

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

GIÁO TRÌNH

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 1089 /QĐ-CDYTN ngày 18 tháng 11 năm
2021 của Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội)*

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

Hà Nội, năm 2021

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

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

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

LỜI GIỚI THIỆU

Giáo trình được biên soạn theo chương trình khung đã được phê duyệt cho sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học. Sách dùng để đào tạo sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học đồng thời cũng là tài liệu tham khảo tốt cho sinh viên các chuyên ngành khác quan tâm đến công tác xét nghiệm.

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

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

Xin trân trọng cảm ơn!

....., ngày.....tháng.....năm.....

NHÓM TÁC GIẢ

Tham gia biên soạn

- 1. Chủ biên ThS. Hà Thị Nguyệt Minh**
2. ThS. Nguyễn Thị Hà Giang
3. CN. Phùng Thị Phương Chiêm

MỤC LỤC

GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN HUYẾT HỌC NÂNG CAO	6
LÝ THUYẾT.....	8
BÀI 1. TỬY ĐỒ	8
BÀI 2. HẠCH ĐỒ.....	11
BÀI 3: THIẾU MÁU.....	13
BÀI 4: HỆ THỐNG KHÁNG NGUYÊN BẠCH CẦU VÀ TIỂU CẦU.....	21
BÀI 6: TAI BIẾN DO TRUYỀN MÁU	32
BÀI 7: KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ ỨNG DỤNG TRONG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC.....	40
THỰC HÀNH	47
BÀI 8: KỸ THUẬT TỬY ĐỒ	47
BÀI 9: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐÔNG CẢM MÁU	52
BÀI 10: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM THIẾU MÁU	56
BÀI 11: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU	60
BÀI 12: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM SAU KHI TRUYỀN MÁU.....	64
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	68

GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN HUYẾT HỌC NÂNG CAO

Tên mô đun: Huyết học nâng cao

Mã mô đun: XN15D

Vị trí, tính chất mô đun

- *Vị trí:* Là mô đun chuyên ngành; được thực hiện vào học kỳ II, năm thứ 2 của sinh viên cao đẳng kỹ thuật xét nghiệm y học.
- *Tính chất:* Là mô đun tự chọn, tích hợp lý thuyết và thực hành tại trường. Môn huyết học nâng cao nhằm trang bị cho sinh viên những kiến thức về lý thuyết và thực hành huyết học nâng cao. Các kiến thức này giúp cho sinh viên giải thích được nguyên tắc của 1 số xét nghiệm huyết học.

Mục tiêu mô đun

*** Kiến thức**

- Giải thích được nguyên tắc, quy trình, nhận định kết quả của 1 số xét nghiệm huyết học như tủy đồ, hạch đồ, xét nghiệm đông máu, truyền máu nâng cao.
- Trình bày được 1 số kháng nguyên bạch cầu, tiểu cầu và ứng dụng trong y học.
- Trình bày được nguyên tắc và ứng dụng của các kỹ thuật sinh học phân tử ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị các bệnh lý huyết học.

*** Kỹ năng**

- Nhận định và phân tích được kết quả của tủy đồ, hạch đồ trong tình huống dạy học.

*** Năng lực tự chủ, trách nhiệm**

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

Nội dung mô đun và phương pháp đánh giá

TT	Tên bài	Số tiết			
		TS	LT	TH	KT
1	Tủy đồ	3	3		
2	Hạch đồ	2	2		
3	Thiếu máu	2	2		
4	Hệ thống kháng nguyên bạch cầu và tiểu cầu	1	1		

5	Bệnh đông - cầm máu	2	2		
6	Tai biến do truyền máu	2	2		
7	Kỹ thuật sinh học phân tử ứng dụng trong xét nghiệm huyết học	2	2		
	Kiểm tra	1			1
8	Kỹ thuật tủy đồ	5		5	
9	Kỹ thuật xét nghiệm đông cầm máu	5		5	
10	Kỹ thuật xét nghiệm thiếu máu	10		10	
11	Kỹ thuật xét nghiệm trước khi truyền máu	5		5	
12	Kỹ thuật xét nghiệm sau khi truyền máu	4		4	
	Kiểm tra	1			1
	Tổng cộng	45	14	29	

2. Phương pháp đánh giá

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

Nội dung	Điểm KT thường xuyên (hệ số 1)	Điểm định kì (hệ số 2)	Thi (60%)
Hình thức	Tự luận/ trắc nghiệm	Tự luận	Thực hành: Trắc nghiệm/ Tự luận
Số lượng	1	1	1
Trọng số	40%		60%

LÝ THUYẾT

BÀI 1. TỬY ĐỒ

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được nguyên tắc của tủy đồ.
2. Trình bày được các bước của kỹ thuật thực hiện tủy đồ

* Kỹ năng

3. Nhận định và phân tích được kết quả của tủy đồ trong tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Vai trò của tủy đồ trong y học

Là xét nghiệm đánh giá số lượng, hình thái và chức năng của tủy xương.

2. Nguyên tắc

Tủy đồ là xét nghiệm phân tích số lượng và hình thái các tế bào tủy xương để thăm dò chức năng tạo máu cũng như gợi ý các nguyên nhân gây rối loạn chức năng tạo máu của tủy xương.

3. Quy trình kỹ thuật

3.1. Chuẩn bị

- Bộ dụng cụ sát trùng tại chỗ: cồn iod 5%, cồn sát trùng, bông thấm nước..
- Bơm kim tiêm vô khuẩn 5 – 10 ml
- Kim chọc tủy
- Ống nghiệm có EDTA khô.
- Vật liệu cầm máu
- Bộ dụng cụ làm tiêu bản tủy, nhuộm giem sa, hồng cầu lưới
- Máy đếm tế bào hoặc các dụng cụ thay thế
- Kính hiển vi quang học.
- Xylocain
- Thuốc nhuộm Giem sa, xanhcresyl

3.1. Chọc hút dịch tủy xương

Bệnh phẩm máu được sinh thiết từ tủy xuwoang để trong ống nghiệm chống đông EDTA.

3.2. Quy trình kỹ thuật

3.2.1. Nguyên tắc: giống như huyết đồ

Cân đôi các dữ liệu thu thập được giữa máu ngoại vi và dịch hút tủy xương của người bệnh cùng thời điểm.

3.2.2. Các bước tiến hành

* Kỹ thuật

- Chạy máy huyết học tế bào tự động để phân tích tủy đồ.
- Làm tiêu bản giọt máu đàn và nhuộm giem sa 10% x 10 phút.
- Làm tiêu bản hồng cầu lưới và nhuộm xanh cresyl
- Soi khảo sát

+ Quan sát tiêu bản bằng vật kính x10

Đánh giá mật độ tế bào có nhân và đặc điểm phân bố tế bào, kể cả hồng cầu trưởng thành.

Tìm kiếm mẫu tiêu cầu và các tế bào có kích thước lớn (K di căn)

Tính tỷ lệ % của tế bào có nhân.

+ Quan sát tiêu bản bằng vật kính dầu

Xem xét kỹ các khu vực đầu, đuôi, trung tâm và hai cạnh tiêu bản nhuộm giem sa để nhận định về đặc điểm số lượng, hình thái tế bào và tình trạng biệt hóa của mỗi dòng tế bào cũng như tương quan phát triển của các dòng tế bào.

Tìm hình thể bất thường: ung thư di căn, ký sinh trùng,...Nếu có tế bào non phải căn cứ vào hình thái và hóa học tế bào để xác định xem tế bào non đó thuộc dòng nào (bạch cầu hạt, mono, lympho...)

Lập công thức tủy từ 100 đến 500 tế bào có nhân tùy theo mục đích chẩn đoán hay nghiên cứu. Tính chỉ số trưởng thành của dòng hạt, dòng hồng cầu và tỷ lệ nguyên hồng cầu/bạch cầu hạt.

Lập công thức mẫu tiêu cầu từ 100 mẫu tiêu cầu nếu người bệnh có giảm tiêu cầu ở máu ngoại vi.

4. Nhận định kết quả

4.1. Bản trả lời kết quả:

- Ngoài các số liệu cụ thể, cần phải nhận xét về số lượng, hình thái tế bào tủy và các bất thường (nếu có)
- Chất lượng tiêu bản

- Mức độ giàu- nghèo tế bào của tủy xương
- Phân tích số lượng và hình thái các dòng tế bào bình thường.
- Các bất thường (nếu có)

4.2. Kết luận:

- Khẳng định chẩn đoán
- Khu trú phạm vi hoặc định hướng tìm kiếm chẩn đoán
- Loại trừ 1 hay nhiều khả năng
- Một số ít trường hợp không kết luận được

4.3. Đề nghị:

Trong 1 số trường hợp có thể ghi yêu cầu cần thiết cho chẩn đoán bệnh nếu kết quả tủy đồ không khẳng định được chẩn đoán.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguyên tắc của tủy đồ?
2. Trình bày các bước của kỹ thuật thực hiện tủy đồ?

BÀI 2. HẠCH ĐỒ

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được nguyên tắc của hạch đồ.
2. Trình bày được các bước của kỹ thuật thực hiện hạch đồ

* Kỹ năng

3. Nhận định và phân tích được kết quả của hạch đồ trong tình huống dạy học.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Vai trò của hạch đồ trong y học

Là xét nghiệm đánh giá số lượng và hình thái của tổ chức hạch.

2. Nguyên tắc

Hạch đồ là xét nghiệm tế bào cần thiết trong phần lớn các trường hợp hạch to, nhất là trường hợp nghi ngờ ác tính hoặc viêm đặc hiệu. Thông qua việc chọc hút và làm tiêu bản, có thể đánh giá được thành phần và tỷ lệ tế bào trong hạch. Là xét nghiệm thăm dò trực tiếp, có giá trị chẩn đoán trực tiếp.

3. Quy trình kỹ thuật

3.1. Chuẩn bị

- Bộ dụng cụ sát trùng tại chỗ: cồn iod 5%, cồn sát trùng, bông thấm nước..
- Bơm kim tiêm vô khuẩn 5 – 10 ml
- Kim chọc hạch
- Vật liệu cầm máu
- Bộ dụng cụ làm tiêu bản tủy, nhuộm giem sa
- Kính hiển vi quang học.
- Thuốc nhuộm Giem sa,

3.1. Chọc hút dịch hạch: Dịch chọc hút hạch

3.2. Quy trình kỹ thuật

* Kỹ thuật

- Làm tiêu bản giọt máu đàn và nhuộm giem sa 10% x 10 phút.
- Soi khảo sát
- + Quan sát tiêu bản bằng vật kính x10: quan sát toàn bộ tiêu bản, nên quan sát nhiều tiêu bản chọc dịch hạch. Chọn các tiêu bản giàu tế bào, tiêu bản nghi ngờ để quan sát.
- + Quan sát chi tiết các tế bào cần quan sát vật kính x40, trường hợp đặc biệt mới quan sát vật kính x100.
- Thành phần bình thường trong tiêu bản hạch:
 - + Tế bào lympho: 90-99%

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguyên tắc của hạch đồ?
2. Trình bày các bước của kỹ thuật thực hiện hạch đồ?

BÀI 3: THIẾU MÁU

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Giải thích được khái niệm, phân loại thiếu máu.
2. Trình bày được nguyên nhân, triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm của bệnh thiếu máu thiếu sắt.
3. Trình bày được nguyên tắc phòng và điều trị thiếu máu thiếu sắt.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Khái niệm chung về tan máu

Trong cơ thể bình thường hồng cầu được sinh ra từ tủy xương, có đời sống trung bình 120 ngày, khi hồng cầu già, năng lượng cạn kiệt dần, màng hồng cầu sẽ thay đổi nên sẽ bị giữ lại và tiêu hủy tại hệ liên võng (lách, tủy xương, gan; trong đó lách có vai trò chính). Nếu có một lý do nào đó làm quá trình này xảy ra sớm hơn bình thường sẽ dẫn đến tình trạng thiếu máu cho cơ thể, đó là hiện tượng tan máu.

Hiện tượng tan máu sẽ làm cho các cơ quan có chức năng hủy hồng cầu phải tăng làm việc, tăng kích thước do phải chứa nhiều hồng cầu bị tiêu hủy hơn bình thường, các sản phẩm tạo ra từ thoái giáng hồng cầu tăng cao trong máu. Ngoài ra tủy xương sẽ phải tăng cường hoạt động sinh máu, tất cả các hiện tượng trên tạo nên bệnh cảnh thiếu máu tan máu. Tùy theo loại tan máu mà ngoài triệu chứng chung sẽ có triệu chứng riêng đặc trưng cho loại tan máu đó.

2. Triệu chứng lâm sàng

2.1. Hội chứng thiếu máu

Bệnh nhân có các biểu hiện như hoa mắt chóng mặt, đau đầu, có thể buồn nôn, rối loạn tiêu hóa.....Khám có thể thấy da xanh, niêm mạc nhợt, tim đập nhanh....Các mức độ của các triệu chứng tùy theo mức độ thiếu máu.

2.2. Hội chứng tan máu

Ngoài biểu hiện thiếu máu bệnh nhân còn có những biểu hiện của cơn tan máu là:

- Bệnh nhân có sốt rét trong cơn tan máu.

- Hoàng đả (da và củng mạc mắt có màu vàng), trong tan máu mức độ vàng thường nhẹ, kiểu vàng rom.
- Nước tiểu và phân có màu sẫm.
- Lách to, mức độ nhiều trong tan máu bẩm sinh.
- Gan có thể to.
- Ngoài ra bệnh nhân còn có một số triệu chứng có thể giúp gợi ý tìm nguyên nhân như: bộ mặt tan máu ở bệnh nhân tan máu bẩm sinh (thalassemia), các cơn sốt rét có chu kỳ rõ rệt nếu ở bệnh nhân sốt rét.
- Nếu tan máu lâu ngày có thể có những biến chứng như chậm phát triển về thể chất và tinh thần, sỏi đường mật, biến dạng xương, nhồi máu lách, viêm tắc ống thận, suy thận...

