giờ, đảm bảo buồng lai tối.
- Tạo môi trường ẩm, đậy nắp.

- Rửa sau khi lai (thực hiện trong buồng tối).
- Làm nóng dung dịch rửa sau lai ở 72⁰C.
- Chuẩn bị một lọ dung dịch rửa sau lai ở nhiệt độ phòng.
- Nhúng các mảnh cắt vào lọ dung dịch sau lai ở nhiệt độ phòng, lắc nhẹ để lá kính rời ra.
- Lau những giọt nước đọng trên các phiến kính.
- Nhúng vào dung dịch sau lai ở nhiệt độ 72⁰C: 2 phút.
- Lau khô trong buồng tối.

6. Nhuộm màu tương phản nhân

- Nhỏ 5 µl DAPI vào vùng đã chọn.
- Dán lá kính.

7. Khảo sát tiêu bản

- Bảo quản tiêu bản vào hộp giấy bạc, giữ ở - 20⁰C, ít nhất 30 phút trước khi quan sát.
- Quan sát tiêu bản dưới kính hiển vi huỳnh quang có nhiều kính lọc các bước huỳnh quang.

IV. KẾT QUẢ

Đánh giá kết quả dựa vào tỷ lệ tín hiệu màu vàng (gen Her-2/neu) và tín hiệu màu xanh (nhiễm sắc thể 17).

Đếm tín hiệu trên 20 nhân tế bào u xâm nhập, các nhân tế bào được đếm phải tách rời, không chồng lên nhau.

- Tỷ lệ Her-2/NST17 < 1,8: không khuếch đại
- Tỷ lệ Her-2/NST17 ≥ 2,2: có khuếch đại
- Tỷ lệ 2,5 < Tỷ lệ Her-2/NST17 ≤ 5: khuếch đại thấp
- Tỷ lệ Her-2/NST17 > 5: khuếch đại cao
- 1,8 ≤ Tỷ lệ Her-2/NST17 < 2,2: khuếch đại giáp biên cần đếm lại hoặc đếm thêm trên 20 nhân tế bào u xâm nhập nữa.

Số lượng tín hiệu màu xanh lá cây sẽ xác định số lượng nhiễm sắc thể 17 tùy theo số lượng là 1, 2 và 3 hoặc nhiều hơn tương ứng nhiễm sắc thể 17 đơn bội, lưỡng bội và đa bội.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

KHÔNG CÓ TÍN HIỆU HOẶC TÍN HIỆU YẾU	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Khử parafin không hết	Tăng thời gian khử parafin hoặc thay thế xylene mới

Sử dụng thiết bị lọc không đúng	Sử dụng thiết bị lọc theo đúng bước sóng của probe
Kính hiển vi lỗi	Gọi hỗ trợ kỹ thuật
Điều kiện lai không chính xác	Kiểm tra lại nhiệt độ máy lai hoặc buồng lai
Nhiệt độ rửa sau khi lai không chính xác	Kiểm tra lại nhiệt độ buồng rửa hoặc tăng thời gian lai
Có bóng khí khi gắn lá kính	Loại bỏ bóng khí trước khi đưa vào máy lai
Không đủ dung dịch lai hoặc probe	Tăng thêm lượng probe
Digest không đủ	Kiểm tra lại nhiệt độ digest hoặc tăng thêm thời gian digest
Thời gian cố định quá dài	Kiểm tra lại quy trình cố định bệnh phẩm, bệnh phẩm cần được cố định ngay sau mổ trong 6 - 48 giờ, hoặc có thể giảm bớt thời gian bọc lọ
TÍN HIỆU KHÔNG ĐỒNG ĐỀU GIỮA CÁC VÙNG TRÊN BỆNH PHẨM	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Tồn tại nhiều vùng khác nhau trên bệnh phẩm	- Kiểm tra lại quá trình nhuộm DAPI - Tăng thêm thời gian cố định
Probe phân bố không đều trên bệnh phẩm do có bọt khí	- Thực hiện lại quá trình lai và đảm bảo không có bọt khí
Kích thước bệnh phẩm quá lớn	- Tăng thể tích dung dịch lai
NHUỘM NỀN CAO (HIGH GROUND)	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Do quá trình rửa sau khi lai	- Kiểm tra lại pH của dung dịch rửa (7.2-7.5) - Kiểm tra lại nhiệt độ buồng rửa - Lắc trong quá trình rửa - Tăng thời gian rửa lên 5 phút
MẮT HAY TIÊU BIẾN BỆNH PHẨM	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Sấy tiêu bản không đúng	- Kiểm tra lại nhiệt độ tủ sấy (56°C)
Bọc lọ quá mức	- Kiểm tra lại nhiệt độ bọc lọ - Giảm thời gian bọc lọ - Giảm thời gian digest
Biến tính quá mức	- Kiểm tra lại nhiệt độ biến tính - Giảm thời gian biến tính
Bệnh phẩm bị bong ra khi loại bỏ lá kính sau khi lai	- Loại lá kính bằng cách ngâm tiêu bản sau lai vào dung dịch rửa và lắc đều

117. KỸ THUẬT LAI TẠI CHỖ CÓ GẮN CHẤT MÀU (CISH)

I. NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm lai tại chỗ sử dụng môi dò DNA gắn digoxigenin gắn chất màu diaminobenzidin (DAB) nhằm xác định tình trạng khuếch đại gen Her-2/neu.

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
- Cử nhân sinh học (không bắt buộc): 01

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy lai biến tính
- Kính hiển vi quang học
- Phiến kính, lá kính
- Máy cắt lát mỏng
- Lưỡi dao cắt lát mỏng
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰
- Tủ lạnh
- Ống hút

2.2. Hóa chất

- Ezprep khử parafin
- Dung dịch CC2 khử parafin
- Protease
- Nước bạc
- Dung dịch SIL ISH DNP CHRC
- RED ISH DIG FR
- RED ISH DIG FR
- Thuốc nhuộm hematoxylin

- Dung dịch Bluing
- Bộ kit Her-2 và CEP17
- Cồn (70⁰, 80⁰, 85⁰, 90⁰, 100⁰).
- Xylen
- Dung dịch rửa

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Mẫu mô được cắt mỏng 4 micromet, gắn lên phiến kính đã được tráng silan
- Cài đặt chương trình cho máy
- Dán nhãn và đặt phiến kính gắn mẫu mô đã cắt vào máy
- Khử parafin bằng EZprep
- Bộc lộ kháng nguyên bằng dung dịch CC2: 30 phút ở 90⁰C
- Xử lý protease: 16 phút
- Ủ mảnh cắt với 100 µl probe Her-2 và CEP17 trong 4 phút
- Biến tính DNA trong 20 phút ở 80⁰C
- Lai DNA trong 6 giờ ở 37⁰C
- Rửa bằng nước bạc trong 8 phút ở 72⁰C
- Ủ trong dung dịch SIL ISH DNP CHRC: 4 phút
- Ủ với RED ISH DIG FR: 24 phút
- Ủ với RED ISH DIG FR: 8 phút
- Nhuộm hematoxylin II trong 4 phút
- Nhuộm với dung dịch Bluing trong 4 phút
- Lấy mảnh cắt ra khỏi máy và làm sạch mảnh cắt
- Làm khô mảnh cắt trong 1 giờ ở 60⁰C
- Ngâm mảnh cắt trong xylen 3 phút x 2 lần
- Gắn lá kính và đọc kết quả.

IV. KẾT QUẢ

Đánh giá tỷ lệ Her-2/CEP17 bằng cách đếm tín hiệu Her-2 (màu đỏ) và tín hiệu NST17 (màu nâu vàng) trong 20 nhân tế bào ung thư xâm nhập.

- Tỷ lệ Her-2/CEP17 < 1,8: không khuếch đại
- Tỷ lệ Her-2/CEP17 ≥ 2,2: có khuếch đại

- Tỷ lệ $2,5 < \text{Her-2/CEP17} \leq 5$: khuếch đại thấp
- Tỷ lệ $\text{Her-2/CEP17} > 5$: khuếch đại cao
- Tỷ lệ $1,8 \leq \text{Her-2/CEP17} < 2,2$: khuếch đại giáp biên, cần đếm lại hoặc đếm thêm trên 20 nhân tế bào u xâm nhập nữa.

Số lượng tín hiệu màu đỏ sẽ xác định số lượng nhiễm sắc thể 17 tùy theo số lượng là 1, 2 và 3 hoặc nhiều hơn tương ứng nhiễm sắc thể 17 đơn bội, lưỡng bội và đa bội.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

KHÔNG CÓ TÍN HIỆU HOẶC TÍN HIỆU YẾU	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Khử parafin không hết	Tăng thời gian khử parafin hoặc thay thế EZREP mới
Điều kiện lai không chính xác	Kiểm tra lại nhiệt độ máy lai hoặc bùồng lai
Nhiệt độ rửa sau khi lai không chính xác	Kiểm tra lại nhiệt độ bùồng rửa hoặc tăng thời gian lai
Có bóng khí khi gắn lá kính	Loại bỏ bóng khí trước khi đưa vào máy lai
Không đủ dung dịch lai hoặc probe	Tăng thêm lượng probe
Digest không đủ	Kiểm tra lại nhiệt độ digest hoặc tăng thêm thời gian digest
Thời gian cố định quá dài	Kiểm tra lại quy trình cố định bệnh phẩm, bệnh phẩm cần được cố định ngay sau mổ trong 6 – 48 giờ, hoặc có thể giảm bớt thời gian bộc lộ
TÍN HIỆU KHÔNG ĐỒNG ĐỀU GIỮA CÁC VÙNG TRÊN BỆNH PHẨM	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Tồn tại nhiều vùng khác nhau trên bệnh phẩm	- Tăng thêm thời gian cố định
Probe phân bố không đều trên bệnh phẩm do có bọt khí	- Thực hiện lại quá trình lai và đảm bảo không có bọt khí
Kích thước bệnh phẩm quá lớn	- Tăng thể tích dung dịch lai
NHUỘM NỀN CAO (HIGH GROUND)	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Do quá trình rửa sau khi lai	- Kiểm tra lại pH của dung dịch rửa (7,2-7,5) - Kiểm tra lại nhiệt độ bùồng rửa - Lắc trong quá trình rửa - Tăng thời gian rửa bằng SSC lên 5 phút Tăng thời gian rửa nghiêm ngặt sau lai - Điều chỉnh thời gian nhuộm bằng H&E và Bluing

MẤT HAY TIÊU BIẾN BỆNH PHẨM	
NGUYÊN NHÂN	CÁCH KHẮC PHỤC
Sấy tiêu bản không đúng	- Kiểm tra lại nhiệt độ tủ sấy (56°C)
Bộc lộ quá mức	- Kiểm tra lại nhiệt độ bộc lộ - Giảm thời gian bộc lộ - Giảm thời gian digest
Biến tính quá mức	- Kiểm tra lại nhiệt độ biến tính - Giảm thời gian biến tính
Bệnh phẩm bị bong ra khi loại bỏ lá kính sau khi lai	- Loại lá kính bằng cách ngâm tiêu bản sau lai vào dung dịch rửa và lắc đều

118. KỸ THUẬT PCR

I. NGUYÊN TẮC

PCR là chữ viết tắt của cụm từ Polymerase Chain Reaction nghĩa là thử nghiệm nhân bản một đoạn DNA trong ống nghiệm dựa vào các chu kỳ nhiệt.