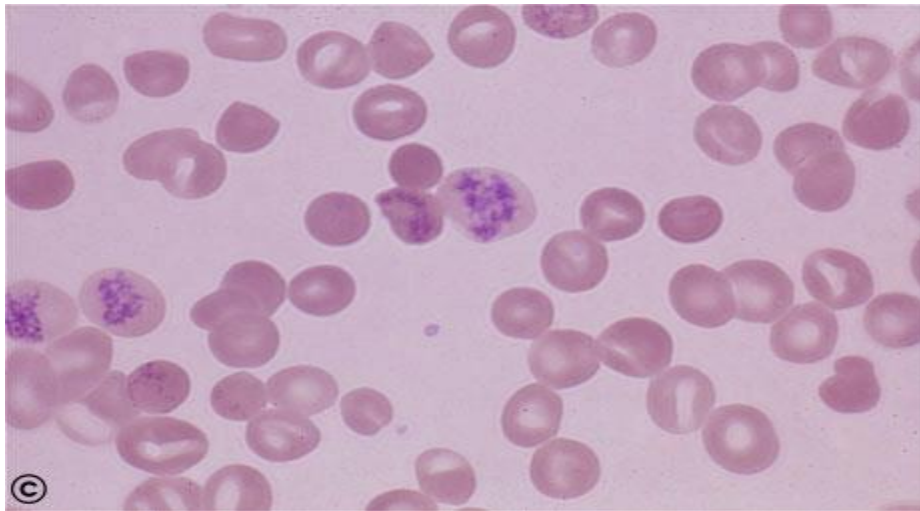
3. Triệu chứng xét nghiệm

3.1. Các dấu hiệu thể hiện thiếu máu

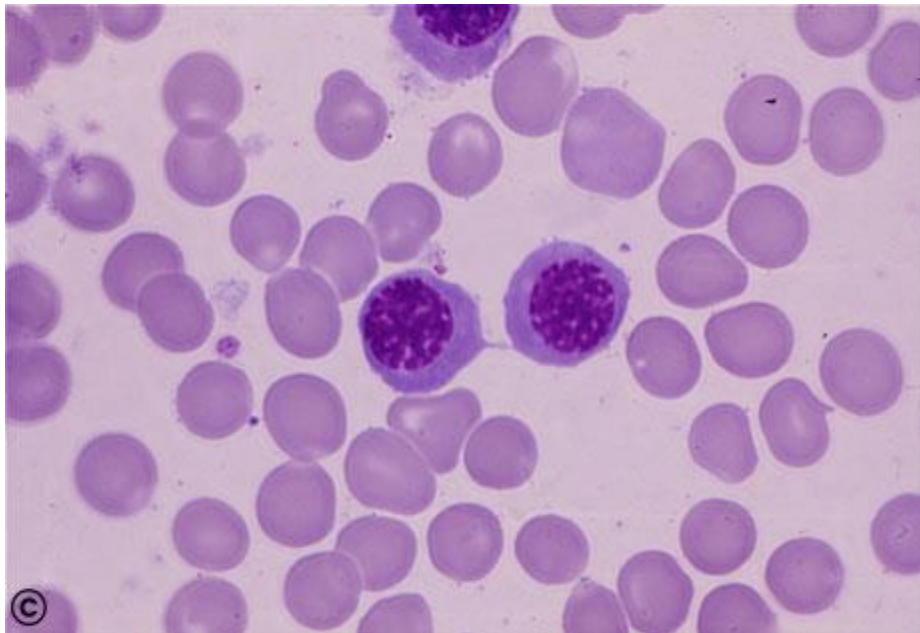
- Huyết sắc tố giảm, hematocrit giảm, số lượng hồng cầu giảm.
- Các chỉ số hồng cầu thay đổi tùy nguyên nhân tan máu:
 - + Trong tan máu tự miễn: MCV thường > 100fl, do hiện tượng ngưng kết mà đôi khi chỉ số MCH và MCHC tăng bất thường quá ngưỡng cho phép, khi đó không được sử dụng các chỉ số này.
 - + Trong thalassemia: MCV thường nhỏ (<80fl), kích thước hồng cầu không đồng đều nên chỉ số RDW >14%, MCH và MCHC có thể giảm hoặc bình thường.
 - + Trường hợp tan máu bẩm sinh do bệnh lý màng hồng cầu thì MCV bình thường, hồng cầu bình sắc.

3.2. Các biểu hiện khác ở tiêu bản máu ngoại vi và tủy xương

- Trên tiêu bản máu có thể thấy có mảnh vỡ hồng cầu.
- Có thể xuất hiện hồng cầu non ở máu thường ở giai đoạn nguyên hồng cầu đa sắc và ưa axit.
- Bạch cầu hạt trung tính và tiểu cầu có thể tăng do phản ứng nhưng cũng có thể giảm trong trường hợp cường lách.
- Hồng cầu lưới tăng mạnh, có thể tăng tới 30%, số lượng tuyệt đối thậm chí >1T/l.
- Hồng cầu non trong tủy tăng với hình thể kích thước to nhưng không phải megakaryoblast.



Hình 3.1. Hồng cầu lưới tăng trong bệnh thalassemia.



Hình 3.2. Nguyên hồng cầu đa sắc ở máu ngoại vi

3.3. Các biểu hiện xét nghiệm khác

- Tăng bilirubin, chủ yếu là bilirubin gián tiếp.
- Haptoglobin giảm.
- Stercobilinogen ở phân tăng.
- Urobilinogen nước tiểu tăng.
- Sắt huyết thanh và dự trữ sắt ferritin tăng đặc biệt trong tan máu bẩm sinh
- LDH máu tăng.
- Đo đời sống hồng cầu bằng Cr51 thấy nửa đời sống hồng cầu giảm. Có thể xác định được nơi phân hủy hồng cầu.
- Xét nghiệm Coombs trực tiếp và gián tiếp dương tính trong trường hợp tan

máu tự miễn.

- Sức bền hồng cầu và điện di huyết sắc tố thay đổi theo nguyên nhân tan máu.
- Có thể thấy thay đổi cấu trúc xương trong trường hợp tan máu bẩm sinh: hố tủy xương giãn rộng, xương sọ có hình diềm bàn chải, có thể cốt hóa sụn sườn.

4. Phân loại tan máu

Có nhiều cách phân loại tan máu như theo nguyên nhân và cơ chế, theo vị trí tan máu, theo tính chất cấp hay mạn, theo tính chất bẩm sinh hay mắc phải. Trong bài viết này chúng tôi xin trình bày cách phân loại theo nguyên nhân và cơ chế.

4.1. Tan máu nguyên nhân tại hồng cầu

4.1.1. Bệnh do thiếu men hồng cầu

- Thiếu men G6PD- men tham gia chuyển hóa glucose để tạo năng lượng cho hồng cầu.
- Thiếu men Pyruvat kinase.

4.1.2. Bệnh huyết sắc tố

Huyết sắc tố ở người là một protein gồm 4 dưới đơn vị (chuỗi), cấu tạo mỗi dưới đơn vị là nhân Hem (khung porphyrin gắn 1 sắt hóa trị 2: Fe^{++}) và globin (bản chất là một chuỗi polypeptide).

Trong 4 chuỗi globin của một phân tử huyết sắc tố bình thường thì 2 chuỗi thuộc họ alpha và 2 chuỗi không phải alpha. Sự tổng hợp các chuỗi này do gen nằm trên nhiễm sắc thể số 11 và số 16 đảm nhận. Phân tử nhiễm sắc thể ở người lớn bình thường chủ yếu là huyết sắc tố A gồm 2 chuỗi alpha và 2 chuỗi beta. Giảm hoặc mất khả năng tổng hợp một loại chuỗi hoặc tổng hợp ra chuỗi globin bất thường sẽ gây bệnh huyết sắc tố.

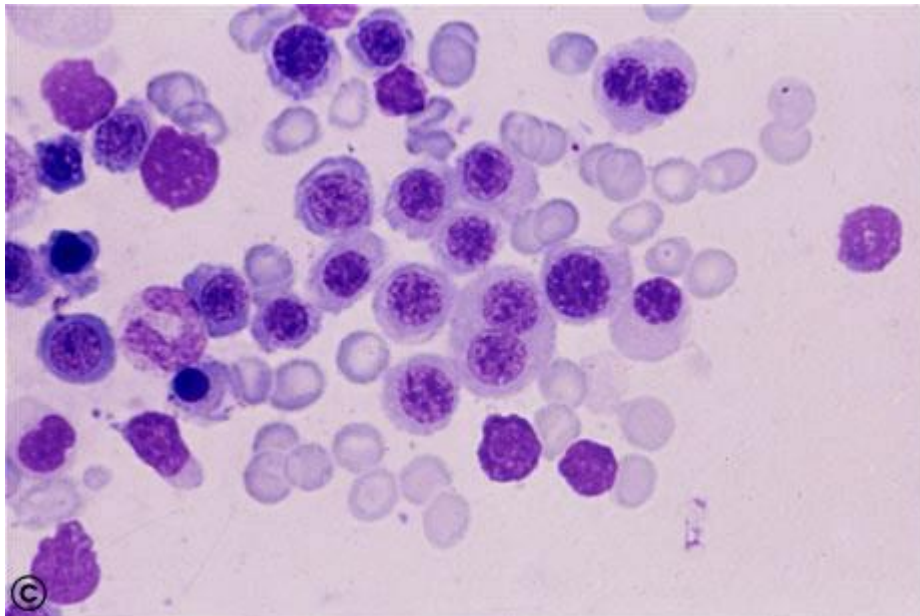
4.1.3. Bệnh thalassemia: là bệnh huyết sắc tố do giảm hoặc mất khả năng tổng hợp chuỗi globin.

- Beta thalassemia: giảm hoặc mất khả năng tổng hợp chuỗi beta, do đó cơ thể sẽ tổng hợp các chuỗi khác để bù trừ, nếu là chuỗi gama sẽ tạo nên huyết sắc tố F, chuỗi delta sẽ tạo nên huyết sắc tố A2. Khi thiếu chuỗi beta sẽ gây thừa tương đối chuỗi alpha và đây chính là nguyên nhân gây tan máu. Bệnh có các thể nặng nhẹ khác nhau:

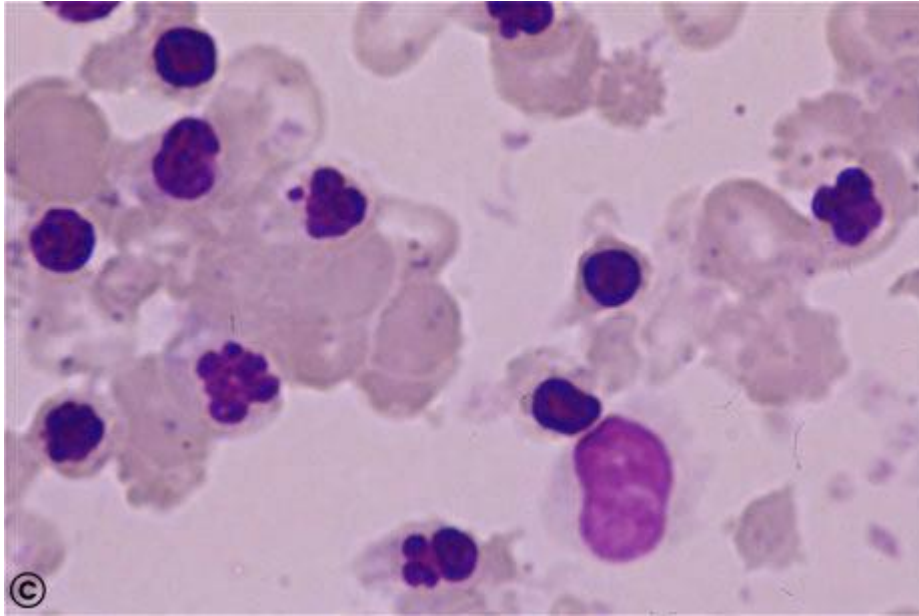
+Thể nặng (bệnh Cooley): hầu như không có huyết sắc tố A mà chủ yếu là huyết sắc tố F và A2. Tan máu rất nặng từ nhỏ.

+ Thể trung gian: giảm huyết sắc tố A, nhiều huyết sắc tố F và tăng A2, biểu hiện tan máu ở tuổi lớn hơn.

- + Thể nhẹ: huyết sắc tố $F < 30\%$, có thể tăng A2. Biểu hiện tan máu nhẹ.
- Alpha thalassemia: giảm hoặc mất khả năng tổng hợp chuỗi alpha, khi đó cơ thể sẽ thừa chuỗi gamma (ở bào thai) và chuỗi beta (sau khi sinh) nên sẽ tạo nên bệnh huyết sắc tố Bart's (bốn chuỗi gamma) hay huyết sắc tố H (bốn chuỗi beta). Bình thường cơ thể có 4 gen tổng hợp nên chuỗi alpha. Các thể nặng nhẹ tùy theo mất nhiều hay ít gen.
- + Thể đồng hợp tử alpha (bệnh huyết sắc tố Bart's): mất cả 4 gen tổng hợp chuỗi alpha. Bệnh rất nặng, phù thai và chết trước hoặc ngay sau khi sinh.
- + Huyết sắc tố H: mất 3 gen alpha, chuỗi alpha được tổng hợp ít hơn bình thường. Máu có huyết sắc tố A và H (sơ sinh có thể gặp huyết sắc tố Bart's)
- + Mất ít hơn 3 gen thường biểu hiện lâm sàng nhẹ.
- Ngoài ra còn có các thể như gamma thalassemia, delta thalassemia, hoặc beta-delta thalassemia.



Hình 3.3. Tiêu bản máu ngoại vi thalassemia thể nặng.



Hình 3.4. Thalasemia thể nhẹ.

4.1.4. Bệnh huyết sắc tố bất thường

Nguyên nhân là do đột biến cấu trúc gen globin: một bazơ nitơ bị thay thế bằng một bazơ nitơ khác do đó khi tổng hợp chuỗi polypeptide sẽ có sự thay thế acid amin bằng một acid amin khác tạo nên chuỗi globin có bất thường. Các bệnh bất thường huyết sắc tố hay gặp là:

- Bệnh huyết sắc tố S: hồng cầu hình liềm: axit amin thứ 6 của dây beta là glutamic bị thay bằng valin.
- Bệnh huyết sắc tố M: tyrosine thay thế cho histamine ở vị trí 58 của dây alpha. Bệnh chỉ gặp ở người da trắng.
- Bệnh huyết sắc tố E: acid amin ở vị trí số 26 của dây beta là glutamic bị thay bằng lysine. Bệnh gặp ở vùng Đông Nam Á. Nếu phối hợp với beta thalasemia thường biểu hiện tan máu nặng.
- Bệnh huyết sắc tố Lepore: hai dây alpha bình thường, hai dây còn lại đầu dây có tính chất dây delta, cuối dây có tính chất dây beta.