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
- Cử nhân sinh học (không bắt buộc): 01

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy luân nhiệt Mastercycler eppendorf
- Máy chụp gen
- Máy điện di
- Máy ly tâm Eppendorf 10.000
- Máy lắc có điều chỉnh nhiệt độ
- Máy khuấy từ
- Máy trộn vortex
- Máy đo pH
- Cân điện tử
- Tủ lạnh 4⁰C, - 20⁰C và - 80⁰C
- Tủ ấm
- Ống hút
- Đầu tít các cỡ
- Ống Eppendorf các cỡ: 0,2; 0,5; 1,5ml
- Găng tay các loại, khẩu trang, mũ, áo choàng, kính bảo hộ.
- NaCl 0,09%
- Kít tách chiết DNA
- Dung dịch đệm

- Nước cất
- Thạch điện di (electrophoresis agar)
- Thang chuẩn DNA 100bp
- Ethidiumbromide
- Chứng dương
- Chứng âm
- Đèn cực tím
- Enzym polymerase chịu nhiệt, thường được gọi là Taq polymerase, có hoạt tính tối đa ở 72°C và bền được với nhiệt độ.
- 4 loại desoxyribonucleotid (dNTP) là Adenin, Thymin, Guanin và Cytosin (dATP, dTTP, dGTP, dCTP).
- DNA chứa các đoạn DNA đích sẽ được nhân bản trong ống phản ứng.
- Các đoạn mồi (primer) xuôi và ngược là các đoạn oligonucleotid có chiều dài khoảng 20-30 nucleotid có trình tự bổ sung một cách đặc hiệu với trình tự của hai đầu đoạn DNA sẽ được nhân bản.
- Ion Mg trong muối MgCl₂ ở nồng độ thích hợp;
- Dung dịch đệm Tris-KCl làm dung môi thích hợp cho phản ứng, khi ống nghiệm phản ứng này được cho vào buồng ủ chu kỳ của máy luân nhiệt.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Tách chiết DNA (RNA) khuôn mẫu: cách tách chiết DNA/RNA tùy thuộc vào loại mẫu, thường là lấy từ vật chủ tại nơi mà người lấy mẫu cho rằng có hiện diện của DNA tác nhân đích và do vậy cần lấy đúng chỗ. Thí dụ mẫu thử là vi khuẩn, người ta lấy 4-5 khuẩn lạc trộn đều với 200μl nước cất, đun cách thủy ở 95°C trong 5 phút rồi ly tâm 10.000 vòng/phút x 2 phút và lấy dịch nổi làm khuôn mẫu DNA. Với mẫu mô sinh thiết, người ta tách chiết bằng phenol/clorofom (không dùng BOOM vì mẫu mô thường có nhiều DNA nên DNA đích không thể cạnh tranh để hấp phụ lên hạt silica và cũng không sử dụng BOOM cho tách chiết RNA).
- Đầu tiên, nhiệt độ được đưa lên 94°C, ở nhiệt độ này các liên kết hydro của mạch đôi DNA sẽ mất đi, nhờ vậy DNA đích bị biến tính thành các mạch đơn; giai đoạn nhiệt độ này được gọi là giai đoạn biến tính.
- Tiếp theo, nhiệt độ được hạ xuống 56°C-65°C là nhiệt độ thích hợp để các đoạn mồi tìm đến bắt cặp bổ sung vào hai đầu của đoạn DNA đích, giai đoạn này được gọi là giai đoạn bắt cặp.
- Cuối cùng, nhiệt độ được đưa lên 72°C là nhiệt độ thích hợp cho hoạt tính của enzym Taq polymerase để kéo các dNTP lại đầu 3' của đoạn mồi đang bắt cặp trên đầu 5' của sợi DNA đích bắt nguồn cho sự tổng hợp nên mạch bổ sung. Như vậy, qua một chu

kỳ nhiệt, một DNA đích đã được nhân bản thành 2 bản sao và nếu chu kỳ này lặp lại liên tục 30-40 lần thì từ một DNA đích đã nhân bản thành 2^{30} đến 2^{40} bản sao, nghĩa là hàng tỷ bản sao.

- Điện di trên thạch (electrophoresis agar), nồng độ từ 1,5% -2% tùy theo kích thước đoạn gen nhân bản.

- Đọc kết quả trên thạch điện di trong buồng đọc dưới ánh sáng cực tím.

IV. KẾT QUẢ

Các đoạn DNA được nhân bản theo yêu cầu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Mẫu phải lấy đúng vùng, đúng chỗ cần xác định sự hiện diện của DNA cần tìm.

- Dụng cụ lấy bệnh phẩm và đồ dùng chứa bệnh phẩm phải đảm bảo tinh sạch về mặt sinh học, chỉ sử dụng một lần, nếu không sạch, các acid nucleic của tác nhân đích có trong mẫu sẽ bị phân hủy hay mẫu thử sẽ chứa các chất ức chế phản ứng khuếch đại sau này.

- Tùy loại mẫu thử, tùy tác nhân đích là vi khuẩn, virus, nấm hay tế bào có nhân và tùy acid nhân phải tách chiết là DNA hay RNA để lựa chọn phương pháp tách chiết thích hợp. Nếu mẫu thử là mô sinh thiết, nên chọn phương pháp phenol/clorofom hơn là phương pháp BOOM.

- Cần kiểm tra bộ kit tách chiết có đảm bảo độ nhạy không trước khi thực hiện kỹ thuật.

- Ngăn ngừa nhiễm chéo và loại trừ ngoại nhiễm sản phẩm khuếch đại.

- Chọn tỷ lệ % agarose phù hợp, tỷ lệ trung bình hay dùng là 2%, nhưng đối với các sản phẩm khuếch đại lớn > 500bps, nên dùng loại 1,5%, còn loại khuếch đại < 100bps, nên dùng agarose > 2,5%.

- Cần tuyệt đối tuân thủ an toàn khi sử dụng ethidium bromid.

- Trong một số trường hợp, kỹ thuật không thực hiện được với những phân tử DNA có kích thước > 3kb. PCR cho kết quả tốt nhất ở DNA có độ dài < 1,5kb.

- Theo quy trình PCR gốc của Mullis, enzym phản ứng nhân bản DNA được thực hiện trong ống nghiệm (in vitro). Sợi DNA đôi bị tách thành 2 sợi đơn khi đun nóng ở 96°C. Tuy nhiên, ở nhiệt độ này, DNA polymerase bị phá hủy. Vì vậy, cần bổ sung enzym sau mỗi giai đoạn nung nóng của mỗi chu kỳ. Quy trình PCR gốc của Mullis không có hiệu quả cao vì nó mất nhiều thời gian, cần một lượng lớn DNA polymerase và phải liên tục lưu ý suốt quá trình thực hiện kỹ thuật.

119. XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN EGFR BẰNG GIẢI TRÌNH TỰ CHUỖI DNA TRÊN KHỐI PARAFIN

I. NGUYÊN TẮC

Sử dụng máy giải trình tự gen để xác định các đột biến gen.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Cử nhân sinh học (không bắt buộc).

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy giải trình tự ABI 3130
- Máy PCR
- Máy điện di
- Máy ly tâm lạnh
- Lò vi sóng
- Máy soi gel và chụp ảnh tự động
- Máy cắt lát mỏng
- Lưỡi dao cắt lát mỏng
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰
- Tủ lạnh sâu
- Ống hút.

2.2. Hóa chất

- Các hóa chất để thực hiện PCR
- Hóa chất để điện di sản phẩm
- Hóa chất tinh sạch sản phẩm PCR
- Hóa chất để đọc giải trình tự gen

- Dung dịch đệm lysis
- Dung dịch K
- Dung dịch phenol
- Dung dịch clorofom
- Etanol
- Dung dịch acetat
- Dung dịch hòa tan DNA
- Xylen
- Dung dịch rửa

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Các khối parafin chứa bệnh phẩm được cắt lát mỏng và dán lên phiến kính
- Vùng mô ung thư được đánh dấu trên phiến kính
- Cạo mô ung thư vào ống ly tâm 1,5 ml
- Cho xylen vào ống ly tâm 2 lần để khử parafin
- Rửa lại bằng etanol và để khô trước khi ủ với proteinase K ở 48⁰C trong 16 giờ
- Tinh sạch sản phẩm DNA
- Kết tủa DNA bằng etanol tuyệt đối
- Tách DNA bằng kit KAPA
- Khuếch đại exon bằng PCR Master Mix của KAPA
- Chạy điện di trên thạch Agarose 1%
- Tinh sạch sản phẩm PCR bằng nitrogen kit
- PCR sản phẩm đã tinh sạch với BigDye kit
- Tinh sạch sản phẩm BigDye bằng Zymmo kit
- Giải trình tự gen bằng máy ABI 3130
- Phân tích kết quả giải trình tự bằng phần mềm có sẵn.

IV. KẾT QUẢ

Kết quả được phân tích bằng phần mềm tương thích. Kết quả được đối chiếu với trình tự nucleotid trên DNA bình thường trong hệ thống dữ liệu ngân hàng gen để xác định chính xác nucleotid đột biến.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Không có đỉnh hoặc đỉnh hiển thị ở mức độ yếu:
- + Do không cho khuôn DNA hoặc khuôn cho vào ở dưới nồng độ cần thiết.
- + Không bổ sung môi vào phản ứng khi GTT.
- + Môi không tương tác hiệu quả với khuôn sử dụng: nếu GTT từ một plasmid nhân dòng:

Cần đảm bảo plasmid được tinh sạch hoàn toàn.

Cần xem lại trình tự môi thiết kế nhằm bắt cặp đặc hiệu với khuôn.

Plasmid nhân dòng có thể bị đứt gãy hoặc đoạn nhân dòng chỉ được chèn một phần vào plasmid, nên không có vị trí cho môi bám vào.

Khuôn sử dụng cho GTT điện di thu được bằng đúng kích thước quan tâm, nhưng thực chất là khuếch đại một đoạn trình tự khác hoàn toàn với trình tự quan tâm (Ví dụ: một số gen có trình tự trùng khớp nhau một vài phần nhất định).

- Xuất hiện nhiễu: do quá trình tinh sạch không loại bỏ hoàn toàn cồn hoặc sản phẩm PCR không đặc hiệu, do DNA bị thoái hóa bởi các chất ức chế nhiễm vào mẫu trong quá trình GTT như muối, phenol, EDTA...

- Đoạn đầu bị nhiễu, sau đó GTT được đoạn sau, nhưng tín hiệu thấp: có thể do môi tự bắt cặp hoặc có sự tham gia của một môi khác khi thao tác. Cần thiết kế lại môi để loại bỏ trường hợp tự ghép cặp, đồng thời, tinh sạch sản phẩm PCR để loại bỏ hoàn toàn các chất cũng như môi khác không cần thiết.

- Nhiều đỉnh chồng lên nhau: do môi có nhiều vị trí bắt cặp, tinh sạch kém hoặc mẫu bị lẫn các DNA khác. Cần sử dụng môi khác, đảm bảo loại bỏ hoàn toàn môi và dNTPs. Nếu đoạn GTT được đưa vào plasmid nhân dòng, cần đảm bảo kiểm tra được khuẩn lạc duy nhất.

- Xuất hiện các đỉnh lạ sau GTT: trong mao quản có bong bóng chưa được loại bỏ hoàn toàn, mẫu bị nhiễm một thành phần nào đó, POP sử dụng trong GTT bị thoái hóa, hỏng.

120. XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN GEN K-RAS BẰNG GIẢI TRÌNH TỰ CHUỖI DNA TRÊN KHỐI PARAFIN

I. NGUYÊN TẮC

Sử dụng máy giải trình tự gen để xác định các đột biến gen.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.
- Cử nhân sinh học (không bắt buộc).

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy giải trình tự ABI 3130
- Máy PCR
- Máy điện di
- Máy ly tâm lạnh
- Lò vi sóng
- Máy soi gel và chụp ảnh tự động
- Máy cắt lát mỏng
- Lưỡi dao cắt lát mỏng
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰
- Tủ lạnh sâu
- Ống hút

2.2. Hóa chất

- Các hóa chất để thực hiện PCR
- Hóa chất để điện di sản phẩm
- Hóa chất tinh sạch sản phẩm PCR
- Hóa chất để đọc giải trình tự gen

- Dung dịch đệm lysis
- Dung dịch K
- Dung dịch phenol
- Dung dịch clorofom
- Etanol
- Dung dịch acetat
- Dung dịch hòa tan DNA
- Xylen
- Dung dịch rửa

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Các khối parafin chứa bệnh phẩm được cắt lát mỏng và dán lên phiến kính
- Vùng mô ung thư được đánh dấu trên phiến kính
- Cạo mô ung thư vào ống ly tâm 1,5 ml
- Cho xylen vào ống ly tâm 2 lần để khử parafin
- Rửa lại bằng etanol và để khô trước khi ủ với proteinase K ở 48⁰C trong 16 giờ
- Tinh sạch sản phẩm DNA
- Kết tủa DNA bằng etanol tuyệt đối
- Tách DNA bằng kit KAPA
- Khuếch đại exon bằng PCR Master Mix của KAPA
- Chạy điện di trên thạch Agarose 1%
- Tinh sạch sản phẩm PCR bằng nitrogen kit
- PCR sản phẩm đã tinh sạch với BigDye kit
- Tinh sạch sản phẩm BigDye bằng Zymmo kit
- Giải trình tự gen bằng máy ABI 3130
- Phân tích kết quả giải trình tự bằng phần mềm có sẵn.

IV. KẾT QUẢ

Kết quả được phân tích bằng phần mềm tương thích. Kết quả được đối chiếu với trình tự nucleotid trên DNA bình thường trong hệ thống dữ liệu ngân hàng gen để xác định chính xác nucleotid đột biến.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Không có đỉnh hoặc đỉnh hiển thị ở mức độ yếu:
- + Do không cho khuôn DNA hoặc khuôn cho vào ở dưới nồng độ cần thiết.
- + Không bổ sung môi vào phản ứng khi GTT.
- + Môi không tương tác hiệu quả với khuôn sử dụng: nếu GTT từ một plasmid nhân dòng:

Cần đảm bảo plasmid được tinh sạch hoàn toàn.

Cần xem lại trình tự môi thiết kế nhằm bắt cặp đặc hiệu với khuôn.

Plasmid nhân dòng có thể bị đứt gãy hoặc đoạn nhân dòng chỉ được chèn một phần vào plasmid nên không có vị trí cho môi bám vào.

Khuôn sử dụng cho GTT điện di thu được bằng đúng kích thước quan tâm, nhưng thực chất là khuếch đại một đoạn trình tự khác hoàn toàn với trình tự quan tâm (Ví dụ: một số gen có trình tự trùng khớp nhau một vài phần nhất định).

- Xuất hiện nhiễu: do quá trình tinh sạch không loại bỏ hoàn toàn cồn hoặc sản phẩm PCR không đặc hiệu, do DNA bị thoái hóa bởi các chất ức chế nhiễm vào mẫu trong quá trình GTT như muối, phenol, EDTA...

- Đoạn đầu bị nhiễu, sau đó GTT được đoạn sau nhưng tín hiệu thấp: có thể do môi tự bắt cặp hoặc có sự tham gia của một môi khác khi thao tác. Cần thiết kế lại môi để loại bỏ trường hợp tự ghép cặp, đồng thời, tinh sạch sản phẩm PCR để loại bỏ hoàn toàn các chất cũng như môi khác không cần thiết.

- Nhiều đỉnh chồng lên nhau: do môi có nhiều vị trí bắt cặp, tinh sạch kém hoặc mẫu bị lẫn các DNA khác. Cần sử dụng môi khác, đảm bảo loại bỏ hoàn toàn môi và dNTPs. Nếu đoạn GTT được đưa vào plasmid nhân dòng, cần đảm bảo kiểm tra được khuẩn lạc duy nhất.

- Xuất hiện các đỉnh lạ sau GTT: trong mao quản có bong bóng chưa được loại bỏ hoàn toàn, mẫu bị nhiễm một thành phần nào đó, POP sử dụng trong GTT bị thoái hóa, hỏng.

PHẦN VI

CÁC QUY TRÌNH KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC

121. NHUỘM SHORR

I. NGUYÊN TẮC

Kỹ thuật nhuộm của Shorr là phương pháp nhuộm đa sắc, giúp phân biệt được rõ ràng tế bào ái toan và ái kiềm, hạn chế đến mức tối thiểu những màu trung gian so với nhuộm Papanicolaou. Kỹ thuật này lại đơn giản, tiến hành nhanh chóng (mất chừng vài phút, nên được áp dụng chủ yếu trong chẩn đoán tế bào học nội tiết). Tuy nhiên, người ta không sử dụng kỹ thuật nhuộm Shorr vào việc phát hiện các tế bào ung thư vì sự bắt màu nhân trong kỹ thuật này không đầy đủ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định phiến đồ.
 - Cồn (50^0 , 70^0 , 90^0 , 95^0 , 100^0).
 - Xylen
 - Nước cất 2 lần
 - Tủ ấm 37^0 và 56^0
 - Tủ lạnh
 - Điều hòa nhiệt độ
 - Tủ hút phòng thí nghiệm
 - Bể nhuộm bằng thủy tinh
 - Bể thủy tinh đựng cồn, xylen
 - 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.
 - Thành phần dung dịch Shorr “S III”
- | | |
|--|-------|
| + Cồn 50^0 : | 100ml |
| + Ecarlat Biebrich hoà tan trong nước: | 0,5g |

+ Orange F:	0,25g
+ Xanh nhanh (vert rapide):	0,075g
+ Acid photphotungstic:	0,5g
+ Acid photphomolybdic:	0,5g
+ Acid acetic lạnh:	1ml

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

– Lấy bệnh phẩm làm phiến đồ: bệnh phẩm được lấy ra khỏi cơ thể, được dàn lên các phiến kính thật mỏng, đều.

– Cố định bệnh phẩm: cố định ngay bằng dung dịch cồn - ete (tỷ lệ 1/1) một vài phút là có thể đem nhuộm ngay hoặc dùng dung dịch cố định là cồn 95⁰ hoặc dung dịch cố định dạng xit.

– Nhuộm phiến đồ

+ Nhuộm trong dung dịch Shorr “SIII”:	1 đến 5 phút
+ Cồn 70 ⁰ :	Nhúng 10 lần
+ Cồn 90 ⁰ :	Nhúng 10 lần
+ Cồn tuyệt đối:	Nhúng 10 lần
+ Xylen:	Nhúng 10 lần
+ Gắn bôm Canada.	