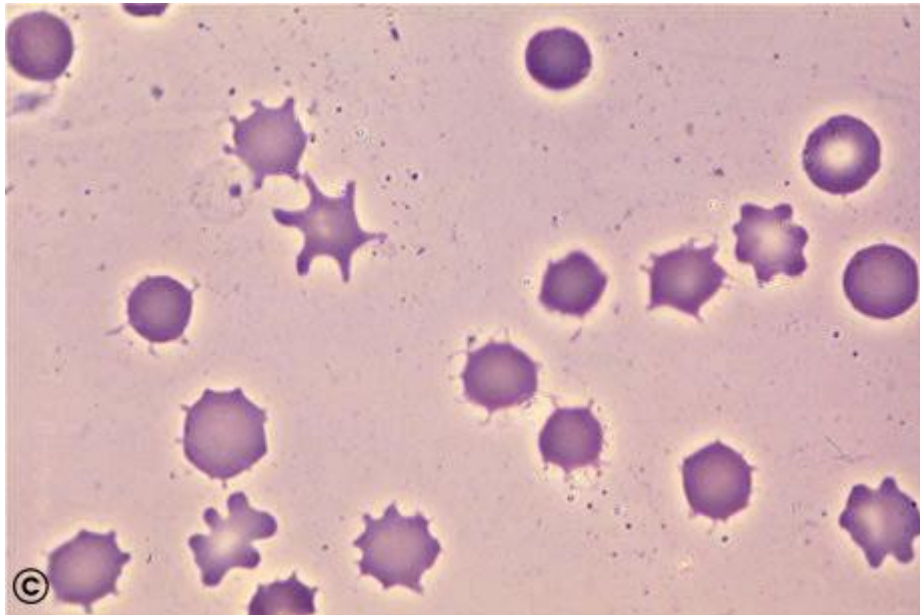
4.1.5. Bất thường do cấu trúc của màng hồng cầu

* Bệnh Minkowski Chauffard

Bệnh có tính chất gia đình, di truyền trội trên nhiễm sắc thể thường. Thường biểu hiện ở trẻ 5-12 tuổi. Nguyên nhân do thiếu khuyết màng hồng cầu làm mất một phần sợi spectrin nên hồng cầu có hình cầu, khi đi qua lách dễ bị giữ lại. Mặt khác những hồng cầu này khi đi qua chỗ hẹp phải tốn năng lượng thay đổi hình dạng nhiều hơn hồng cầu bình thường nên nhanh già hơn và đời sống ngắn hơn hồng cầu bình thường.

Xét nghiệm thấy: sức bền hồng cầu thay đổi (bắt đầu tan sớm hơn và tan hoàn toàn muộn hơn), hiện tượng này có thể xảy ra cho một quần thể ít tế bào, có thể nhạy cảm hơn sau khi ủ 37°C.

* **Bệnh hồng cầu hình gai** (hình răng cưa), bệnh hồng cầu hình thoi.



Hình 3.5. Hồng cầu hình răng cưa.

* **Bệnh đái huyết sắc tố kịch phát về đêm**

Là bệnh lý màng hồng cầu mắc phải. Bệnh do đột biến gen tổng hợp một thành phần màng hồng cầu ở tế bào gốc làm cho hồng cầu bệnh nhân dễ vỡ trong môi trường axit. Về đêm pH trong máu thường thấp nên có cơn tan máu gây đái huyết sắc tố.

4.2. Tan máu nguyên nhân ngoài hồng cầu

4.2.1. Tan máu miễn dịch

4.2.1.1. Thiếu máu tan máu sơ sinh

Bệnh tuy là xảy ra ở sơ sinh nhưng là do mắc phải. Nguyên nhân là do kháng thể đồng loại của mẹ qua rau thai trong quá trình chuyển dạ vào thai nhi làm hồng cầu thai nhi bị vỡ (ví dụ trường hợp mẹ nhóm Rh âm, con Rh dương). Hiện tượng này cũng có thể xảy ra khi mẹ đã từng được truyền máu mang kháng nguyên lạ nên sinh ra kháng thể, khi thai nhi cũng mang kháng nguyên này thì sẽ có hiện tượng tan máu.

4.2.1.2. Thiếu máu tan máu do tự kháng thể

Vì một lý do nào đó (ung thư, tự miễn...) cơ thể bệnh nhân sinh ra kháng thể chống lại chính hồng cầu của bản thân mình. Có hai loại tự kháng thể là kháng thể nóng hoạt động mạnh ở 37°C (thường là IgG) và kháng thể lạnh hoạt

động mạnh ở 4⁰C (thường là IgM).

4.2.1.2. Thiếu máu tan máu do thuốc

Một số thuốc có thể gây tan máu theo các cơ chế khác nhau.

- Thuốc kết hợp với protein huyết tương tạo thành phức hợp kháng nguyên kháng thể. Phức hợp này cố định lên màng hồng cầu, khi cơ thể sinh ra kháng thể chống lại và cùng với sự có mặt của bổ thể hồng cầu sẽ bị vỡ. Hay gặp là các thuốc quinidin, rifampicin.

- Thuốc cố định lên màng hồng cầu tạo nên kháng nguyên mới nên cơ thể sinh kháng thể chống lại. Hay gặp với penicillin.

Đặc điểm chung là xét nghiệm Coombs dương tính.

4.2.1.3. Tan máu sau truyền máu

Do truyền máu khác nhóm ngoài hệ ABO, cơ thể người nhận sẽ sinh ra kháng thể chống lại các hồng cầu truyền vào gây tan máu do đó truyền máu không hiệu lực và bệnh nhân sốt dai dẳng sau truyền máu.

4.2.2. Tan máu ngoài hồng cầu không do cơ chế miễn dịch

4.2.2.1. Đái huyết sắc tố kịch phát do lạnh

Chỉ gặp ở người lớn, tan máu hay xảy ra khi gặp lạnh hoặc về đêm. Nhóm tế bào gốc sinh máu có bất thường tạo ra một quần thể hồng cầu dễ vỡ khi bổ thể bị hoạt hóa.

4.2.2.2. Thiếu máu tan máu mắc phải không phải do kháng thể tự sinh

Do vỡ hồng cầu trong lòng mạch: hay gặp trong những trường hợp nhiễm độc (thạch tín, nấm, rắn cắn), nhiễm khuẩn nặng, ký sinh trùng (sốt rét).

Do cường lách trong xơ gan.

Do cơ học như van tim nhân tạo.

Tóm lại, tan máu là hiện tượng hồng cầu bị vỡ quá mức sinh lý gây cho bệnh nhân nhiều hậu quả, bệnh có nhiều nguyên nhân khác nhau và do đó cũng biểu hiện khác nhau trên lâm sàng cũng như trên các tiêu bản máu ngoại vi.

LƯỢNG GIÁ

1. Giải thích khái niệm, phân loại thiếu máu?
2. Trình bày nguyên nhân, triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm của bệnh thiếu máu thiếu sắt?
3. Trình bày nguyên tắc phòng và điều trị thiếu máu thiếu sắt?

BÀI 4: HỆ THỐNG KHÁNG NGUYÊN BẠCH CẦU VÀ TIỂU CẦU

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được đặc điểm 1 số kháng nguyên bạch cầu và tiểu cầu.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

2. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

3. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập và nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm.

NỘI DUNG

1. Hệ thống kháng nguyên bạch cầu (Human Leucocyte antigen)

1.1. Cấu tạo

Hệ kháng nguyên HLA có 3 lớp

- HLA lớp I (class I): có chức năng hoạt động tế bào T lympho gây độc (cytotoxic T- lymphocytes, = Tc, hoặc T-CDa). Trực tiếp tham gia phản ứng trung gian tế bào, tiêu diệt tế bào đích có kháng nguyên lạ đặc hiệu. Có thể nói HLA- lớp I đóng vai trò như một "tay" rất nhạy với kháng nguyên của tế bào Tc để phá huỷ tế bào đích. HLA - lớp I có tốc độ tiêu diệt tế bào mang virus khi có peptid là virus trên bề mặt tế bào. Thí dụ, viêm gan B, kháng nguyên virus lắng đọng ở vị trí HLA lớp I trên bề mặt tế bào gan, tế bào Tc sẽ nhận biết kháng nguyên này của virus và phá huỷ tế bào mang virus HBV (cơ chế tự miễn dịch trong viêm gan do virus).

- HLA- lớp II: tham gia hoạt hoá tế bào trình diện kháng nguyên

Các kháng nguyên phân tử lớn từ bên ngoài vào cơ thể, đại thực bào nuốt kháng nguyên này, rồi phân kháng nguyên thành các mảnh nhỏ (small peptides), các nhóm quyết định kháng nguyên sẽ chuyển lên màng tế bào, lắng đọng trên mặt thực bào. Thực bào lúc này trở thành tế bào trình diện kháng nguyên (APC). Tiếp theo, tế bào APC sẽ chuyển thông tin kháng nguyên cho tế bào miễn dịch (T, B lymphocytes), có thể nói HLA-lớp II đóng vai trò quan trọng trong hoạt hoá đại thực bào trong quá trình trình diện kháng nguyên của đại thực bào, đồng thời tạo ra các cytokin và khuếch đại phản ứng miễn dịch của cơ thể, như IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4...

HLA lớp I và II hợp tác trong quá trình miễn dịch bao gồm cả trả lời miễn dịch và phản ứng kháng nguyên- kháng thể của cả miễn dịch tế bào (HLA lớp I với T-CDa) và miễn dịch thể dịch (HLA lớp II với T-CD4 và B lympho). Thiếu kháng nguyên HLA tế bào miễn dịch sẽ không nhận biết kháng nguyên, do đó khi ghép cơ quan tổ chức, việc lựa chọn người cho tương đồng hệ HLA còn nhằm mục đích giảm nhận biết kháng nguyên lạ của tế bào miễn dịch thông qua hệ MHC.

- HLA- lớp III là bổ thể

1.2. Kỹ thuật phát hiện

- Phân lập lympho

Kỹ thuật phân lập lympho chung: Ficoll trọng lượng phân tử 400.000, được sử dụng làm chất phân lập lympho rất có hiệu quả, đạt được 90% là lympho.

Kỹ thuật phân lập T, B lympho: sử dụng kỹ thuật bông thủy tinh phân lập T và B lympho. T lympho dùng xác định HLA-A, B, C; B lympho sử dụng xác định HLA-DR, DQ....

- Kỹ thuật huyết thanh

Kỹ thuật ngưng kết: Kỹ thuật đầu tiên được sử dụng phát hiện HLA.

Kỹ thuật độc tế bào vi thể (microlymphocytotoxicity test): sử dụng xác định các antigen thuộc HLA-A, B, c, DR, DQ. Tuy nhiên HLA-DR kém nhạy đối với phản ứng độc tế bào, do vậy nhiều nước đã dùng kỹ thuật PCR để xác định kháng nguyên thuộc hệ HLA-DR.

Lớp I (A, B, C) có mặt trên T lympho, còn lớp II (DR, DQ, DP) có mặt trên B lympho, đại thực bào, tế bào T hoạt hoá (activated T lymphocyte).

Vì vậy muốn định typ lớp I cần phân lập T lympho, còn định typ lớp II cần phân lập B lympho dùng cho phản ứng.

Phản ứng chéo giữa huyết thanh người nhận và lympho người cho. Nếu phản ứng (+) chứng tỏ huyết thanh người nhận có kháng thể, hoặc ngược lại.

- Kỹ thuật tế bào

Nuôi cấy hỗn hợp (mixed culture): nuôi cấy hỗn hợp tế bào lympho giữa hai cá thể bằng cách ức chế phát triển lympho ở một cá thể, tế bào này làm nhiệm vụ của một kháng nguyên. Kháng nguyên này sẽ kích thích sự chuyển dạng lympho của một cá thể khác trong nuôi cấy hỗn hợp.

- Kỹ thuật phân tử

DNA probe: sử dụng kỹ thuật khuếch đại gen (PCR: polymerase Chain reaction). cần thiết cho kỹ thuật này là việc sản xuất các chất môi (Primer) cho phản ứng PCR.

- Tìm kiếm kháng thể đặc hiệu cho các kháng nguyên hệ HLA

Đây là vấn đề khó khăn trong nghiên cứu hệ HLA. Nguồn cung cấp kháng thể đặc hiệu có thể từ:

Phụ nữ chửa đẻ từ 2-3 lần trở lên, lấy huyết thanh của họ tìm các kháng thể này. Có thể miễn cảm cho các cá thể có khả năng đáp ứng miễn dịch tốt để có nguồn cung cấp kháng thể lâu dài. Hoặc người truyền máu nhiều lần, trường hợp này kháng thể đa giá rất khó để có kháng thể đơn dòng, để có kháng thể đơn đặc hiệu cần dùng kỹ thuật pha loãng để lựa chọn.

Tổng hợp: kháng thể đặc hiệu HLA có thể tổng hợp nhờ hiểu biết cấu trúc gen của chúng, bằng kỹ thuật lai di truyền kháng thể này đã được sản xuất.

2. Hệ kháng nguyên tiểu cầu

Tiểu cầu có hệ thống kháng nguyên khá phức tạp, ngoài các kháng nguyên tương tự như hồng cầu, còn có hệ thống kháng nguyên riêng biệt với PIA1, PIA2, P2E1...chỉ có ở tiểu cầu.

- Vấn đề tên gọi của hệ kháng nguyên này còn đang chưa được thống nhất. Cho đến nay, đã có khoảng 24 kháng nguyên khác nhau đã được xác định bằng phương pháp huyết thanh học và trong số đó có 12 kháng nguyên đã được xếp nhóm thành sáu cặp (HPA-1,-2,-3,-4,-5 và -15). Với 12 kháng nguyên còn lại vẫn còn đang được nghiên cứu.

- Các kháng thể đặc hiệu của các kháng nguyên này có vai trò trong các tình trạng bệnh lý giảm tiểu cầu do nguyên nhân miễn dịch, giảm tiểu cầu miễn dịch ở trẻ sơ sinh, giảm tiểu cầu sau truyền máu... Hiện nay cũng có một số phương pháp để xác định sự có mặt của các kháng thể này: ELISA, miễn dịch huỳnh quang...

3. Ứng dụng lâm sàng

- HLA và truyền máu

Truyền tiểu cầu và HLA tiểu cầu:

Tiểu cầu không có HLA-C, D rất ít kháng nguyên ABO hồng cầu.

Chỉ có HLA-A, B để giảm phản ứng miễn dịch đôi với HLA, người ta chọn người cho tiểu cầu là anh, chị, em ruột trong gia đình. Truyền tiểu cầu không có

lựa chọn HLA có thể gây phản ứng miễn dịch muộn chống tiểu cầu làm giảm tiểu cầu sau truyền máu (2-3 tháng sau truyền máu).

Phản ứng truyền máu không gây tan máu: gây độc bạch cầu, làm giảm bạch cầu do truyền máu mà không định nhóm kháng nguyên HLA.

Bệnh phổi cấp sau truyền máu: do vai trò của kháng nguyên bạch cầu, kháng nguyên này tạo ra kháng thể, phản ứng kháng nguyên kháng thể (phức hợp miễn dịch) lắng đọng ở mao mạch phổi gây bệnh phổi cấp.

- Bệnh ghép chống chủ sau truyền máu (GVHD) phụ thuộc vào nhiều yếu tố trong đó có khả năng miễn dịch của người nhận và lympho sống có khả năng miễn dịch của người cho máu (xem bài bệnh GVHD).

HLA và ghép

Ghép tủy cần xác định nhóm máu ABO và hệ HLA-A, B, D, C; DR, DQ, DP.

Ngoài ra còn có thể sử dụng kỹ thuật nuôi cấy hỗn hợp (MLC: Mixed lymphocyte culture).

Ghép thận cần chú ý các gen sau đây:

Nhóm máu ABO

HLA-A, B

HLA-DR, còn HLA- c và DQ ít có vai trò nên ít được chú ý lựa chọn.

Làm phản ứng chéo (cross match) giữa huyết tương người nhận và lympho người cho và ngược lại. Tuy nhiên phản ứng này không được khuyến cáo.

Nuôi cấy hỗn hợp (mixed lymphocyte culture): giữa lympho người nhận với lympho người cho đã bất hoạt.

- HLA và bệnh lý

Có một số bệnh thường gặp ở một số người có gen tương ứng, vì vậy HLA đã được đưa vào nghiên cứu dịch tễ bệnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy có một số gen liên quan đến một số bệnh như sau:

HLA-B27 thường gặp ở người bị bệnh viêm cột sống dính khớp, ở bệnh nhân này có tới 90% người có HLA-B27. Trong khi đó ở cộng đồng gen này chiếm 40%.

DW4 liên quan tới thấp khớp, chiếm 40%.

DQW8 bệnh đái tháo đường, chiếm 32%.

DR3 gặp ở người bị bệnh nhược cơ (Myasthenia Gravis) chiếm 40%.

DR2 gặp ở người bị lupus ban đỏ, chiếm 30%.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày hệ thống kháng nguyên của bạch cầu?
2. Trình bày các phương pháp phát hiện kháng nguyên của bạch cầu?
3. Trình bày hệ thống kháng nguyên của tiểu cầu?
4. Trình bày ứng dụng lâm sàng của hệ thống kháng nguyên của bạch cầu và tiểu cầu?

BÀI 5: BỆNH ĐÔNG - CÀM MÁU

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được các bệnh lý giảm tiểu cầu và rối loạn chất lượng tiểu cầu.
2. Trình bày được các bệnh đông máu huyết tương di truyền và mắc phải.

* Kỹ năng

3. Nhận định được kết quả xét nghiệm trong chẩn đoán.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

NỘI DUNG

1. Bệnh cầm máu sơ khởi

1.1. Bệnh giảm tiểu cầu miễn dịch nguyên phát

* *Khái niệm*

Giảm tiểu cầu miễn dịch nguyên phát (GTCMDNP) được xác định khi giảm số lượng tiểu cầu đơn độc, số lượng tiểu cầu ở máu ngoại vi < 100 (G/L) và không có nguyên nhân hoặc bệnh lý nào khác gây ra tình trạng giảm tiểu cầu.

* *Triệu chứng lâm sàng*: Có thể gặp các triệu chứng và hội chứng sau:

- Hội chứng xuất huyết: Người bệnh thường có xuất huyết tự nhiên dưới da đa hình

thái (dạng chấm, nốt, mảng hoặc đám xuất huyết), đa lú tuối (màu sắc nốt xuất huyết thay đổi theo thời gian: Đỏ, tím, xanh, vàng sau đó mất đi không để lại dấu vết) hoặc người bệnh có chảy máu chân răng, chảy máu mũi, nôn ra máu, đi ngoài phân đen, kinh nguyệt kéo dài, đi tiểu ra máu... Khoảng 20-30% bệnh nhân người lớn mới được chẩn đoán không có biểu hiện xuất huyết; ở trẻ em tỷ lệ này khoảng 10%. Triệu chứng xuất huyết nên được phân chia mức độ nặng (theo WHO) hoặc NCI-CTCAE (bảng 4).

- Hội chứng thiếu máu: Có thể gặp và mức độ thiếu máu tương xứng với mức độ xuất huyết.

- Hội chứng nhiễm trùng: Bệnh nhân ITP có thể nhiễm trùng thứ phát hoặc tăng nguy cơ nhiễm trùng do điều trị ức chế miễn dịch hoặc cắt lách.

- Gan, lách, hạch ngoại vi không to.

* *Xét nghiệm*

- Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi:

- + Số lượng tiểu cầu giảm $< 100 \text{ G/L}$;
- + Số lượng hồng cầu, lượng huyết sắc tố, số lượng bạch cầu và công thức bạch cầu thường trong giới hạn bình thường;
- + Số lượng hồng cầu và lượng huyết sắc tố có thể giảm nếu có xuất huyết nhiều và mức độ giảm tương xứng với mức độ xuất huyết.
- Tủy đồ:
 - + Mật độ tế bào tủy bình thường hoặc tăng;
 - + Số lượng mẫu tiểu cầu thường tăng sinh, một số bình thường;
 - + Dòng hồng cầu và bạch cầu hạt phát triển bình thường;
 - + Không gặp tế bào ác tính.
- Xét nghiệm cầm - đông máu:
 - + Thời gian máu chảy Kéo dài;
 - + Co cục máu: Cục máu không co hoặc co không hoàn toàn;
 - + Các xét nghiệm PT, APTT, TT, fibrinogen: Bình thường;
 - + Kháng thể kháng phospholipid (anti beta2-glycoprotein IgM, IgG; anti cardiolipin; IgM, IgG): Có thể gặp ở 40% trường hợp ITP;
 - + Xét nghiệm TEG/ ROTEM thường có hình ảnh giảm đông.
- Kháng thể đặc hiệu kháng GPIIb-IIIa (hoặc GPIb) trên bề mặt tiểu cầu: Dương tính gặp trong khoảng 60 - 80% trường hợp ITP mạn hoặc ITP dai dẳng.

** Chẩn đoán xác định*

Theo Đồng thuận của Nhóm Thực Hành Quốc Tế (International Working Group -IWG) năm 2009 về bệnh Giảm tiểu cầu miễn dịch nguyên phát xác định: “*Giảm tiểu cầu miễn dịch nguyên phát - ITP được xác định khi: Giảm số lượng tiểu cầu đơn độc, số lượng tiểu cầu ở máu ngoại vi $< 100 \text{ G/L}$ và không có nguyên nhân hoặc bệnh lý nào khác gây ra tình trạng giảm tiểu cầu*”.

1.2. Bệnh chất lượng tiểu cầu.

- Rối loạn chức năng tiểu cầu là bệnh lý do bất thường các glycoprotein (GP), hạt, enzym hoặc receptor của tiểu cầu... dẫn đến bất thường các chức năng dính, ngưng tập, giải phóng và hoạt tính tiền đông máu của tiểu cầu.
- Bệnh có thể do di truyền hoặc mắc phải, triệu chứng thường gặp là xuất huyết dưới da, xuất huyết niêm mạc (chảy máu mũi, chảy máu chân răng, rong kinh)

1.2.1. Nguyên nhân

a. Do bất thường glycoprotein (GP)

- Bất thường GP Ib (CD42b,c) /IX (CD42a)/V làm cho tiểu cầu không gắn được

với yếu tố von - Willebrand do đó tiểu cầu không dính vào lớp collagen dưới nội mạc (Hội chứng Bernard - Soulier).

- Bất thường GP IIb/IIIa (CD41/CD61) làm cho tiểu cầu không gắn được với các chất kích tập (fibrinogen) dẫn đến tiểu cầu không ngưng tập được với nhau (bệnh suy nhược tiểu cầu Glanzmann).

- Bất thường GPIIb α (CD42b,c) gây bệnh von-Willebrand thể tiểu cầu.

- Bất thường Glycoprotein IV (CD36).

- Bất thường Glycoprotein VI.

b. Do bất thường tương tác khung - màng tế bào: Hội chứng Wiskott - Aldrich.

c. Do bất thường hạt tiểu cầu

- Thiếu hụt kho dự trữ δ .

- Hội chứng tiểu cầu xám (thiếu hạt α).

- Thiếu hụt kho dự trữ α , δ .

- Bệnh rối loạn chức năng tiểu cầu Quebec (yếu tố V Quebec).

d. Do bất thường hoạt tính tiền đông máu của tiểu cầu (hội chứng Scott).

đ. Do bất thường receptor hoạt hóa, dẫn truyền tín hiệu và hiện tượng tiết của tiểu cầu.

- Bất thường receptor dẫn truyền tín hiệu hoạt hóa đặc hiệu (agonist - specific signal transduction).

- Bất thường protein gắn guanosine - triphosphat (GTP).

- Bất thường chuyển hóa acid arachidonic và sản xuất thromboxan.

- Bất thường phospholipase C, G α_q , huy động và đáp ứng calci.

e. Bất thường cấu trúc khung tế bào tiểu cầu.

f. Bất thường yếu tố phiên mã dẫn đến bất thường chức năng tiểu cầu.

- RUNX1 (bất thường chức năng tiểu cầu gia đình với khuynh hướng chuyển thành lơ xê mi cấp dòng tủy).

- GATA -1.

- FLI1 (tiểu cầu dị hình lưỡng hình với hạt alpha không lò và giảm tiểu cầu/ hội chứng Paris - Trousseau/Jacobsen).

- GFI1B.

1.2.2. Rối loạn chức năng tiểu cầu mắc phải thứ phát

a. Một số nhóm bệnh chính:

- Rối loạn chức năng tiểu cầu trong các bệnh lý Huyết học: Hội chứng tăng sinh tủy mạn tính, lơ xê mi cấp và mạn, hội chứng rối loạn sinh tủy, đái huyết sắc tố

kịch phát ban đêm...

- Rối loạn chức năng tiểu cầu trong bệnh lý không phải huyết học: Tăng ure máu...
- Rối loạn chức năng tiểu cầu do thuốc: Aspirin, dipyridamole, thuốc kháng viêm non-steroid, ticlopidine, clopidogrel, abciximab, eptifibatide, tirofiban...

b. Nguyên nhân: Do chế độ dinh dưỡng.

- Chế độ ăn kiêng với dầu cá giàu ω -3 dẫn đến giảm acid arachidonic tiểu cầu.
- Các đồ ăn/thực phẩm có hành/chiết xuất hành dẫn đến ức chế tổng hợp acid arachidonic tiểu cầu.
- Các đồ ăn/thực phẩm có tỏi ức chế gắn tiểu cầu với fibrinogen dẫn đến giảm NTTC.
- Các đồ ăn/thực phẩm có thì là/nghệ dẫn đến ức chế ngưng tập tiểu cầu và sinh tổng hợp eicosanoid...

1.2.3. Triệu chứng

a. Triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng thường gặp là xuất huyết ở dưới da và niêm mạc như: Chảy máu chân răng, chảy máu mũi, xuất huyết tiêu hóa, tiểu đỏ, kinh nguyệt kéo dài, xuất huyết não, chảy máu sau nhổ răng, sau phẫu thuật... Hiếm gặp xuất huyết tiêu hóa hoặc chảy máu khớp.

b. Xét nghiệm

- Số lượng và hình thái tiểu cầu: Thường bình thường.
- Thời gian máu chảy: Thường kéo dài.
- Co cục máu đông: Co không hoàn toàn hoặc không co.
- PFA (*platelet function analysis*): Kéo dài.
- Ngưng tập tiểu cầu với các chất kích tập (ADP, Thrombin..): Giảm hoặc không ngưng tập

1.3. Bệnh tiểu cầu di truyền và mắc phải.

1.3.1. Giảm tiểu cầu miễn dịch đồng loại ở trẻ sơ sinh (neonatal alloimmune thrombocytopenia)

- Khi mẹ không có một loại đồng kháng nguyên tiểu cầu, khi có thai đưa trẻ lại có kháng nguyên này. Trong một số trường hợp người mẹ miễn cảm với kháng nguyên này, sinh ra kháng thể. Kháng thể truyền sang thai nhi qua rau thai phá hủy tiểu cầu của thai nhi.
- Khoảng 80% bệnh gây ra do kháng thể chống kháng nguyên HPA-1a của tiểu

cầu, 15% do kháng thể chống kháng nguyên HPA-5a, 5% do kháng thể chống các loại kháng nguyên khác.

1.3.2. Hội chứng Bernard- Soulier

- Là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, hậu quả là tiểu cầu thiếu GPIIb và không gắn được với vWF, dẫn đến hiện tượng dính không xảy ra.
- Chẩn đoán: thời gian máu chảy kéo dài, giảm tiểu cầu nhẹ, có nhiều tiểu cầu lớn trên lam máu. Xét nghiệm ngưng tập tiểu cầu: không ngưng tập với ristocetin trong khi vWF bình thường.