IV. KẾT QUẢ

Bào tương tế bào ái toan: màu đỏ da cam sáng

Bào tương tế bào ái kiềm: màu xanh lá cây

(Xanh sẫm đối với tế bào non, xanh nhạt đối với tế bào thành thực)

Nhân: bắt màu đỏ sẫm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Cũng giống như các phương pháp nhuộm phiến đồ tế bào học khác, kết quả nhuộm phụ thuộc vào kỹ thuật dàn phiến đồ, cố định và các bước nhuộm.

– Dàn tế bào không tốt, các tế bào chồng chất nhau sẽ hạn chế khả năng phân tích phiến đồ. Nếu sự chồng chất tế bào nhiều, không đánh giá được kết quả, bắt buộc phải làm lại một phiến đồ khác.

– Nếu cố định không tốt, các tế bào không bắt màu hoặc bắt màu kém hoặc tế bào bị thoái hóa, buộc phải lấy lại bệnh phẩm.

– Nhuộm trong dung dịch Shorr “SIII” lâu sẽ làm sự bắt màu của các tế bào thay đổi, vì thế không nên để thời gian nhuộm quá 5 phút.

– Nếu cố định không tốt, thuốc nhuộm không tốt, các tế bào bắt màu sai lạc làm nhận định sai kết quả. Do đó, bên cạnh việc cố định bệnh phẩm tốt, phải kiểm tra chất lượng thuốc nhuộm thường xuyên trước khi nhuộm.

122. 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 sùng 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 (50°, 70°, 80°, 90°, 95°, 100°)
- Cồn – acid 0,5% (5ml acid HCl với 1000ml cồn 50°).
- Xylen (toluen)
- Nước cất 2 lần
- Lá kính, phiến kính.
- Tủ ấm 37° và 56°
- 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 mẫu, kéo.
- Giấy lọc
- Bơm 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 - etc.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Cố định

6.1. Chuẩn bị phẩm nhuộm

6.1.1. Hematoxylin Harris (xem phần nhuộm HE)

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

Orange G 0,5% trong cồn 95°	100ml
Acid Photphotungstic	0,015g

6.1.3. 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 96°	609g
Cồn (metanol) tuyệt đối	160g
Acid Photphotungstic trong cồn 50° (1,7g/5ml)	5ml
Lithicacbonat bão hòa	0,5ml
Acid acetic lạnh	1ml

6.1.4. Dung dịch xylen - cồn

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

6.1.5. Dung dịch cồn - ete

Cồn 95° - ete: tỷ lệ 1/1

6.2. Tiến hành kỹ thuật

- Phiến đồ được cố định trong cồn - ete: 30 giây
- Chuyển liên tục trong các bể cồn 80°, 70° rồi 50°, 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 50°, 70°, 80° rồi 95°: mỗi bể 5 lần nhúng
- Nhỏ Orange G phủ kín bệnh phẩm: khoảng 1 - 3 phút
- Chuyển liên tục qua 2 bể cồn 95°: mỗi bể 5 lần nhúng
- Nhuộm trong hỗn hợp đa sắc "EA50" trong khoảng 1 - 4 phút
- Chuyển liên tục trong các bể cồn 95° rồi 100°: 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.

123. NHUỘM DIFF - QUICK

I. NGUYÊN TẮC

Là phương pháp nhuộm dựa trên sự cải biên của phương pháp nhuộm Wright Giemsa của Bernard Witlin năm 1970. Nó có ưu điểm hơn phương pháp nhuộm Wright Giemsa, vì các bước nhuộm đơn giản hơn, ít tốn thời gian hơn và cho phép tìm bạch cầu ái toan hay ái kiềm bằng cách thay đổi thời gian nhuộm. Vì vậy, nó là phương pháp nhuộm nhanh tế bào và mô, được áp dụng cho nhiều loại bệnh phẩm, từ chọc hút kim nhỏ, phiến đồ tế bào học bong, phiến đồ tế bào học áp, tinh dịch đồ. Phiến đồ nhuộm Diff - Quik cần để khô trong không khí trước khi cố định, không cố định khi phiến đồ còn ướt. Phương pháp nhuộm này giúp đánh giá chi tiết bào tương tế bào, các giọt lipid, các hạt chế tiết, chất nhầy, các chất ngoại bào như chất nhầy, các sợi keo. Các thành phần như vi khuẩn, nấm cũng dễ dàng phát hiện được bằng phương pháp nhuộm này.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định phiến đồ: metanol khan (bán sẵn).
- Cồn 95°.
- Cồn tuyệt đối.
- Xylen.
- Nước cất
- Phẩm nhuộm Diff-Quick (bán sẵn).
- Lá kính.
- Bôm Canada.
- Giá đựng tiêu bản (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

- Cố định: 20 giây

- Nhuộm dung dịch 1: 20 giây
- Nhuộm dung dịch 2: 20 giây
- Rửa nước cất: 10 giây
- Cồn etanol 95°: 10 giây
- Cồn tuyệt đối: 15 giây
- Xylen: 15 - 20 giây
- Gắn lá kính bằng bôm Canada

IV. KẾT QUẢ

- Hồng cầu: màu hồng/vàng đỏ.
- Tiểu cầu: màu tím/hạt màu tím.
- Bạch cầu đa nhân trung tính: nhân màu xanh, bào tương màu hồng tím.
- Bạch cầu ái toan: nhân màu xanh, bào tương màu xanh, các hạt màu đỏ.
- Bạch cầu ưa kiềm: nhân màu tím hoặc xanh đen.
- Bạch cầu đơn nhân: nhân màu tím, bào tương xanh sáng.
- Vi khuẩn: màu xanh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Nếu phiến đồ nhuộm Diff - Quik chưa để khô mà cố định ngay sẽ làm mất hết các hạt trong bạch cầu ái kiềm, hình thành các hạt giả, dẫn đến nhầm lẫn khi nhận định.
- Cố định không đầy đủ có thể làm chi tiết nhân không rõ ràng hoặc mất các hạt, nhất là với bạch cầu ưa kiềm và các tế bào dòng tủy của máu.
- Phiến kính không sạch sẽ dẫn tới những nhận định sai, nhất là vi khuẩn.
- Nếu có vấn đề về cố định chưa tốt hoặc cần nhận rõ các hạt trong tế bào, cần tăng thời gian cố định lên 1 phút.
- Chỉ sử dụng metanol khan để cố định và các phiến đồ cần giữ kín, tránh ẩm.
- Nếu màu hồng tăng quá mức là do thời gian nhuộm ngắn hoặc rửa kéo dài hoặc độ pH của phiến đồ thấp.
- Chỉ sử dụng nước cất hoặc nước muối đậm photphat cho bước rửa cuối. Không được sử dụng nước máy, vì có thể làm xáo trộn sự cân bằng acid cơ bản và có thể chứa clo.
- Rửa dưới áp lực nước cao sẽ làm trôi mất tế bào hoặc vón cục bệnh phẩm. Vì vậy, cần rửa dưới vòi nước chảy nhẹ. Rửa nước không đủ sẽ có cặn thuốc trên phiến đồ.
- Giữa các bước nhuộm, không được để phiến đồ bị khô.
- 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.

124. NHUỘM GIEMSA TRÊN PHIẾN ĐỒ

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm Giemsa được gọi theo tên của nhà vi khuẩn học người Đức, Gustav 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 phosphat 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 95°.
- Cồn etanol 100°.
- Xylen.
- Nước cất
- Phẩm nhuộm Giemsa.
- Lá kính.
- Chất gắn Permout.
- 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 ẩm).
- Lắc mạnh hỗn hợp từ 5 - 10 phút
- Đổ không cần lọc vào 1 lọ thủy 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
- Thâm 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 dày 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.

125. NHUỘM HEMATOXYLIN - EOSIN TRÊN PHIẾN ĐỒ

I. NGUYÊN TẮC

Đây là phương pháp nhuộm hai màu liên tiếp. Nhuộm nhân theo nguyên tắc tăng dần, nhuộm bào tương theo nguyên tắc giảm dần. Các phiến đồ bảo quản được lâu dài, nhưng không tốt bằng nhuộm Papanicolaou.

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 hoặc cồn 95 độ).
- Cồn (70⁰, 80⁰, 90⁰, 95⁰, 100⁰).
- Cồn - acid 0,5% (5ml HCl với 1000ml cồn 50 độ).
- Xylen (toluen).
- Nước cất 2 lần.
- Lá kính sạch.
- Tủ ấm 37⁰ và 56⁰.
- Tủ lạnh.
- Điều hòa nhiệt độ.
- Hốt phòng thí nghiệm.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn, xy len.
- 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 máu, 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: phẩm nhuộm nhân và bào tương có thể mua dạng thương mại, dùng luôn. Nếu không có sản phẩm dùng ngay, có thể pha phẩm nhuộm theo cách thức dưới đây:

2.1. Hematoxylin Harris

- | | |
|---------------------------------|-------|
| – Hematoxylin (tinh thể) | 1g |
| – Cồn (Etanol) tuyệt đối | 10ml |
| – Alun (ammonium hay potassium) | 20g |
| – Nước cất | 200ml |
| – Oxyt thủy ngân (đỏ) | 0,5g |

* *Tiến hành pha:*

- Hoà tan hematoxylin trong cồn.
- Hoà tan alun trong nước cất nóng. Đưa ra khỏi lửa và trộn hai dung dịch với nhau.
- Đun sôi hỗn hợp, kéo bình đun ra khỏi lửa và thêm dần vào oxyt thủy ngân.
- Đun nóng lại, khi hỗn hợp có màu tím sẫm, tắt lửa và nhúng ngay bình đun vào nước lạnh.
- Khi bình đun lạnh hẳn, thêm 2ml acid acetic lạnh để làm tăng tính nhuộm nhân.

b. Eosine Y: ở Việt Nam, thường pha dung dịch 0,5% trong cồn 95°.