1.3.3. Bệnh suy nhược tiểu cầu Glanzmann

- Là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Hậu quả tiểu cầu thiếu GPIIb-IIIa, tiểu cầu không gắn được với fibrinogen và không ngưng tập được.
- Chẩn đoán: tình trạng xuất huyết tùy theo mức độ nặng nhẹ, thời gian máu chảy kéo dài. Ngưng tập tiểu cầu với ADP, collagen, adrenalin giảm, trong khi ngưng tập với ristocetin bình thường.

2.1.4. Bệnh Von Willebrand

- Là một bệnh di truyền gây giảm hoặc rối loạn chức năng yếu tố von Willebrand (vWF) do đột biến điểm hoặc mất đoạn gen.
- Lâm sàng: chủ yếu là chảy máu niêm mạc, hay gặp chảy máu mũi, rong kinh. Trong trường hợp nặng có thể có các mảng bầm tím. Do xuất huyết tự nhiên thường hiếm gặp ở thể nhẹ nên thường được chẩn đoán sau xuất huyết nặng khi phẫu thuật.
- Chẩn đoán: thời gian máu chảy kéo dài, giảm yếu tố VIII, giảm vWF, ngưng tập tiểu cầu với ristocetin giảm.

2.2. Bệnh đông máu huyết tương

2.2.1. Bệnh Hemophilia

- Bệnh sinh: là bệnh rối loạn đông máu di truyền, là bệnh di truyền gen lặn, trên nhiễm sắc thể giới (X), vì vậy Hemophilia hầu hết gặp ở nam giới, nữ giới chỉ mang gen bệnh. Hầu hết bệnh nhân Hemophilia đều có tiền sử gia đình.

- Các thể Hemophilia

+ Hemophilia A: (thiếu yếu tố VIII)

(chiếm $\approx 85\%$ các trường hợp ($\approx 1/5000$ trẻ trai)

+ Hemophilia B: (thiếu yếu tố IX)

(chiếm $\approx 14\%$ các trường hợp ($\approx 1/30.000$ trẻ trai)

+ Hemophi C : thiếu yếu tố XI

Và các thể khác : $\approx 1\%$

** Triệu chứng lâm sàng*

Đặc điểm lâm sàng là chảy máu khó cầm ở nhiều bộ phận. Có các hình thức:

- + Máu chảy khó cầm ở vết thương
- + Khối máu tụ ở khớp, ở cơ
- + Chảy máu ở niêm mạc
- + Mức độ chảy máu, độ tuổi xuất hiện tùy theo mức độ bệnh
 - . Thể nặng: Nồng độ yếu tố VIII < 1%
 - . Thể trung bình: Nồng độ yếu tố VIII từ 1 - 5 %.
 - . Thể nhẹ: Nồng độ yếu tố VIII từ > 5 - 30%.
- + Vị trí chảy máu
 - + Nhiều nhất là tụ máu khớp (70 - 80%) trong đó khớp gối là hay gặp nhất (50 - 80 %) rồi đến khớp khuỷu, cổ chân và khớp háng.
 - . Khối máu tụ trong cơ và dưới da (10 - 20%)
 - . Chảy máu vị trí khác 5 - 15%.
- + Biến dạng khớp: do chảy máu nhiều lần
- Xét nghiệm
 - + Thời gian máu chảy, số lượng tiểu cầu, thời gian Thrombin bình thường
 - + Thời gian máu đông, Howell, APTT kéo dài
 - + Định lượng VIII, IX giảm (tùy thể)
- Chẩn đoán
 - + Có triệu chứng lâm sàng ở trên: chú ý chảy máu tái đi, lại nhiều lần
 - + Tiền sử: bản thân và gia đình
- Xét nghiệm:
 - + Thời gian máu đông, Howell, APTT kéo dài
 - + Định lượng yếu tố: VIII, IX.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các bệnh lý giảm tiểu cầu và rối loạn chất lượng tiểu cầu?
2. Trình bày các bệnh đông máu huyết tương di truyền và mắc phải?

BÀI 6: TAI BIẾN DO TRUYỀN MÁU

MỤC TIÊU

* *Kiến thức*

1. Trình bày được nguyên nhân, triệu chứng và cách dự phòng phản ứng tan máu cấp do truyền máu.
2. Trình bày nguyên nhân, triệu chứng và cách dự phòng các tai biến chậm do truyền máu.

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

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

NỘI DUNG

1. Phản ứng tan máu cấp do truyền máu

1.1. Nguyên nhân

Thường do truyền máu toàn phần hoặc khối hồng cầu không tương đồng về nhóm máu ABO. Kháng thể kháng A hoặc B (là IgM) vốn có trong huyết tương bệnh nhân gây ngưng kết hồng cầu có kháng nguyên tương ứng truyền vào gây tan máu nội mạch cấp tính.

1.2. Biểu hiện lâm sàng:

Biểu hiện sốt, rét run, đau lưng (do thiếu máu và co cứng cơ chứ không phải do suy thận), khó thở, suy hô hấp, vô niệu, hạ huyết áp và sốc, đái huyết sắc tố. Thời gian bắt đầu và mức độ nặng của các triệu chứng trên nhiều khi không phụ thuộc vào lượng máu truyền vào do sự hoạt hoá bổ thể và các cơ chế gây sốc kiểu phản vệ. Biểu hiện lâm sàng của tan máu cấp sau truyền máu thường diễn ra theo 3 giai đoạn: giai đoạn sốc, giai đoạn vô niệu và giai đoạn hồi phục (đái nhiều).

Chẩn đoán: biểu hiện lâm sàng xuất hiện sớm một vài phút hoặc vài giờ ngay sau truyền máu. Xét nghiệm mẫu máu bệnh nhân và đơn vị máu nghi ngờ phát hiện không tương đồng hệ nhóm máu thường là hệ ABO. Các xét nghiệm đánh giá tình trạng tan máu như bilirubin (cao nhất 3 - 6 giờ sau cơn tan máu cấp), huyết sắc tố trong huyết thanh dương tính. Nghiệm pháp Coombs trực tiếp dương tính cho thấy có sự gắn kháng thể lên hồng cầu.

1.3. Nguyên tắc điều trị và dự phòng

** Nguyên tắc điều trị*

- Lập tức ngừng truyền máu.
- Điều trị ức chế phản ứng miễn dịch - dị ứng, nâng huyết áp, duy trì đường thở phù hợp và đảm bảo lọc máu tại thận bằng truyền dịch, thuốc lợi tiểu, chạy thận nhân tạo khi cần.
- Thu hồi đơn vị máu truyền và mẫu máu bệnh nhân để xác định lại nhóm máu và làm lại phản ứng chéo.
- Xét nghiệm bilirubin máu, huyết sắc tố niệu, thay máu nếu thấy cần thiết.

** Nguyên tắc dự phòng*

- Đảm bảo quy trình phát máu chính xác bao gồm tuân thủ các quy định hành chính như ghi nhãn máu đúng, xác định đúng chai máu và bệnh nhân cần truyền máu, làm đủ các xét nghiệm xác định nhóm máu người cho và bệnh nhân và phản ứng chéo khi phát máu cũng như tại giường bệnh.

2. Phản ứng tan máu muộn sau truyền máu

2.1. Nguyên nhân: do có hiện tượng miễn dịch thứ phát chống lại các đồng kháng nguyên hồng cầu (ví dụ như hệ Rh, Kell, Kidd...). Kháng thể bắt đầu tạo ra sau khi người bệnh tiếp xúc với kháng nguyên lạ trong máu truyền vào 1 -2 tuần.

2.2. Biểu hiện lâm sàng: thường không có biểu hiện lâm sàng đặc hiệu cho tan máu mà chỉ có hiện tượng giảm nồng độ hemoglobin không do các nguyên nhân khác. Trong trường hợp có cơn tan máu nặng do hiệu giá không thể cao bệnh nhân có thể có các biểu hiện đặc trưng như sốt rét run, vàng da, thiếu máu...

- **Chẩn đoán:** biểu hiện lâm sàng của thiếu máu không giải thích được nguyên nhân sau truyền máu và (hoặc) biểu hiện lâm sàng của cơn tan máu. Xét nghiệm: bilirubin huyết thanh tăng, có huyết sắc tố trong huyết thanh, nghiệm pháp Coombs trực tiếp dương tính (thường với IgG), nghiệm pháp Coombs gián tiếp (phát hiện loại đồng kháng thể máu trong huyết thanh người bệnh) dương tính.

2.3. Nguyên tắc điều trị và dự phòng

** Nguyên tắc điều trị*

do mức độ của tai biến này thường nhẹ nên có thể không cần điều trị tích cực trừ trường hợp có các biểu hiện nặng như khi có biểu hiện thận.

** Nguyên tắc dự phòng*

- chọn người cho máu tương đồng về cả các hệ nhóm máu khác ngoài hệ ABO cho các trường hợp bệnh nhân có nguy cơ cao (như truyền máu nhiều lần).

- Xét nghiệm sàng lọc kháng thể (thử nghiệm pháp Coombs gián tiếp) để phát hiện các đồng kháng thể mới xuất hiện trong máu người được truyền máu.

3. Phản ứng sốt sau truyền máu không do tan máu:

3.1. Nguyên nhân: do không phù hợp nhóm bạch cầu và tiểu cầu của máu người cho và người nhận (Hệ HLA). Kháng thể và không nguyên tương tác dẫn đến giải phóng các chất gây sốt.

3.2. Biểu hiện lâm sàng: sốt có thể kèm theo rét run hoặc không xảy ra trong hoặc ngay sau truyền máu.

Chẩn đoán: chẩn đoán xác định sau khi loại trừ các nguyên nhân khác gây sốt (ví dụ tan máu, nhiễm khuẩn...). Việc khẳng định nguyên nhân thường rất đắt nên trên thực tế chủ yếu là dùng chẩn đoán loại trừ.

3.4. Nguyên tắc điều trị và dự phòng:

* *Nguyên tắc điều trị*

tạm ngừng truyền, điều trị triệu chứng bằng thuốc hạ sốt, tiến hành các xét nghiệm chẩn đoán nguyên nhân sốt.

* *Nguyên tắc dự phòng*

truyền khối hồng cầu, máu toàn phần... đã loại bỏ bạch cầu bằng bộ lọc bạch cầu.

4. Các phản ứng dị ứng do truyền máu:

4.1. Mê đậy:

* *Nguyên nhân:* do các dị nguyên có trong huyết tương và các chế phẩm máu khác có chứa huyết tương dẫn đến giải phóng histamin từ các mastocyt bị kháng thể (IgG, IgE) bao phủ. Bệnh hay gặp trên người có tiền sử dị ứng.

* *Biểu hiện lâm sàng:* nổi sẩn ngứa (mê đậy).

Chẩn đoán: biểu hiện lâm sàng đặc trưng (mê đậy sẩn ngứa) biểu hiện sớm sau khi truyền máu hoặc ngay sau khi đang truyền máu không kèm theo các triệu chứng khác.

* *Nguyên tắc điều trị:* tạm ngừng truyền máu (thường không cần ngừng truyền máu hẳn nếu chỉ có nổi mê đậy đơn thuần) và điều trị chống dị ứng bằng các thuốc kháng histamin (hiện nay hay dùng loại kháng histamin thế hệ 3).

* *Nguyên tắc dự phòng:* với những người có cơ địa dị ứng và có nổi mê đậy nhiều lần cần loại bỏ huyết tương khi truyền máu (truyền hồng cầu rửa) để loại trừ các dị nguyên hoà tan.

4.2. Phản ứng phản vệ:

* *Nguyên nhân*: thường gặp hơn ở những người có thiếu hụt IgA bẩm sinh do đó có thể tạo ra kháng thể kháng IgA. Tuy nhiên tỷ lệ phản ứng phản vệ trên bệnh nhân truyền máu thường là rất ít.

* *Biểu hiện lâm sàng*: là biểu hiện của sốc phản vệ như khó thở, tụt huyết áp, co thắt phế quản, nôn, đau bụng, vã mồ hôi, đại tiểu tiện không tự chủ,...thường xảy ra rất sớm sau khi bắt đầu truyền máu.

- *Chẩn đoán*: dựa vào triệu chứng lâm sàng điển hình của sốc phản vệ xảy ra sớm có thể ngay khi vừa bắt đầu truyền máu.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị*: ngừng truyền máu ngay. Điều trị theo phác đồ chống sốc phản vệ với adrenalin, corticoid, thuốc kháng histamin, điều trị nâng huyết áp, duy trì lọc máu ở thận và hỗ trợ hô hấp.

- *Nguyên tắc dự phòng*: các bệnh nhân được phát hiện thiếu hụt IgA bẩm sinh và có kháng thể kháng IgA hoặc có sốc phản vệ trước đó do truyền máu cần được truyền máu từ người cho cũng thiếu IgA. Rửa hồng cầu để loại bỏ huyết tương. Dùng truyền máu tự thân trong phẫu thuật theo chương trình.

5. Phản ứng do đồng miễn dịch:

5.1. Nguyên nhân

Do cơ thể bệnh nhân có phản ứng miễn dịch với các đồng kháng nguyên có trong chế phẩm máu truyền vào (kháng nguyên hồng cầu, kháng nguyên HLA, kháng nguyên tiểu cầu đặc hiệu). Phản ứng miễn dịch với kháng nguyên hồng cầu thường xảy ra sau truyền máu hoặc mang thai có bất đồng về kháng nguyên hồng cầu (ví dụ người có nhóm máu Rh(-) sau khi được truyền máu Rh(+)) sẽ sinh kháng thể anti-D gây phản ứng miễn dịch ở lần truyền máu Rh(+)) sau). Phản ứng đồng miễn dịch chống lại kháng nguyên tiểu cầu bao gồm các kháng nguyên thuộc hệ HLA (hay gặp trên các bệnh nhân truyền máu nhiều lần) và kháng nguyên đặc hiệu tiểu cầu. Đồng miễn dịch với kháng nguyên HLA trên tiểu cầu gây tình trạng không đáp ứng với truyền tiểu cầu. Đồng miễn dịch với kháng nguyên đặc hiệu tiểu cầu thường gây giảm tiểu cầu miễn dịch ở trẻ sơ sinh.