L.G. Koss pha theo công thức :

- | | |
|----------------------------|-------------------|
| Eosin Y (CI. N° 45830) | 16g hoặc 1g |
| Dichromat kali | 8g hoặc 0,5g |
| Acid picric (nước bão hoà) | 160ml hoặc 10ml |
| Cồn etanol 95° | 160ml hoặc 10ml |
| Nước cất | 1280 ml hoặc 80ml |

Hoà tan eosin và dichromat kali vào nước cất, đun nóng nếu cần, sau đó thêm dung dịch acid picric, cồn.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Thực hiện các bước sau:

- Phiến đồ để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng.
- Cố định phiến đồ trong cồn 95 độ từ 5-10 phút.
- Để khô tự nhiên.

- Rửa qua nước.
- Nhuộm Hematoxylin trong 3-5 phút.
- Rửa nước trong 5 phút.
- Biệt hóa trong cồn – acid 0,5% trong 1 vài giây.
- Rửa nước trong 10-15 phút.
- Nhuộm eosin trong 1 phút
- Rửa nước.
- Loại phẩm thừa bằng cồn 95 độ.
- Khử nước bằng xylen
- Gắn lá kính bằng bôm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Nhân tế bào	xanh đến xanh đen
Bào tương tế bào	hồng đến đỏ
Hồng cầu	hồng đậm
Sợi tạo keo	hồng nhạt.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Bào tương và nhân đều bắt màu nhạt: thuốc nhuộm cũ, thay thuốc nhuộm mới.
- Nhân nhạt màu: tăng thời gian nhuộm nhân.
- Nhân đậm màu quá mức: tẩy nhẹ bằng cồn-acid.

126. NHUỘM MAY - GRÜNWARD - GIEMSA

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm này áp dụng cho tất cả các phiên đồ tế bào học chọc hút kim nhỏ, tế bào bong và phiên đồ máu. Đây là sự kết hợp giữa hai phương pháp nhuộm Giemsa và May-Grünwald. Hỗn hợp thuốc nhuộm Giemsa và May-Grünwald là sự kết hợp của hỗn hợp có tính acid và kiềm của eosin lẫn xanh metylen. Độ pH là yếu tố quan trọng, ảnh hưởng đến chất lượng phiên đồ, bất kỳ sự thay đổi pH nào đều có thể dẫn đến tính chất bắt màu của các tế bào bị sai lệch, do đó, độ pH thích hợp được khuyến cáo là từ 6,5 - 6,8.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Cồn metanol 100⁰.
- Xylen.
- Nước cất
- Dung dịch May-Grünwald.
- Phẩm nhuộm Giemsa.
- Azur II eosin.
- Glycerin
- Máy đo độ pH
- Lá kính.
- Chất gắn Permount.
- Giá đựng phiên đồ (đứng và nằm ngang).
- Phiếu xét nghiệm.
- Kính hiển vi quang học.
- Nguồn cấp nước chảy.
- Găng tay các loại, khẩu trang, áo choàng y tế, kính bảo hộ.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Pha phẩm nhuộm

- Dung dịch May-Grünwald mẹ (giữ được 2 tuần): eosin - xanh metylen 1g
- Cồn tuyệt đối (metanol) 100ml
- Dung dịch khi nhuộm:
- + May - Grünwald mẹ: 40ml
- + Cồn metanol tuyệt đối: 20ml
- + Dung dịch Giemsa mẹ:
- + Azur II eosin (ủ 3 giờ ở 37°C với 50ml glycerin): 0,6g
- + Azur II (ủ 3 giờ ở 37°C với 50ml glycerin): 0,16g
- + Cồn metanol tuyệt đối
- Dung dịch khi nhuộm
- + Giemsa mẹ: 10ml
- + Nước cất: 90ml

2. Tiến hành nhuộm

- Dung dịch May - Grünwald: 5 phút
- Nước chảy: 1 phút
- Dung dịch Giemsa: 10 -20 phút
(10 phút nếu là Giemsa R, 20 phút nếu là Giemsa L).
- Nước chảy: 1 - 2 phút
- Để khô tự nhiên
- Không cần gắn lá kính

IV. KẾT QUẢ

- Về cơ bản, tính chất bắt màu của các thành phần tế bào như sau:
 - + Các thành phần có tính acid của tế bào bắt màu xanh (xanh metylen).
 - + Các thành phần kiềm của tế bào bắt màu đỏ da cam.
- Hồng cầu: màu hồng tím đến trung bình, không có màu xám hoặc màu xanh.
- Bạch cầu đa nhân trung tính màu xanh đậm, nhân tím hay đỏ tím hoa cà, bào tương màu hồng nhạt.
- Bạch cầu ái toan: màu xanh đến màu xanh đậm với nhân màu tím, bào tương màu xanh.

- Bạch cầu ái kiềm: có thể bắt màu tím đến xanh đậm, nhân màu đen.
- Lymphô bào và bạch cầu đơn nhân: màu tím đậm, bào tương màu xanh da trời.
- Tiểu cầu: màu tím.
- Các tế bào biểu mô: nhân màu xanh, bào tương hồng hay phớt hồng.
- Các vi khuẩn: màu xanh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

– Tuân thủ đúng độ pH của phẩm nhuộm từ 6,5 - 6,8. Nếu độ pH kiềm quá hay acid quá đều gây sai lệch tính chất bắt màu của các tế bào. Bởi vậy, cần kiểm tra độ pH trước khi nhuộm. Nếu độ pH thấp, cần điều chỉnh bằng dung dịch đệm có pH 7,2.

– Cần tuân thủ thời gian nhuộm, nếu thời gian nhuộm ngắn hoặc quá dài đều ảnh hưởng đến chất lượng chẩn đoán. Nếu sử dụng Giemsa R (nhẹ), thời gian nhuộm khoảng 10 phút.

– Phiến đồ nếu dàn không đều sẽ làm ảnh hưởng đến kết quả nhuộm ở những vùng tế bào chồng chất nhau, do vậy, phiến đồ cần dàn mỏng, đều trước khi nhuộm.

– Cần dùng để vệ sinh tay có thể gây tan hồng cầu.

– Không để phiến đồ bị khô ở bất kỳ bước nhuộm nào.

– Rửa phiến đồ không đúng cách sẽ gây ra các dấu hiệu giả (artifacts), do đó cần rửa phiến đồ dưới vòi nước chảy.

– Độ pH của nước rửa có thể ảnh hưởng mạnh tới tính chất bắt màu của các tế bào. Nếu độ pH kiềm quá, sẽ làm tăng màu xanh và nếu độ pH acid, sẽ làm tăng màu hồng đỏ của các tế bào khi nhuộm.

– Phẩm nhuộm May-Grünwald - Giemsa rất dễ cháy và độc với da, đường hô hấp, đường tiêu hóa (nếu chẳng may nuốt phải). Bởi vậy, phải đóng kín miệng lọ phẩm nhuộm, tránh xa lửa, không hút thuốc trong khi nhuộm. Khi tiến hành nhuộm, cần có khẩu trang, găng tay bảo hộ. Nếu chẳng may khi tiếp xúc, cảm thấy nguy hiểm cần khám và tư vấn bác sĩ.

– 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.

127. NHUỘM PAS KẾT HỢP XANH ALCIAN

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm phân biệt các nhóm mucopolysaccharit acid và trung tính, đặc biệt ở các phiên đồ từ ổ tổn thương do ung thư di căn (chất nhầy acid có màu xanh).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất:

- Dung dịch cố định phiên đồ.
- Cồn (70⁰, 80⁰, 90⁰, 100⁰).
- Nước cất 2 lần.
- Acid photphomolybdic.
- Xanh alcian.
- Thuốc thử Schiff.
- Dung dịch Bisulfit Natri.
- Tủ hút phòng thí nghiệm.
- Bể nhuộm bằng thủy tinh.
- Bể thủy tinh đựng cồn.
- 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.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Phiên đồ đã cố định, nhuộm 20 phút trong dung dịch nước xanh Alcian 0,1%.
- Rửa và nhúng 6 phút trong dung dịch nước acid photphomolybdic.
- Rửa cẩn thận trong nước cất 10 phút.
- Đặt phiên đồ vào dung dịch acid periodic 0,8%.

- Rửa nước cất 5 phút.
- Nhuộm thuốc thử Schiff trong 60 phút.
- Nhúng vào dung dịch Bisunfit Natri 3 lần, cách nhau 20 phút.
- Rửa nước chảy trong 5 phút.
- Lần lượt cho qua cồn có nồng độ cao dần (70^0 , 80^0 , cồn tuyệt đối).
- Làm trong và gắn lá kính như thường lệ.

IV. KẾT QUẢ

Chất nhầy acid có màu xanh.

128. NHUỘM PHÁT HIỆN GLYCOGEN THEO BEST

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp nhuộm cho thấy glycogen trong bào tương bắt màu đỏ.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học: 02

2. Phương tiện, hóa chất

- Dung dịch cố định phiến đồ (Gendre hay cồn metylic).
- Cồn metylic, cồn tuyệt đối.
- Nước cất 2 lần.
- Hematoxylin.
- Dung dịch Best
- Tủ hút phòng thí nghiệm
- Bể nhuộm bằng thủy tinh
- Bể thủy tinh đựng cồn
- 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 y tế.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị dung dịch Best

1.1. Hoà tan bằng đun nóng trong 60 ml nước cất

- 2g carmin.
- 1g cacbornat potal.
- 5g clorua potal.

1.2. Để nguội và thêm vào 20 ml amoniac lỏng ăn da

Dung dịch sử dụng được bảo quản trong vòng hai tuần (nếu để trong tủ lạnh có thể bảo quản được sáu tuần). Nếu để dung dịch quá hạn, khi nhuộm, nhân tế bào sẽ bắt màu đỏ, trong khi ấy, lắng đọng glycogen lại không thấy được.

2. Các bước nhuộm

- Phiến đồ để tự khô, cố định 5 phút trong dung dịch Gendre hay cồn metylic.
- Rửa nước.
- Nhuộm trong dung dịch Hematoxylin 25 phút.
- Nhúng nước 30 phút.
- Nhuộm trong dung dịch Best 15 phút.
- Nhúng phiến đồ trong dung dịch sau đây:
 - + 1 phần cồn metylic.
 - + 2 phần cồn tuyệt đối.
 - + 2 phần rượu nước cất.

Rửa tới lúc phiến đồ màu xanh nhạt.

- Lần lượt nhúng phiến đồ vào cồn 70⁰, 80⁰ và cồn tuyệt đối.
- Làm trong và gắn lá kính bằng bôm Canada.

IV. KẾT QUẢ

Chất glycogen trong bào tương của tế bào bắt màu đỏ hồng.

129. 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.
- Tấm bông
- Kẹp dài
- Phiến kính có đầu mờ.
- Dụng cụ lấy tế bào (quẹt bệt 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 xít).
- 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 quẹt bẹt (spatula) Ayre cải tiến và chải tế bào (cytobrush), trong đó quẹt bẹt Ayre cải tiến hiện được sử dụng rộng rãi.
- Dùng quẹt bẹt Ayre cải tiến cỡ khác nhau để thích hợp với từng phụ nữ. Đầu nhọn dài của quẹt đưa vào ống cổ trong để đảm bảo lấy được đủ bệnh phẩm vùng chuyên tiếp khi quẹt, gạt vào đó.

2. Tiến hành lấy bệnh phẩm

- Ở đây, chỉ nêu cách dùng quẹt 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 quẹt Ayre cải tiến thích hợp với từng người.
 - Đưa đầu dài của quẹt 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 (tùy thói quen).
 - Lấy tế bào bằng cách quay từ từ quẹt bẹt theo chiều kim đồng hồ đủ 1 vòng 360°, luôn giữ áp lực cao, gạt 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 quẹt có thể bị lạc hướng. Sau động tác cao, gạt, không thấy có máu, việc lấy bệnh phẩm coi như chưa đầy đủ, có thể lặp lại việc quay quẹt bẹt 1- 2 vòng nữa.
 - Dùng đầu kia của quẹt bẹt gạt vào vùng túi cùng âm đạo để lấy thêm phần đồ túi cùng âm đạo.

3. Làm phiến đồ

- Phiến đồ được làm từ bệnh phẩm lấy bằng đầu nhọn của quẹt 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 quét bệt 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 quét bệt 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 quét bệt 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 bệt của quét Ayre như thông lệ.

4. Cố định

– Nhúng phiến đồ vào cồn etanol 95° 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 chong 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.

130. KỸ THUẬT LIQUI - PREP CHẨN ĐOÁN TẾ BÀO CỔ TỬ CUNG - ÂM ĐẠO

I. NGUYÊN TẮC

Phương pháp này nhằm nâng cao hiệu quả phát hiện sớm các tế bào tiền ung thư, ung thư cổ tử cung. Đây là kỹ thuật tế bào chất lỏng thế hệ 2, không ảnh hưởng đến môi trường, thiết bị đơn giản, có thể lưu trữ bệnh phẩm để xét nghiệm lại khi cần (không phải mời Người bệnh đến lấy lại bệnh phẩm tế bào như các phương pháp khác), có thể sử dụng bệnh phẩm cho phân tích các thụ thể, gen, các tác nhân gây bệnh, hóa miễn dịch tế bào... chỉ trong 1 lần lấy bệnh phẩm. Dùng các hóa chất hòa tan chất nhầy và hồng cầu để các thành phần này không che lấp các tế bào cần quan sát, cũng như dùng chất dính để các tế bào như được dán lên phiến kính, không bị trôi khi nhuộm. Các tế bào không bị chồng chất lên nhau, nên rất dễ quan sát, do đó tăng độ nhạy, độ chính xác, giảm tỷ lệ âm tính giả.

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

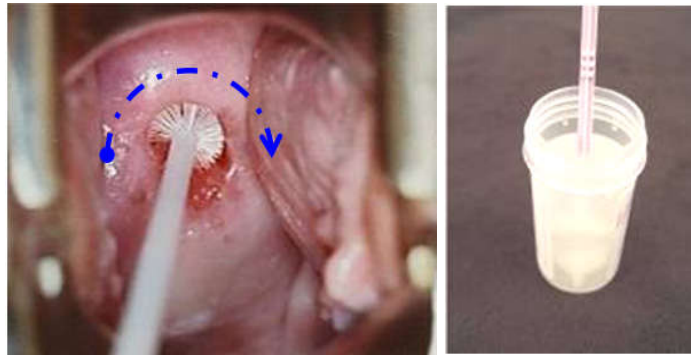
2. Phương tiện, hóa chất

- Các dụng cụ để lấy tế bào cổ tử cung – âm đạo (như ở mục quy trình làm phiến đồ tế bào cổ tử cung – âm đạo, chỉ thay quét bệt bằng chổi lấy tế bào).
- Máy ly tâm 50 ống, tốc độ từ 1000-2000 vòng/phút.
- Các ống ly tâm, lọ đựng bệnh phẩm có chất cố định.
- Máy trộn lắc votex: dùng để đánh tan chất nhầy cũng như trộn đều tế bào.
- Ống hút tự động loại 20 đến 200 μ và loại 500 đến 6000 μ .
- Dung dịch làm sạch (Cleaning Solution).
- “Chất dính” (Cell base).
- Phiến kính, lá kính sạch.
- Cồn 50°, 70°, 80°, 90°, 95°, 100°.
- Phẩm nhuộm Papanicolaou.
- Kính hiển vi quang học (kiểm tra chất lượng phiến đồ sau khi nhuộm),
- Hộp đựng phiến đồ. Kính hiển vi chụp ảnh (để minh họa).

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Người bệnh được khám phụ khoa, lấy tế bào cổ tử cung vùng chuyển tiếp bằng chổi nylon (hình dưới).



Hình 29. Các bước lấy tế bào và đưa vào lọ chứa dung dịch bảo quản mẫu.

– Lấy mẫu bằng chổi tế bào cổ tử cung (Cervix Brush®): đưa chổi vào cổ tử cung, phân lông dài ở giữa nằm ở trong ống cổ tử cung. Xoay chổi 2-3 lần quanh bề mặt cổ tử cung. Rút cây chổi ra, nhúng vào lọ đựng dung dịch cố định tế bào (Preserv Cyt®). Bật nhẹ để đầu chổi nằm lại trong lọ đựng dung dịch cố định và lấy cán chổi ra. Đậy nắp lọ cẩn thận.

– Ghi đầy đủ các thông tin về người bệnh trên nhãn ngoài lọ cũng như ở phiếu xét nghiệm theo quy định.

2. Các bước thực hiện tại phòng xét nghiệm



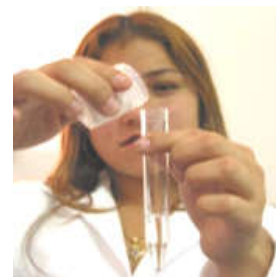
Mẫu sau khi lấy tế bào cổ tử cung âm đạo.



Thêm dung dịch làm sạch



Trộn kỹ mẫu (45 giây) với máy vortex



Rót mẫu vào ống ly tâm



Ly tâm 10 phút



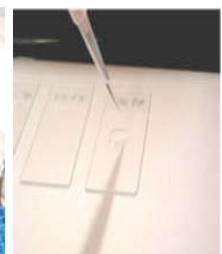
Bỏ dịch nổi



Pha loãng với cell base



Trộn mẫu trước khi đưa lên phiến kính



Dàn bệnh phẩm lên phiến kính

Hình 30. Minh họa kỹ thuật làm phiến đồ Liqui - Prep

- Bước 1: cho dung dịch làm sạch vào lọ chứa bệnh phẩm.
- Bước 2: trộn kỹ mẫu bằng máy Vortex trong 45 giây.
- Bước 3: rót mẫu vào ống ly tâm.
- Bước 4: ly tâm 1000 vòng/phút trong 10 phút.
- Bước 5: gạn bỏ dịch phía trên.
- Bước 6: pha loãng mẫu với dung dịch chất dính (Cell base), tỷ lệ 1/3.
- Bước 7: trộn đều mẫu trước khi hút đưa lên phiến kính.
- Bước 8: dàn dịch lên phiến kính.
- Bước 9: nhuộm phiến đồ theo phương pháp Papanicolaou như sau:

+ Cồn 80° nhúng 5 lần (8 - 10 giây)	+ Cồn 95° nhúng 5 lần
+ Cồn 70° nhúng 5 lần (8 - 10 giây)	+ Orange G6: 1 phút 30 giây
+ Cồn 50° nhúng 5 lần (8 - 10 giây)	+ Cồn 95°: nhúng 5 lần
+ Nước cất nhúng 5 lần (8 - 10 giây)	+ Cồn 95°: nhúng 5 lần (lọ đựng cồn khác)
+ Hematoxylin Harris: 6 phút	+ EA 50: 1 phút 30 giây
+ Nước cất: nhúng 5 lần	+ Cồn 95°: nhúng 5 lần
+ Dung dịch HCl 0,25%: nhúng 6 lần	+ Cồn 95°: nhúng 5 lần
+ Nước chảy: 6 phút	+ Cồn 95°: nhúng 5 lần
+ Nước cất: 5 lần nhúng	+ Cồn tuyệt đối: 5 lần nhúng
+ Cồn 50° nhúng 5 lần	+ Cồn tuyệt đối - Xylol (1/1): 5 lần nhúng
+ Cồn 70° nhúng 5 lần	+ Xylol: 5 lần nhúng
+ Cồn 80° nhúng 5 lần	+ Gắn lá kính.

IV. KẾT QUẢ

- Phiến đồ mỏng, đều, các tế bào không chồng chất lên nhau, không còn chất nhầy và hồng cầu.
- Nhân tế bào: bắt màu xanh xám hay tím rõ.
- Bào tương: các tế bào ưa kiềm sẽ bắt màu xanh sáng đôi khi xanh lá cây nhạt, các tế bào ưa acid sẽ bắt màu hồng đỏ hay da cam.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Cần xem xét lượng tế bào nhiều hay ít để pha dung dịch chất dính (cell base). Nếu mật độ tế bào thấp, cần dùng ít dung dịch cell base để có đủ tế bào chẩn đoán.

- Lưu ý thời gian nhuộm nhân, không để quá dài, vì nếu nhuộm nhân lâu sẽ làm tăng sắc, có thể dẫn đến nhận định sai.