5.2. Biểu hiện lâm sàng:

Đồng miễn dịch với kháng nguyên hồng cầu gây tan máu cấp hoặc tan máu muộn sau truyền máu. Đồng miễn dịch với kháng nguyên HLA trên tiểu cầu gây tình trạng không đáp ứng với truyền máu biểu hiện bằng triệu chứng xuất huyết

không giảm hoặc nặng lên và số lượng tiểu cầu không tăng sau truyền khối tiểu cầu. Giảm tiểu cầu miễn dịch ở trẻ sơ sinh biểu hiện bằng hội chứng xuất huyết rất sớm sau khi sinh với các biểu hiện xuất huyết nặng như xuất huyết não - màng não, xuất huyết tiêu hoá...

5.3. Nguyên tắc điều trị và dự phòng

* *Nguyên tắc điều trị:* điều trị tình trạng tan máu trong dòng miễn dịch với kháng nguyên hồng cầu. Đối với giảm tiểu cầu miễn dịch ở trẻ sơ sinh cần truyền tiểu cầu không bị kháng thể của mẹ phá huỷ như tiểu cầu của chính người mẹ rửa sạch.

* *Nguyên tắc dự phòng*

Đối với dòng miễn dịch với kháng nguyên hệ HLA trên tiểu cầu cần chọn người cho phù hợp HLA. Đối với giảm tiểu cầu miễn dịch ở trẻ sơ sinh có thể cân nhắc khả năng mổ đẻ để tránh xuất huyết do chân thương khi đẻ.

6. Các tai biến truyền máu do nhiễm trùng:

6.1. Viêm gan do truyền máu:

* *Nguyên nhân:* HCV, HBV, HDV. Hay gặp nhất và viêm gan do HCV.

* *Biểu hiện lâm sàng:* thường gặp viêm gan không có hoặc có ít biểu hiện vàng da. Bệnh nhân có thể có biểu hiện mệt mỏi, kém ăn, rối loạn tiêu hoá, đau khớp, sốt nhẹ... Trường hợp có vàng da thường biểu hiện lâm sàng nặng hơn.

Chẩn đoán xác định viêm gan: căn cứ vào triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm đặc hiệu cho hội chứng huỷ hoại tế bào gan như tăng men gan (SGPT, SGOT) và các hội chứng sinh hoá khác của tổn thương nhu mô gan...

Chẩn đoán nguyên nhân gây bệnh chủ yếu dựa vào các dấu ấn huyết thanh cụ thể như sau:

Nhiễm HBV:

Nhiễm HCV: Anti-C (+) đang hoặc đã nhiễm HCV.

Nhiễm HDV: Anti-HDV (+/-) nhiễm HDV cấp.

Anti-HDV(+) nhiễm HDV mạn hoặc đã từng nhiễm HDV.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- Nguyên tắc điều trị: *chủ yếu là điều trị triệu chứng.*

- Nguyên tắc dự phòng

+ Viêm gan C có khuynh hướng chuyển sang thể mạn tính dẫn đến xơ gan. Một số ít hơn bệnh nhân nhiễm virus viêm gan B cũng chuyển sang thể mạn tính và xơ gan. Vì thế dự phòng nhiễm viêm gan qua đường truyền máu là vấn đề cấp

thiết. Dự phòng nhiễm HBV và HCV bằng sàng lọc người cho máu (anti-HCV và HBsAg). Không có xét nghiệm sàng lọc thường quy cho HDV mà loại trừ thông qua sàng lọc HBV.

6.2. Nhiễm CMV và EBV

* *Biểu hiện lâm sàng*: đa số bệnh nhân không có biểu hiện lâm sàng. Các bệnh nhân có suy giảm miễn dịch có thể có các biểu hiện nhiễm virus như nhiễm trùng bạch cầu đơn nhân, viêm phổi do CMV...

* *Chẩn đoán*: chủ yếu dựa vào các dấu ấn huyết thanh ví dụ đảo ngược huyết thanh với CMV từ (-) sang (+) sau truyền máu.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị* : chỉ điều trị chống virus bằng ganciclovir và điều trị triệu chứng khi có biểu hiện lâm sàng.

- *Nguyên tắc dự phòng*: truyền chế phẩm máu từ người cho âm tính với CMV cho bệnh nhân chưa nhiễm CMV. Không cần sàng lọc EBV do rất hiếm khi có biểu hiện lâm sàng.

6.3. Nhiễm HIV và HTLV-1:

* *Nguyên nhân*: hiện nay nhiễm HIV-1 thường có tỷ lệ thấp do sàng lọc HIV thường quy (nguy cơ khoảng 1/100000-1/1000000). Lây nhiễm chủ yếu gặp ở giai đoạn cửa sổ. Nhiễm HTLV-1 chủ yếu gặp ở các vùng dịch tễ (Nhật Bản, châu Phi...)

* *Biểu hiện lâm sàng*: nhiễm HIV gây bệnh AIDS sau truyền máu. Nhiễm HTLV-1 có thể gây loxêmi cấp dòng lympho T hoặc u lympho.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị*: hiện chưa có phương pháp điều trị đặc hiệu nào có thể đạt được khỏi bệnh.

- *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*: sàng lọc người cho máu nhiễm HIV và HTLV-1.

6.4. Nhiễm ký sinh trùng sốt rét:

* *Nguyên nhân*: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale*.

* *Biểu hiện lâm sàng*: bệnh nhân bị bệnh sốt rét..

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị*: bằng các phác đồ điều trị sốt rét thông thường có đáp ứng tốt.

- *Nguyên tắc dự phòng*: xét nghiệm sốt rét cho người cho máu để sàng lọc.

6.5. Nhiễm xoắn khuẩn giang mai

* *Nguyên nhân*: Treponema pallidum

* *Biểu hiện lâm sàng*: ủ bệnh 4 tuần đến 4 tháng, thường biểu hiện giống giai đoạn 2 của bệnh giang mai điển hình (sẩn da lan toả và tổn thương hạch bạch huyết).

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị*: phác đồ điều trị giang mai thông thường.

* *Nguyên tắc dự phòng*

xét nghiệm sàng lọc giang mai, hạ thấp nhiệt độ máu bảo quản để giết xoắn khuẩn.

6.6. Máu nhiễm khuẩn

* *Nguyên nhân*: thường là các vi khuẩn Gram âm (Pseudomonas, E. coli...).

* *Biểu hiện lâm sàng*: thường là rất nặng bao gồm sốc nhiễm khuẩn do nội độc tố, đông máu rải rác nội mạch...

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị*: bằng kháng sinh phổ rộng liều cao và thay đổi tùy theo kháng sinh đồ. Điều trị biến chứng sốc và đông máu rải rác nội mạch.

- *Nguyên tắc dự phòng*: đảm bảo vô trùng quy trình lấy máu, điều chế và bảo quản chế phẩm máu và sàng lọc người cho máu.

7. Tai biến do truyền máu khối lượng lớn:

* *Nguyên nhân*: do truyền một khối lượng lớn máu với tốc độ nhanh gây quá tải tuần hoàn nhất là trên các bệnh nhân sẵn có bệnh tim hoặc phổi.

* *Biểu hiện lâm sàng*: là biểu hiện của suy tim phải: phù phổi cấp, xanh tím, khó thở...

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*

- *Nguyên tắc điều trị*: ngừng truyền máu, dùng thuốc lợi tiểu, thở oxy...

- *Nguyên tắc dự phòng*: không truyền máu quá nhanh nhất là trên các bệnh nhân có nguy cơ quá tải tuần hoàn như bệnh tim, phổi...

8. Nhiễm độc citrat:

* *Nguyên nhân*: do tác dụng phụ của citrat dùng để chống đông máu truyền vào như giảm calci máu.

* *Biểu hiện lâm sàng*: rối loạn chức năng tim do giảm calci máu.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng*: không truyền trên 1 đơn vị máu mỗi 5 phút. Bù calci bằng clorua calci hoặc gluconat calci nếu có biến chứng do giảm calci.

9. Tăng kali máu:

* *Nguyên nhân:* tăng kali máu do tăng kali chứa trong máu truyền vào sau quá trình bảo quản.

* *Biểu hiện lâm sàng:* biểu hiện thần kinh cơ do tăng kali máu.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng:* theo dõi lượng kali trong quá trình truyền máu khô lượng lớn. Truyền máu tươi hoặc rửa hồng cầu trước khi truyền. Điều trị thải kali nếu cần.

10. Nhiễm sắt do truyền máu nhiều lần:

* *Nguyên nhân:* tích tụ sắt trong tổ chức gây tổn thương các hệ cơ quan bị nhiễm sắt.

* *Biểu hiện lâm sàng:* thường thấy sau khi truyền khoảng 30- 50 đơn vị máu. Tuy nhiên biểu hiện nhiễm sắt thấy trong các cơ quan qua xét nghiệm còn sớm hơn nhiều. Biểu hiện lâm sàng như sạm da, tổn thương các hệ cơ quan nhất là tim, gan, hệ nội tiết.,.

Chẩn đoán: tiền sử truyền máu nhiều lần, dấu hiệu lâm sàng của nhiễm sắt và các xét nghiệm cho thấy tăng kho dự trữ sắt trong cơ thể.

* *Nguyên tắc điều trị và dự phòng:* chỉ định truyền máu có cân nhắc, tìm các phương pháp điều trị khác như ghép tuỷ xương cho các bệnh nhân mắc các bệnh đòi hỏi truyền máu nhiều lần như thalassemia hay suy tuỷ xương, sử dụng các tác nhân thải sắt để làm giảm tình trạng nhiễm sắt.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguyên nhân, triệu chứng tan máu cấp do truyền máu?
2. Trình bày cách dự phòng phản ứng tan máu cấp do truyền máu?
3. Trình bày nguyên nhân, triệu chứng các tai biến chậm do truyền máu?
4. Trình bày cách dự phòng các tai biến chậm do truyền máu?

BÀI 7: KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ ỨNG DỤNG TRONG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên lý của kỹ thuật sinh học ứng dụng trong xét nghiệm huyết học.
2. Trình bày được quy trình, nhận định kết quả và ứng dụng của các kỹ thuật sinh học phân tử ứng dụng trong xét nghiệm huyết học .

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

NỘI DUNG

1. Cơ sở lý thuyết

Cơ sở di truyền của cơ thể nằm trong các gen trên nhiễm sắc thể mà bản chất của nó là acid desoxy ribonucleic (AND). Cấu trúc của AND là chuỗi xoắn kép các nucleotid mà mỗi mắt xích là 1 base nitơ (A- adenin; G- Guanin; T- thimidin; C- cytocin). Hai sợi của sợi xoắn kép liên kết với nhau một cách không phải ngẫu nhiên mà có tính đặc trưng theo cặp base nitơ với sợi này với sợi kia theo cặp A-T và G-C.

Khi phân chia tế bào có quá trình nhân đôi AND, lúc này các sợi sẽ tách ra và mỗi sợi sẽ làm khuôn để tổng hợp nên 1 sợi bổ sung theo nguyên tắc cặp đôi (Cơ chế nửa bảo tồn) tạo nên 2 chuỗi AND hoàn toàn giống nhau và giống chuỗi ban đầu.

Người khỏe mạnh có bộ gen bình thường, tức là trình tự các base ni tơ trong các gen (AND) bình thường. Cho đến nay người ta thấy toàn bộ các gen đã biết chức năng chỉ chiếm 10% lượng AND của tế bào, còn lại 90% là những đoạn AND có trình tự acid nucleotid lặp lại mà nay người ta chưa biết chức năng. Trừ hai anh chị em sinh đôi cùng trứng, thật khó có thể tìm được 2 cá thể có bộ gen giống nhau, cho nên việc xác định gen nói lên được tính chất đặc trưng của cá thể và nguồn gốc bố mẹ (một nửa bộ gen có nguồn gốc từ bố và một nửa

bộ gen có nguồn gốc từ mẹ)

Trình tự các base ni tơ của gen bị thay đổi có thể gây bệnh di truyền. Người ta có thể dùng các kỹ thuật sinh học phân tử để xác định các thay đổi đó và xác định nguyên nhân gây bệnh. Ngoài ra cũng sử dụng các kỹ thuật này để xác định sớm sự có mặt của các loại virus, vi khuẩn gây bệnh.

2. Kỹ thuật chiết tách AND

Tùy theo mục đích mục đích của xét nghiệm và điều kiện thực tế, có thể chiết tách AND từ các nguồn khác nhau: Bạch cầu máu ngoại vi, từ tổ chức, chân tóc, bệnh phẩm nghi có tác nhân gây bệnh (dịch tiết, huyết thanh...). Trong phạm vi của bài sẽ chiết tách AND từ bạch cầu máu ngoại vi. Do dễ lấy mẫu nên kỹ thuật này thuận lợi cho các xét nghiệm tìm gen hay tìm đặc trưng cá thể.

2.1. Nguyên lý

ADN ở trong nhân tế bào cùng với protein, ARN ...nên quá trình tách và thu hoạch AND dựa trên các bước: phá màng tế bào và màng nhân, loại bỏ ARN, protein, tập trung AND.

2.2. Hóa chất và dụng cụ

* Dụng cụ

- Máy ly tâm thường và ly tâm lạnh có rotor dùng ly tâm ống eppendorf
- Máy lắc ống nghiệm
- Máy điện di
- Tủ ấm, bể ấm
- Đèn UV (Ultraviolet)
- Máy chụp ảnh UV
- Micro pipet, ống eppendorf
- Các thiết bị lạnh -30°C và -80°C

* Hóa chất

- Đệm PBS, đệm Tris 1M pha sẵn ở nhiệt độ 4°C .
- EDTA 0,5M; NaCl 5M; 1M pha sẵn ở nhiệt độ 4°C .
- SDS 10%; cồn tuyệt đối, cồn 70°
- Đệm TE; Natri acetat 3M; ARNase 10mg/ml để -30°C
- Proteinase 10mg/ml để -30°C ; phenol bão hòa; Chlorofoor.
- Isoamyl alcohol; Bromo phenol blu; dung dịch Ethidium bromid 1%, 5%.
- Đệm TBE x10
- + Tris base 108g

- + Acid boric 55 g
- + EDTA pH= 8: 0,5M
- + Nước cất vừa đủ 1000 ml

Dung dịch này sau pha để sẵn và khi dùng pha loãng 10 lần.

2.3. Quy trình kỹ thuật

- Lấy 0,5 ml máu tĩnh mạch, chống đông bằng heparin (tráng heparin vào bơm tiêm) cho vào ống eppendorf vô trùng.
- Rửa protein huyết tương
- Tẩy phá màng
- Loại bỏ ARN
- Loại protein
- Tủa AND
- Điện di AND

2.4. Nhận định kết quả

AND trên điện di sẽ thể hiện vạch phát sáng và màu trắng trên ảnh chụp.

2.5. Lưu ý khi thực hiện

Mẫu xét nghiệm ít, kỹ thuật qua nhiều bước nên thao tác cẩn thận, tránh nhiễm trùng, tránh mất mẫu.

3. Kỹ thuật thám AND và lai với mẫu ‘dò’

3.1. Nguyên lý

- Dựa vào đặc điểm của các enzyme hạn chế là cắt AND ở các vị trí lựa chọn đặc hiệu, do đó 1 enzym sẽ cắt AND bộ gen người ra nhiều đoạn có độ dài khác nhau từ vài đôi base đến đoạn có hàng trăm kilo base. Những đoạn này sau khi điện di trên gel agarose sẽ ở trên những vị trí nhất định theo độ dài của chúng.
- AND sẽ bị biến tính (hai sợi tách nhau ra) dưới tác dụng của dung dịch kiềm (NaOH) sau đó chuyển lên màng rắn với các vị trí tương ứng.

Dựa trên nguyên tắc bổ sung của 2 sợi AND sau khi biến tính và trung hòa trở lại, người ta dùng các đoạn AND dò (probe) có trình tự AND biết trước để kết hợp bổ sung với AND trên màng, qua đó phân tích và tìm ra đột biến.

3.2. Hóa chất và dụng cụ

* ADN: do tách chiết AND

* Hóa chất

- HCl 0,5M; Agarose 1% trong dung dịch đệm TBE; NaOH 0,5M; NaOH 0,25M
- NaCl 0,5M; NaCl 0,5M;

- Dung dịch SSC x20; Dung dịch SSC x2
- Đệm TE (Tris 10mM, EDTA 1mM pH 7,6)
- Màng lai (Màng nitrocellulose hay màng nilon)
- Mẫu dò
- Dịch đánh dấu
- Glutaldehyd
- Chất phát hiện phim, nước cất.

* Dụng cụ

- Hộp lai thường thường là loại ECL
- Màng lai
- Giấy thấm
- Tủ ấm
- Tủ làm đá
- Bể ấm
- Dụng cụ điện di

3. Các bước tiến hành

3.1. Cắt AND bằng enzyme giới hạn

- Trong ống nghiệm eppendorf cho
- + 10 μ g AND trong đệm TE
- + 10-20 đơn vị enzyme giới hạn (có thể là 50 đơn vị) trong đệm tương ứng
- + Nước cất vừa đủ 50 μ l
- + Ủ 30°C qua đêm
- + Lấy ra 1 phần choc hay điện di trên agarose 1%
- + Nhuộm và chụp ảnh kiểm tra xem AND cắt phù hợp chưa.

3.2. Thấm (Southern Blot)

- Điện di
- + Đổ gel agarose 1% tạo giếng
- + Chạy điện di AND đã cắt với dòng điện 1V/1cm chiều dài gel, thời gian 10-12 giờ (qua đêm)
- Xử lý gel (làm biến tính gel)
- + Trong hộp thủy tinh để 300 ml HCl 0,5M
- + Đặt gel vào lắc 15 phút (chú ý quan sát khi màu dung dịch trong hộp chuyển sang màu nâu là được)

Mục đích của bước này là lamfmaats putin (depurinasetion) để cắt đứt những

đoạn AND quá dài thành nhiều mảnh nhưng vẫn nằm yên ở 1 chỗ tạo điều kiện dễ thấm.

- Làm biến tính AND (Denaturation)

+ Cho agarose vào hộp đựng dung dịch 1 (NaCl 1,5M; NaOH 0,5M)

+ Lắc nhẹ trong 25 phút (quan sát khi dịch chuyển từ màu nâu thành màu xanh là được)

Mục đích của bước này là 2 sợi trong chuỗi xoắn kép AND tách ra.

- Trung hòa (Neutrolisation)

Nhấc gel ra và cho vào hộp đựng dung dịch 2 (NaCl 1,5M; NaOH 0,2M) lắc nhẹ trong 15 phút.

- Thấm AND lên màng (nitrocellulose hay màng nilon)

+ Cắt màng, giấy Whatman, giấy lọc đúng bằng kích thước của gel

+ Dùng bể thấm có thể thay bằng 1 khay nhựa hay khay thủy tinh, đặt tấm ngang trên thành khay.

+ Cho dung dịch SSC x20 vào trong bể (khay)

+ Đặt thứ tự trên tấm chắn ngang

Cầu giấy thấm; ba lớp giấy Whatman; gel đã điện di; màng; 3 lớp whatman; nhiều lớp giấy thấm; vật nặng đè lên;

+ Để tụ thấm qua đêm ở nhiệt độ phòng.

- Cố định AND lên màng

+ Sau khi thấm lấy màng ra rửa nhẹ bằng dung dịch SSC x2

+ Thấm khô dịch trên màng

+ Đặt màng dưới đèn UV x 5 phút ở nhiệt độ phòng.

3.3. Lai AND

- Pha tiền lai

- Đánh dấu mẫu dò

- Tiến hành lai

3.4. Phát hiện

- Rửa màng lai

- Hiện màng

4. Đánh giá kết quả: dựa vào thang chuẩn độ dài AND, so sánh vị trí có probe để biết có đột biến hay không?

Lưu ý: Mẫu bệnh phẩm ít, kỹ thuật tiến hành qua nhiều bước nên yêu cầu hết sức thận trọng trong khi thao tác.

4. Kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction)

4.1. Nguyên lý

Dùng nhiệt để biến tính hai sợi của chuỗi xoắn kép AND cho chúng tách ra, tạo nên 2 sợi tự do có khả năng gắn với đoạn AND có trình tự base nitơ bổ sung, sau đó lấy đoạn mồi (primer) là đoạn AND ngắn cho gắn vào AND phân lập được ở vùng có trình tự bazơ nitơ tương đồng, rồi điều chỉnh nhiệt độ thích hợp cho hoạt động của enzyme (cùng với sự có mặt của các nucleotid hoạt hóa, đoạn mồi đã gắn lên AND khuôn thì ở nhiệt độ thích hợp AND polymerase sẽ tổng hợp tiếp AND) Bằng nhiều lần như vậy thì tổng hợp được khối lượng lớn AND từ AND khuôn ban đầu.

Để nhân lên 1 đoạn gen người ta dùng 2 cặp mồi có trình tự nucleotid tương ứng ở 2 đầu của đoạn gen này.

Vì quá trình tổng hợp AND luôn luôn được tiến hành theo chiều đầu 5' đến đầu 3' và với 2 mồi có trình tự nucleotid bổ trợ cho 2 sợi AND ở 2 đầu (phí 3; của mỗi sợi) thì ở chu kỳ 1 sẽ tạo nên 2 đoạn AND mới dài hơn đoạn cần tìm, nhưng mỗi đoạn có 1 đầu 5' bị giới hạn bởi mồi. Đến chu kỳ hai sẽ tạo được 2 đoạn AND có giới hạn 2 đầu ở vị trí mà mồi gắn.

4.2. Nguyên lý hoạt động của máy PCR: là phản ứng enzyme trong ống nghiệm dưới tác dụng của nhiệt. Máy PCR là máy điều khiển nhiệt độ theo chương trình để đảm bảo ba chế độ nhiệt

- Nhiệt độ 94- 95⁰C để tách sợi AND kép thành 2 sợi đơn
- Nhiệt độ 30- 65⁰C (tùy theo yêu cầu của đoạn mồi và tính chất của đoạn gen có tác dụng gắn mồi vào vị trí có trình tự base nitơ tương đồng của đoạn gen (AND)
- Nhiệt độ 70- 73⁰C đảm bảo hoạt động tốt cho enzyme tổng hợp AND tiếp từ đoạn mồi.

Do đặc điểm của men taq AND polymerase có thể chịu nhiệt và mất tác dụng sau một thời gian nên người ta thiết kế các máy có thời gian thay đổi nhiệt độ giữa các chế độ càng ngắn càng tốt.

4.3. Hóa chất và dụng cụ

- AND khuôn
- AND mồi
- DNTP (desoxy ribonucleotid hoạt hóa)
- taq AND polymerase

- Máy PCR, máy vafdungj cụ điện di, máy và dụng cụ chụp ảnh UV, micropipette

4.4. Quy trình kỹ thuật

- Cho vào ống eppendorf:

+ Pha dung môi và môi.

+ Trộn enzyme, môi, nucleotid

+ AND khuôn

+ Cho dầu paraffin nếu cần

- Chuẩn bị chương trình nhiệt cho máy

- Chạy máy: 30 phút

Thường 1 chu kỳ là 1 phút, sau 30 phút thì enzyme hoạt động kém và lượng AND cũng đã nhiều. Từ 1 AND ban đầu sau khi chạy sẽ có 2^n sợi, n là số chu kỳ.

- Sau khi máy ngừng chạy để nhiệt độ về 10°C

- Trong ống eppendorf: 8 μl AND vừa tổng hợp và 2 μl thuốc nhuộm.

Trộn đều và chạy điện di trên gel với dòng điện 80V, 45 mA thời gian 45 phút.

Nhuộm soi và chụp UV sẽ thấy rõ 1 vạch (nếu dùng 1 cặp môi)

4.5. Nhận định kết quả

Nhận định có đột biến hay không ? hay tính đặc trưng AND cho loài hay cá thể

4.6. Lưu ý khi thực hiện

PCR là phản ứng nhạy, dễ dương tính giả nếu lẫn AND ngoại lai nên mọi thao tác phải vô trùng và chạy thêm chứng âm.

4.7. Ứng dụng

Dùng để nhân lên AND sau đó lai, phát hiện bằng mẫu dò đặc hiệu

Dùng cặp môi đặc hiệu có thể 2 hoặc 3 môi để phát hiện các đột biến hay tính đặc trưng AND cho loài hay cá thể.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày cơ sở khoa học của phương pháp sinh học phân tử?

2. Trình bày nguyên lý của kỹ thuật sinh học ứng dụng trong xét nghiệm huyết học?

3. Trình bày quy trình, nhận định kết quả và ứng dụng của các kỹ thuật sinh học phân tử ứng dụng trong xét nghiệm huyết học?

THỰC HÀNH

BÀI 8: KỸ THUẬT TỬ ĐỒ

MỤC TIÊU

* *Kỹ năng*

1. Thực hiện kỹ thuật tử đồ theo đúng quy trình.
2. Nhận định và giải thích được kết quả tử đồ trong 1 số tình huống.

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

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

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Tử đồ là xét nghiệm phân tích số lượng và hình thái các tế bào tủy xương để thăm dò chức năng tạo máu cũng như gợi ý các nguyên nhân gây rối loạn chức năng tạo máu của tủy xương.

2. Tiến hành

2.1. Chuẩn bị

- Bộ dụng cụ sát trùng tại chỗ: cồn iod 5%, cồn sát trùng, bông thấm nước..
- Bơm kim tiêm vô khuẩn 5 – 10 ml
- Kim chọc tủy
- Ống nghiệm có EDTA khô.
- Vật liệu cầm máu
- Bộ dụng cụ làm tiêu bản tủy, nhuộm giem sa, hồng cầu lưới
- Máy đếm tế bào hoặc các dụng cụ thay thế
- Kính hiển vi quang học.
- Xylocain
- Thuốc nhuộm Giem sa, xanhcresyl
- Bệnh phẩm

Bệnh phẩm máu được sinh thiết từ tủy xương để trong ống nghiệm chống đông EDTA.

2. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH KỸ THUẬT TỬ ĐỒ

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị bệnh phẩm	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên tiêu bản.	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.
5	Lắc đều ống máu	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm.
6	Làm tiêu bản giọt đàn máu tủy xương	Đủ diện tích để đọc tiêu bản	Máu được dàn đều và có chiều dài 2,5 đến 3 cm, không vấp xước.
7	Nhuộm tiêu bản giọt đàn bằng giem sa 10%	Nhận biết tế bào máu rõ ràng	Các tế bào máu bắt màu rõ ràng, nhân bạch cầu bắt màu tím sẫm, rõ các hạt đặc hiệu của bạch cầu
8	Làm tiêu bản đếm hồng cầu lưới	Nhận biết tế bào máu rõ ràng	Máu được dàn đều và có chiều dài 2,5 đến 3 cm, không vấp xước.
9	Chạy máy huyết học tế bào tự động để phân tích tủy đồ	Kết quả đúng	Theo quy trình của máy

10	Đọc và nhận định kết quả	Kết quả chính xác	Nhận định kết quả dựa vào tủy đồ, tiêu bản giọt đàn và tiêu bản đếm hồng cầu lưới, có sự thống nhất và tương đồng. Chẩn đoán hoặc định hướng chẩn đoán
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn
12	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
13	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

* Nhận định kết quả

- Soi khảo sát

+ Quan sát tiêu bản bằng vật kính x10

Đánh giá mật độ tế bào có nhân và đặc điểm phân bố tế bào, kể cả hồng cầu trưởng thành.

Tìm kiếm mẫu tiêu cầu và các tế bào có kích thước lớn (K di căn)

Tính tỷ lệ % của tế bào có nhân.

+ Quan sát tiêu bản bằng vật kính dầu

Xem xét kỹ các khu vực đầu, đuôi, trung tâm và hai cạnh tiêu bản nhuộm giem sa để nhận định về đặc điểm số lượng, hình thái tế bào và tình trạng biệt hóa của mỗi dòng tế bào cũng như tương quan phát triển của các dòng tế bào.