131. 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 máu (1), kéo (1).
- Hộp đựng bông cotton vô trùng (1), hộp đựng bông cotton 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 dãn 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 phiên 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 tinh 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 phiên đồ

- Tháo kim ra khỏi bơm tiêm.
- Kéo pitông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.
- Lắp kim vào bơm tiêm.

- Nhanh chóng gạt dịch chọc ra các phiến kính đã ghi sẵn mã số 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 Grünwald 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 gạt một lượng vừa đủ ra mỗi phiến kính và dàn nhẹ nhàng, đều tay.
 - + Cố định kém làm tế bào thoái hóa không nhận định được hình thái nhân và bào tương: cần lặp lại xét nghiệm, cố định ngay sau khi dàn phiến đồ.
 - + Các tế bào bắt màu quá kém: cần nhuộm đủ thời gian và cố định phiến đồ tốt hoặc kiểm tra thuốc nhuộm.
 - 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 dãn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dãn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.

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

– Nên yêu cầu 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.

132. CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ CÁC TỔN THƯƠNG VÚ SỜ THẤY ĐƯỢC

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 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 máu (1), kéo (1).
- Hộp đựng bông cất 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 dãn 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 phiên 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 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 $u > 1,5\text{cm}$.
- 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 Grünwald 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 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 ống 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 chéch 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.

133. 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).

– Băng sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

– Kẹp không máu (1), kéo (1).

– Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông 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 dãn 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 phiên 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 Grünwald 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 ống 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.

134. 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), gô kê gáy người bệnh (1).
- Bông sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.
- Kẹp không máu (1), kéo (1).
- Hộp đựng bông cất 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 tĩnh 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 hormone 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 giường, 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 Grünwald 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 giường và xử trí chống choáng.

135. CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ MÀO TINH HOÀN

I. NGUYÊN TẮC

Dùng bơm tiêm gắn kim tiêm nhỏ đưa kim qua da vào vùng tổn thương và/hoặc mào tinh, hút với áp lực âm để các thành phần trong mào tinh và/hoặc của tổn thương vào trong kim, phụt chất dịch lấy được trên phiến kính, cố định, nhuộm, nhận định hình thái, sự sắp xếp các thành phần hữu hình, nền phiến đồ dưới kính hiển vi quang học để xác định mào tinh có hay không có tinh trùng (trong chẩn đoán vô sinh nam) và/hoặc loại tổn thương mào tinh.

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 BN (1), giường BN nằm (1), gô kê gáy người bệnh (1).

– Băng sạch, cồn iod, găng tay vô trùng, khẩu trang, băng dính y tế.

– Kẹp không máu (1), kéo (1).

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

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

– Thuốc gây tê tại chỗ: lidocain 5% (1 ống cho một Người bệnh).

– 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 dãn 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 phiên 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 tinh 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 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 ngửa trên giường.
- Bộc lộ vị trí cần chọc hút.
- Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.
- Gây tê trong da tại vị trí cần chọc hút.
- 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 đâm qua da vào màng tinh hoặc vùng tổn thương, hút dưới áp lực âm để dịch chọc vào lòng kim, trước khi rút mũi kim ra khỏi vùng chọc cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da. Có thể hút nhiều vị trí nếu cần thiết.
- Sát trùng lại vị trí đã chọc hút.

2. Làm phiến đồ

- Tháo nhanh kim ra khỏi bơm tiêm (nếu chỉ hút được ít bệnh phẩm).
- Kéo pittông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực.

- Lắp lại kim vào bom tiêm.
- Phụt thật nhanh 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 Grünwald 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 lấy được trứng, đủ các thành phần hữu hình của mào tinh hoặc mô tổn thương.
- Các phiến đồ được dàn mỏng, đều.
- 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 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 vùng 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 lắp 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 dãn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dãn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.
- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh,...): 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 trong hay sau khi chọc hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho người bệnh nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

136. CHỌC HÚT BẰNG KIM NHỎ TINH HOÀN

I. NGUYÊN TẮC

Dùng bơm tiêm gắn kim nhỏ xuyên kim qua da vào tinh hoàn hoặc vùng tổn thương, hút với áp lực âm để các tế bào từ mô tinh hoàn hoặc mô 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 FNA 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 thầy thuốc (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 máu (1), kéo (1).
- Hộp đựng bông cắt nhỏ vô trùng (1), hộp đựng bông cồn (1) để sát trùng vùng chọc.
- Bơm tiêm 10ml hoặc 20ml, kim các cỡ từ 25 G đến 21G.
- Dụng cụ gắn bơm tiêm để chọc hút (1).
- Thuốc gây tê tại chỗ: lidocain 5% (1 ống cho 1 người bệnh).
- 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.
- Giá để đựng phiến kính đã dãn bệnh phẩm.
- Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.
- Dung dịch cố định bệnh phẩm (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.
- 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, đánh giá độ to hay nhỏ, mật độ, có tổn thương... của tinh hoàn, mào tinh (kể cả màu sắc, kích thước, mật độ, sự di động) để xác định vị trí cần chọc hút.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Người bệnh nằm ngửa trên giường.
- Bộc lộ vị trí cần chọc hút.
- Sát trùng vùng cần chọc hút bằng cồn iod.
- Gây tê trong da bìu.
- 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 đâm qua da vào vùng tinh hoàn cần chọc, hút dưới áp lực âm để dịch chọc vào trong lòng kim, trước khi rút mũi kim ra cần giải phóng áp lực âm, rút nhanh kim qua da. Có thể hút nhiều vị trí.
- Sát trùng lại vị trí đã chọc hút.

2. Làm phiến đồ

- Tháo nhanh kim ra khỏi bơm tiêm (nếu chỉ hút được ít bệnh phẩm).
- Kéo pittông xuống để lấy không khí vào bơm tiêm tạo áp lực âm sau khi lắp lại kim.
- Lắp lại 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 Grünwald 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 lấy được trúng, đủ các thành phần tế bào của tinh hoàn và/hoặc mô tổn thương, đủ để chẩn đoán.

– Các phiến đồ được dàn mỏng, đều.

– 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 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 vùng 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 dãn: chọc hút nhanh, phụt nhanh ra phiến kính đã chuẩn bị sẵn và dãn ngay, hoặc bơm nước muối sinh lý để rửa kim lấy dịch làm phiến đồ.
- Chọc hút vào vị trí ngoài tổn thương (mạch máu, thần kinh,...): 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 trong hoặc sau khi chọc: nhanh chóng cho người bệnh nằm xuống giường và xử trí chống choáng.

137. KỸ THUẬT TẾ BÀO HỌC BONG 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 4°C (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 Grünwald 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.

138. 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 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 (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 50° (hoặc fomol 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 95° trước khi nhuộm.

5. Nhuộm các phiến đồ

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

139. 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 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 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 cận tế bào bên dưới (1-2ml).

– Lấy phần cận lắng trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

3. Làm phiến đồ

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

– Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cận, 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 95° trước khi nhuộm.

5. Nhuộm các phiến đồ

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

140. 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 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 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.

– Số 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 cận 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 cận tế bào bên dưới (1-2ml).

+ Lấy phần cận lắng trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

3. Làm phiến đồ

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

– Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cận, 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 95° trước khi nhuộm.

5. Nhuộm các phiến đồ

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

141. 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 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 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 95° và chuyển xuống khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học, nhuộm phiên 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 phết 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 cận 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 cận tế bào bên dưới (1-2ml).

+ Lấy phần cận lắng trên máy trộn điện 4-5 giây rồi lấy làm phiến đồ.

3. Làm phiến đồ

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

– Dùng một phiến kính sạch khác đặt lên trên cận, 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 95° trước khi nhuộm.

5. Nhuộm các phiến đồ

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

142. 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, tiêu 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, nên phiên 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 95°
- Phẩm nhuộm phiên 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 TIỀN 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 95° trước khi nhuộm.

5. Nhuộm các phiến đồ

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwald 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 đập nát: cần dàn nhẹ tay.

143. 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 4°C (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 Grünwald 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.

144. 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 dãn bệnh phẩm.
- Bút chì mềm ghi mã số người bệnh, vị trí chọc hút.
- Dung dịch cố định bệnh phẩm: + dung dịch carbowax 2% trong cồn + cồn ethanol 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 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 x 10 phút.

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

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

3. Cố định phiến đồ

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

– Trước khi nhuộm, ngâm phiến đồ 10 phút trong cồn 95°.

4. Nhuộm các phiến đồ

Theo một trong các phương pháp nhuộm: Giemsa, Papanicolaou, Diff - Quick hay May Grünwald 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, chông chát: 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.

145. KỸ THUẬT KHỐI TẾ BÀO DỊCH CÁC KHOANG CƠ THỂ

I. NGUYÊN TẮC

Nhằm tập trung các tế bào đơn lẻ, rải rác trong dịch thành một khối có thể đưa vào chuyển, đúc, cắt nhuộm giống quy trình mô học thường qui.

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

- Lọ thủy tinh có nắp, thể tích 250 ml.
- Ống nghiệm thủy tinh kích thước 10 x 1,6cm hoặc loại ống ly tâm thể tích 50ml.
- Heparin (loại dung dịch tiêm)
- Cytorich Red, Mucolexx
- Formol đậm trung tính 10%
- Máy ly tâm, khuôn nhựa, phiến kính, giấy gói mô học (loại không dính)
- Que gỗ nhỏ, bông gòn (loại không thấm nước).
- Các dụng cụ, hóa chất kỹ thuật của quy trình mô học thường qui (nhuộm HE, PAS).

3. Người bệnh

Người bệnh có tràn dịch các khoang cơ thể (màng tim, màng phổi, màng bụng, dịch não tủy...), dịch rửa phế quản, nước tiểu, dịch các u nang, dịch khớp...

4. Phiếu xét nghiệm

Được điền đầy đủ các thông tin hành chính của người bệnh (tên, tuổi, số giường, số phòng, khoa phòng), chẩn đoán lâm sàng, tóm tắt các thông tin lâm sàng và cận lâm sàng, yêu cầu xét nghiệm khối tế bào dịch, ngày, giờ lấy dịch, nhận xét đại thể (màu sắc, số lượng dịch, máu, nhày...)

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

– Lọ thủy tinh 250 ml được tráng đều thành và đáy lọ bằng 1000 đơn vị heparin trước khi đổ dịch. Heparin làm cho dịch máu không bị đông lại, do vậy không bị mắc kẹt tế bào vào trong cục máu đông.

– Dịch được lấy tại các khoa lâm sàng và/hoặc khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học. Lấy dịch cho vào lọ thủy tinh. Số lượng dịch tùy thuộc từng người bệnh, nhưng nên lấy từ 50 đến 250 ml để có được nhiều mẫu bệnh phẩm (nếu điều kiện Người bệnh cho phép).

– Đậy nắp, dán nhãn (tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán lâm sàng) rồi gửi ngay về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học. Nếu không có điều kiện gửi ngay, bảo quản bệnh phẩm trong ngăn dưới tủ lạnh ở 4°C. Bệnh phẩm được bảo quản không quá 2 tuần.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Đánh giá đại thể: màu sắc, số lượng dịch, có/không có nhiều máu hoặc chất nhầy.
- Nếu dịch có nhiều máu thì cho 1ml Cytosin red/50ml dịch, nếu dịch có nhiều chất nhầy thì cho 1ml Mucocex/50ml dịch, lắc đều rồi để khoảng 5 phút cho tan bớt nhầy.
- Nếu có máy ly tâm ống lớn 50 ml thì tiến hành bước 1 luôn.
- Nếu không có máy ly tâm ống lớn thì để lọ dịch từ 8 – 10 giờ để các tế bào lắng cặn xuống dưới, sau đó loại bỏ lớp dịch trong phía bề mặt, lắc đều cặn tế bào, rồi chia vào các ống nghiệm nhỏ (1,6 x 10cm), nút chặt bằng bông không thấm nước rồi tiến hành từ bước 1.

Lưu ý: nếu dịch đã được bảo quản ở các khoa lâm sàng từ 8 - 10 giờ, tế bào đã lắng xuống dưới thì tiến hành thực hiện kỹ thuật luôn (như mô tả ở trên).

+ Bước 1: cho các ống nghiệm chứa dịch vào máy ly tâm trong 10 phút với tốc độ 2.000 vòng/phút.

+ Bước 2: loại bỏ lớp dịch trong phía trên để lấy lắng cặn tế bào rồi cố định cặn tế bào trong formol đậm trung tính 10% trong tủ ấm 60°C, khoảng 2 giờ.

+ Bước 3: ly tâm bệnh phẩm lần nữa với tốc độ 2000 vòng/phút trong 10 phút nếu cần (nếu bệnh phẩm đã hình thành khối chắc thì quy trình có thể chuyển trực tiếp từ bước 2 sang bước 4).

+ Bước 4: loại bỏ formol trong ống vào lọ đựng nước thải..

+ Bước 5: dùng que gỗ nhỏ để lấy khối tế bào ra khỏi ống và đặt lên một tờ giấy (loại giấy không dính có trong phòng xét nghiệm mô bệnh học). Gói khối tế bào trong giấy này và đặt vào trong khuôn nhựa đã được dán nhãn với tên và mã số Người bệnh.

+ Bước 6: cho khuôn nhựa có chứa khối tế bào tiếp tục được thực hiện các bước như vào quy trình mô học thường qui.

+ Bước 7: các mảnh cắt từ khối tế bào có độ dày từ 3 - 5 μ m, thường được nhuộm Hematoxylin - Eosin và nhuộm đặc biệt (PAS, mucicarmin...) hoặc nhuộm hóa mô miễn dịch (nếu cần).

IV. KẾT QUẢ

Khối tế bào lưu giữ được các loại tế bào và gợi lại một phần cấu trúc mô tốt hơn so với phiên đồ, cho phép cắt được nhiều mảnh cắt giống nhau. Nhuộm HE, nhuộm đặc biệt và nhuộm hóa mô miễn dịch cho phép chẩn đoán xác định được nhiều loại tổn thương như nấm, tổn thương ác tính hoặc định hướng nguồn gốc của các u nguyên phát.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Trong quá trình làm kỹ thuật có thể bị nhầm lẫn bệnh phẩm do quy trình gồm nhiều bước, rơi vỡ ống xét nghiệm làm mất bệnh phẩm... Cần phải làm việc tập trung, luôn luôn có sự kiểm tra, đối chiếu để tránh những sai sót không đáng có.

146. KỸ THUẬT KHỐI TẾ BÀO BỆNH PHẨM CHỌC HÚT KIM NHỎ

I. NGUYÊN TẮC

Nhằm tập trung các tế bào đơn lẻ, rải rác trong bệnh phẩm chọc hút kim nhỏ thành một khối, có thể đưa vào chuyên, đúc, cắt nhuộm giống quy trình mô học thường qui, tiết kiệm tối đa mẫu bệnh phẩm lấy ra khỏi cơ thể người 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

- Ống nghiệm thủy tinh kích thước 10 x 1,6cm.
- Formol đậm trung tính 10%, thrombin hoặc thạch agar 3%.
- Máy ly tâm, khuôn nhựa, phiến kính, giấy gói mô học (loại không dính).
- Que gồ nhỏ, bông gòn (loại không thấm nước), tủ lạnh, lò vi sóng.
- Các dụng cụ, hóa chất kỹ thuật của quy trình mô học thường qui (nhuộm HE, PAS...).

3. Người bệnh

Người bệnh được thực hiện thủ thuật chọc hút kim nhỏ (FNA) để lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm tế bào.

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ các thông tin hành chính của người bệnh (tên, tuổi, số giường, số phòng, khoa phòng), chẩn đoán lâm sàng, tóm tắt các thông tin lâm sàng và cận lâm sàng, yêu cầu xét nghiệm khối tế bào bệnh phẩm chọc hút kim nhỏ (cellblock FNA); ngày, giờ lấy bệnh phẩm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

– Bệnh phẩm FNA được chọc hút tại các khoa lâm sàng hoặc khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

– Bệnh phẩm sau khi lấy được bơm một phần ra phiến kính để làm phiến đồ phết (1- 2 phiến đồ), phần còn lại (dịch thừa trong lòng kim hoặc bơm tiêm) được rửa bằng 5-10 ml formol đậm trung tính 10% (dùng các kim hỗ trợ nếu cần), cho vào ống nghiệm

rồi gửi ngay về hoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học. Các trường hợp chọc hút nhiều dịch thì làm kỹ thuật khối tế bào dịch (như phần trên).

Lưu ý: nếu không có formol đậm trung tính 10% để rửa thì có thể dùng nước muối sinh lý thay thế, nhưng sau khi rửa xong, phải gửi ngay bệnh phẩm về khoa giải phẫu bệnh - tế bào bệnh học.

2. Tiến hành kỹ thuật

– Bước 1: cho các ống nghiệm chứa bệnh phẩm FNA vào máy ly tâm trong 10 phút với tốc độ 2000 vòng/phút.

– Bước 2: loại bỏ lớp dịch trong phía trên để lấy phần lắng cặn tế bào, cố định cặn tế bào trong formol đậm trung tính 10% tối thiểu 1 giờ.

– Bước 3: ly tâm bệnh phẩm lần nữa với tốc độ 2000 vòng/phút trong 10 phút nếu cần (nếu bệnh phẩm đã hình thành khối chắc thì quy trình có thể chuyển trực tiếp từ bước 2 sang bước 4).

– Bước 4: loại bỏ formol vào lọ đựng nước thải. Thêm vào một lượng nhỏ thrombin hoặc thạch (agar) 3% (3g bột thạch hòa tan trong 100ml nước cất) đã nóng chảy (bằng lò vi sóng trong 10 giây ở nhiệt độ trung bình) vào ống nghiệm. Chờ thrombin hoặc thạch đông lại. Cho vào tủ lạnh để thạch (agar) đông nhanh hơn (nếu cần thiết). Thrombin hoặc thạch (agar) có tác dụng gia cố độ vững chắc cho khối tế bào.

Chú ý: phải đảm bảo chắc chắn không có bọt khí khi cho thạch (agar) vào ống.

– Bước 5: dùng que gỗ nhỏ để lấy khối tế bào ra khỏi ống và đặt lên một tờ giấy (loại giấy không dính có trong phòng xét nghiệm mô bệnh học). Gói khối tế bào trong giấy này và đặt vào trong khuôn nhựa đã được dán nhãn với tên và mã số Người bệnh.

– Bước 6: cho khuôn nhựa có chứa khối tế bào tiếp tục được thực hiện các bước như trong quy trình mô học thường qui.

– Bước 7: các mảnh cắt từ khối tế bào có độ dày từ 3 - 5 μm được nhuộm Hematoxylin - Eosin và nhuộm đặc biệt (PAS, mucicarmin...) hoặc nhuộm hóa mô miễn dịch (nếu cần).

IV. KẾT QUẢ

Khối tế bào lưu giữ được các loại tế bào và gợi lại một phần cấu trúc mô tốt hơn so với phiến đồ, cho phép cắt được nhiều mảnh cắt giống nhau. Nhuộm HE, nhuộm đặc biệt và nhuộm hóa mô miễn dịch cho phép chẩn đoán xác định được nhiều loại tổn thương như nấm, tổn thương ác tính hoặc định hướng nguồn gốc của các u nguyên phát.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Số lượng bệnh phẩm FNA thường rất ít, do vậy nên dùng luôn ống nghiệm kích thước 1,6 x 10cm (loại vừa với giá ly tâm của phòng xét nghiệm) để đựng dịch rửa lòng kim, tránh tình trạng phải đổi sang nhiều loại ống cho vừa máy ly tâm, gây mất bệnh phẩm trong quá trình làm kỹ thuật.

Trong quá trình làm kỹ thuật có thể bị nhầm lẫn bệnh phẩm do quy trình gồm nhiều bước, rơi vỡ ống xét nghiệm làm mất bệnh phẩm... Cần phải làm việc tập trung, luôn luôn có sự kiểm tra, đối chiếu để tránh những sai sót không đáng có.