Tìm hình thể bất thường: ung thư di căn, ký sinh trùng,...Nếu có tế bào non phải căn cứ vào hình thái và hóa học tế bào để xác định xem tế bào non đó thuộc dòng nào (bạch cầu hạt, mono, lympho...)

Lập công thức tủy từ 100 đến 500 tế bào có nhân tùy theo mục đích chẩn đoán hay nghiên cứu. Tính chỉ số trưởng thành của dòng hạt, dòng hồng cầu và tỷ lệ nguyên hồng cầu/bạch cầu hạt.

Lập công thức mẫu tiêu cầu từ 100 mẫu tiêu cầu nếu người bệnh có giảm tiêu cầu ở máu ngoại vi.

* Nhận định kết quả

- Khẳng định chẩn đoán
- Khu trú phạm vi hoặc định hướng tìm kiếm chẩn đoán
- Loại trừ 1 hay nhiều khả năng
- Một số ít trường hợp không kết luận được

3. Các bước cần lưu ý

4. Tổ chức thực hiện

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

5. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT TỬY ĐỒ

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn		
2	Chuẩn bị dụng cụ	Đầy đủ, sạch, sắp xếp đúng vị trí		
	Chuẩn bị hóa chất			
	Chuẩn bị bệnh phẩm			
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên tiêu bản.	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.		
5	Lắc đều ống máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm.		

6	Làm tiêu bản giọt đàn máu tủy xương	Máu được dàn đều và có chiều dài 2,5 đến 3 cm, không vấp xước.		
7	Nhuộm tiêu bản giọt đàn bằng giem sa 10%	Các tế bào máu bắt màu rõ ràng, nhân bạch cầu bắt màu tím sẫm, rõ các hạt đặc hiệu của bạch cầu		
8	Làm tiêu bản đếm hồng cầu lưới	Máu được dàn đều và có chiều dài 2,5 đến 3 cm, không vấp xước.		
9	Chạy máy huyết học tế bào tự động để phân tích tủy đồ	Theo quy trình của máy		
10	Đọc và nhận định kết quả	Nhận định kết quả dựa vào tủy đồ, tiêu bản giọt đàn và tiêu bản đếm hồng cầu lưới, có sự thống nhất và tương đồng. Chẩn đoán hoặc định hướng chẩn đoán		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn		
12	Rửa tay	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy		
13	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi		

BÀI 9: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐÔNG CÀM MÁU

MỤC TIÊU

* *Kỹ năng*

1. Thực hiện kỹ thuật xét nghiệm đông cầm máu nâng cao theo đúng quy trình.
2. Nhận định và giải thích được kết quả xét nghiệm đông cầm máu trong 1 số tình huống dạy học.

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

- Dụng cụ lấy máu
- Ống nghiệm có Natri citrat khô, EDTA.
- Máy đông máu tự động hoặc bán tự động
- Máy huyết học tự động
- Bệnh phẩm

Bệnh phẩm máu chống đông Natri citrat 3,8%, EDTA

2. Các bước tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐÔNG CÀM MÁU

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị bệnh phẩm	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép
3	Kiểm tra đối chiếu	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người

	mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.		bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.
5	Lắc đều ống máu	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm.
6	Chạy xét nghiệm đông máu cơ bản	Đánh giá quá trình đông máu huyết tương	PT, APTT, Fibrinogen
7	Chạy các xét nghiệm đông máu chuyên sâu (định lượng các yếu tố đông máu)	Định lượng để chẩn đoán	D dimer, yếu tố VIII, IX, XI
8	Chạy máy huyết học tế bào	Đánh giá chức năng tiểu cầu trong cầm máu kỳ đầu	Số lượng và độ tập chung tiểu cầu
10	Đọc và nhận định kết quả	Kết quả chính xác	Dựa vào các kết quả XN đông máu cơ bản và định lượng, số lượng và chất lượng của tiểu cầu để chẩn đoán , định hướng chẩn đoán, theo dõi
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn
12	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
13	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

3. Các bước cần lưu ý

4. Tổ chức thực hiện

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

5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐÔNG CÀM MÁU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn		
2	Chuẩn bị dụng cụ	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép		
	Chuẩn bị hóa chất			
	Chuẩn bị bệnh phẩm			
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.		
5	Lắc đều ống máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm.		
6	Chạy xét nghiệm đông máu cơ bản	PT, APTT, Fibrinogen		
7	Chạy các xét	D dimer, yếu tố VIII, IX, XI		

	nghiệm đông máu chuyên sâu (định lượng các yếu tố đông máu)			
8	Chạy máy huyết học tế bào	Số lượng và độ tập trung của tiểu cầu		
10	Đọc và nhận định kết quả	Dựa vào các kết quả XN đông máu cơ bản và định lượng, số lượng và chất lượng của tiểu cầu để chẩn đoán, định hướng chẩn đoán, theo dõi		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn		
12	Rửa tay	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy		
13	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi		

BÀI 10: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM THIỂU MÁU

MỤC TIÊU

* *Kỹ năng*

1. Thực hiện kỹ thuật xét nghiệm thiếu máu nâng cao theo đúng quy trình.
2. Nhận định và giải thích được kết quả xét nghiệm thiếu máu trong 1 số tình huống dạy học.

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

- Dụng cụ lấy máu
- Ống nghiệm có EDTA.
- Máy huyết học tự động
- Bệnh phẩm

Bệnh phẩm máu chống đông EDTA

2. Các bước tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐÔNG CÀM MÁU

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị bệnh phẩm	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét

	phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.		nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.
5	Lắc đều ống máu	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm.
6	Kéo tiêu bản giọt đàn	Đủ diện tích để đọc tiêu bản	Máu được dàn đều và có chiều dài 2,5 đến 3 cm, không vấp xước.
	Nhuộm giem sa 10%	Nhận định chính xác các tế bào máu	Các tế bào máu bắt màu rõ ràng, nhân bạch cầu bắt màu tím sẫm, rõ các hạt đặc hiệu của bạch cầu
8	Chạy máy huyết học tế bào	Nhận định được kết quả của tế bào máu	Có các chỉ số của dòng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu
10	Đọc và nhận định kết quả	Người bệnh có thiếu máu không?	Dòng hồng cầu: số lượng hồng cầu, Huyết sắc tố, HCT, MCV, MCH, MCHC, hồng cầu lưới
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn
12	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
13	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

3. Các bước cần lưu ý

4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐÔNG CÀM MÁU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn		
2	Chuẩn bị dụng cụ	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép		
	Chuẩn bị hóa chất			
	Chuẩn bị bệnh phẩm			
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.		
5	Lắc đều ống máu	Lắc trộn nhẹ nhàng, theo chiều dọc ống nghiệm.		
6	Kéo tiêu bản giọt đàn	Máu được dàn đều và có chiều dài 2,5 đến 3 cm, không vấp xước.		
	Nhuộm giem sa 10%	Các tế bào máu bắt màu rõ ràng, nhân bạch cầu bắt màu tím sẫm, rõ các hạt đặc hiệu của bạch cầu		

8	Chạy máy huyết học tế bào	Có các chỉ số của dòng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu		
10	Đọc và nhận định kết quả	Dòng hồng cầu: số lượng hồng cầu, Huyết sắc tố, HCT, MCV, MCH, MCHC, hồng cầu lưới		
11	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn		
12	Rửa tay	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy		
13	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi		

BÀI 11: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU

MỤC TIÊU

* *Kỹ năng*

1. Thực hiện 1 số kỹ thuật xét nghiệm theo quy định trước khi truyền máu theo đúng quy trình.
2. Nhận định và giải thích được kết quả xét nghiệm trên trong 1 số tình huống dạy học.

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

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

NỘI DUNG

1. Chuẩn bị

- Dụng cụ lấy máu
- Ống nghiệm có EDTA.
- Máy huyết học tự động
- Bệnh phẩm

Bệnh phẩm máu chống đông EDTA

2. Các bước tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị bệnh phẩm	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép
3	Kiểm tra đối chiếu	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người

	mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.		bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.
5	Định nhóm máu hệ ABO và Rh	Hòa hợp hệ nhóm máu ABO và Rh	Theo đúng quy định 2 người thực hiện độc lập và sử dụng 2 phương pháp như ống nghiệm và gel card
6	Coombs trực tiếp và gián tiếp	Không có KT bất thường trên bề mặt hồng cầu và trong huyết thanh	Theo đúng quy trình HH 2
7	Phản ứng chéo giữa người cho và người nhận	Hòa hợp gửi máu người cho và người nhận	Theo đúng quy trình HH 2
8	Sàng lọc các vi sinh vật	Đảm bảo an toàn cho người nhận máu	Vi khuẩn, virus, ký sinh trùng
9	Nhận định kết quả	Đảm bảo an toàn cho người nhận máu	Phù hợp nhóm máu ABO và Rh, Coombs trực tiếp và gián tiếp âm tính, phản ứng chéo âm tính.
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn
11	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
12	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

3. Các bước cần lưu ý

4. Tổ chức thực hiện

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

5. Lượng giá: bằng bảng kiểm.

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn		
2	Chuẩn bị dụng cụ	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép		
	Chuẩn bị hóa chất			
	Chuẩn bị bệnh phẩm			
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.		
5	Định nhóm máu hệ ABO và Rh	Theo đúng quy định 2 người thực hiện độc lập và sử dụng 2 phương pháp như ống nghiệm và gel card		
6	Coombs trực tiếp và gián tiếp	Theo đúng quy trình HH 2		

7	Phản ứng chéo giữa người cho và người nhận	Theo đúng quy trình HH 2		
8	Sàng lọc các vi sinh vật	Vi khuẩn, virus, ký sinh trùng		
9	Nhận định kết quả	Phù hợp nhóm máu ABO và Rh, Coombs trực tiếp và gián tiếp âm tính, phản ứng chéo âm tính.		
10	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn		
11	Rửa tay	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy		
12	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi		

BÀI 12: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM SAU KHI TRUYỀN MÁU

MỤC TIÊU

* *Kỹ năng*

1. Thực hiện 1 số kỹ thuật xét nghiệm theo quy định sau khi truyền máu cao theo đúng quy trình.
2. Nhận định và giải thích được kết quả xét nghiệm trên trong 1 số tình huống dạy học.

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

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

NỘI DUNG BÀI

1. Chuẩn bị

- Dụng cụ lấy máu
- Ống nghiệm có EDTA.
- Máy huyết học tự động, máy sinh hóa tự động, máy cấy máu, thanh định danh vi khuẩn vi nấm.
- Bệnh phẩm

Bệnh phẩm máu chống đông EDTA

2. Các bước tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM SAU KHI TRUYỀN MÁU

STT	NỘI DUNG	Ý NGHĨA	TIÊU CHUẨN
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị bệnh phẩm	Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép

3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Tránh nhầm lẫn	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.
5	Sàng lọc virus	Đảm bảo an toàn cho người bệnh	HIV, viêm gan B, viêm gan C, ...bằng test nhanh, hoặc sinh học phân tử
6	Xét nghiệm sinh hóa	Phát hiện tăng sắt huyết thanh, tan máu, tăng Kali....	Sắt huyết thanh, bilirubin Coombs, điện giải đồ
7	Xét nghiệm vi sinh khi nghi ngờ máu có nhiễm khuẩn	Sàng lọc nhiễm khuẩn, nhiễm nấm	Cấy máu và định danh bằng máy tự động
8	Nhận định kết quả	Đảm bảo an toàn cho người nhận máu	Phát hiện các phản ứng sủa truyền máu: phản ứng cấp, mạn tính như tan máu, tăng các ion trong máu, nhiễm khuẩn, nhiễm virus, KST...
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Đảm bảo an toàn sinh học	Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn
10	Rửa tay	Đảm bảo ATSH	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy
11	Ghi kết quả vào sổ lưu	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi	Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi

3. Các bước cần lưu ý

4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học

- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
 - Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật
- 5. Lượng giá:** bảng bảng kiểm.

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM SAU KHI TRUYỀN MÁU

STT	NỘI DUNG	TIÊU CHUẨN	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị nhân viên y tế Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn		
2	Chuẩn bị dụng cụ Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị bệnh phẩm	Dụng cụ đầy đủ, sạch, máy được QC trong khoảng cho phép		
3	Kiểm tra đối chiếu mẫu bệnh phẩm với phiếu xét nghiệm hoặc thông tin của người bệnh.	Đúng thông tin của người bệnh và chỉ định phiếu xét nghiệm: Họ và tên, tuổi, giới, mã số, khoa		
4	Ghi mã số mẫu hoặc họ tên bệnh nhân lên ống nghiệm	Ghi đầy đủ thông tin: Họ tên và mã số bệnh nhân.		
5	Sàng lọc virus	Theo đúng quy định 2 người thực hiện độc lập và sử dụng 2 phương pháp như ống nghiệm và gel card		
6	Xét nghiệm sinh hóa	Theo đúng quy trình HH 2		
7	Xét nghiệm vi sinh khi nghi ngờ máu có nhiễm khuẩn	Theo đúng quy trình HH 2		

8	Nhận định kết quả	Vi khuẩn, virus, ký sinh trùng		
9	Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải	Phù hợp nhóm máu ABO và Rh, Coombs trực tiếp và gián tiếp âm tính, phản ứng chéo âm tính.		
10	Rửa tay	Phân loại đúng rác thải, lâu bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn		
11	Ghi kết quả vào sổ lưu	Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy		

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Quang Vinh, (2009), Giáo trình lý thuyết Huyết học và truyền máu – tài liệu lưu hành nội bộ.
2. Đỗ Trung Phần, (2009), Bài giảng thực hành Huyết học - truyền máu – tài liệu lưu hành nội bộ.
3. Trần Văn Bé và CS, (2003), Huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học.
4. Đỗ Trung Phần và CS, (2009), Xét nghiệm huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học.
5. Hà Thị Anh, (2009), Huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học.
6. Phạm Quang Vinh, (2007), Tài liệu đào tạo kỹ thuật xét nghiệm huyết học truyền máu khoa huyết học truyền máu.