

Số: /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Về việc ban hành tài liệu chuyên môn
“Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 2.1”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Khám bệnh, chữa bệnh năm 2023;

Căn cứ Nghị định số 42/2025/NĐ-CP ngày 27/02/2025 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18/10/2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh;

Căn cứ Biên bản họp ngày 13/3/2024; 24/4/2024; 12/6/2025 của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu quy trình kỹ thuật chương Tạo máu và lympho (hệ nội) và công văn số 1608/HHTM ngày 10/11/2025 của Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương gửi dự thảo quy trình kỹ thuật chương Tạo máu và lympho;

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 chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 2.1”, gồm 02 quy trình kỹ thuật.

Điều 2. Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 2.1” được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh từ ngày 01 tháng 07 năm 2026.

Điều 3. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Cục trưởng, Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế; Giám đốc các bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương; Thủ trưởng Y tế các ngành và các cơ quan, đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng;
- BHXHVN - Bộ Tài chính;
- Công thông tin điện tử Bộ Y tế;
- Website Cục QLKCB;
- Tổng hội Y học Việt Nam và các hội y khoa;
- Lưu: VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG

Trần Văn Thuấn



HƯỚNG DẪN
QUY TRÌNH KỸ THUẬT
VỀ TẠO MÁU VÀ LYMPHO – TẬP 2.1

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BYT ngày tháng năm 2025
của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

Hà Nội, 2025

Chỉ đạo biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Trần Văn Thuần	Thứ trưởng Bộ Y tế
TS. Hà Anh Đức	Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh (QLKCB)
Chủ biên	
PGS.TS. Nguyễn Hà Thanh	Viện trưởng Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
TS. Nguyễn Trọng Khoa	Phó Cục trưởng Cục QLKCB
Tham gia biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Phạm Quang Vinh	Nguyên Chủ nhiệm Bộ môn Huyết học – Truyền máu Trường Đại học Y Hà Nội
TS. Vương Ánh Dương	Phó Cục trưởng Cục QLKCB
TS. Vũ Đức Bình	Phó Viện trưởng Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
PGS.TS. Nguyễn Tuấn Tùng	Phó Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai
TS. Nguyễn Tường Sơn	Vụ trưởng Vụ Kế hoạch – Tài chính
ThS. Trần Thị Trang	Vụ trưởng Vụ Bảo hiểm Y tế
BSCCKII. Nguyễn Văn Chi	Phó Cục trưởng Cục Bà mẹ và Trẻ em
TS. Trần Thanh Tùng	Trưởng khoa Huyết học Bệnh viện Chợ Rẫy
TS. Nguyễn Bá Khanh	Giám đốc Ngân hàng Tế bào gốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Võ Thị Thanh Bình	Trưởng khoa Ghép tế bào gốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
TS. Nguyễn Hữu Chiến	Trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
PGS.TS. Nguyễn Thị Minh Phương	Viện trưởng Viện Ung thư Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
BSCCKII. Tôn Thất Minh Trí	Trưởng khoa Huyết học lâm sàng Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế
TS. Huỳnh Văn Mẫn	Trưởng khoa Ghép tế bào gốc Bệnh viện Truyền máu Huyết học Thành phố Hồ Chí Minh
TS. Trần Thị Huyền Trang	Phó giám đốc Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng Tế bào gốc Bệnh viện Trung ương Quân Đội 108
BSCCKII. Vũ Văn Trường	Phó Giám đốc Trung tâm Huyết học – Truyền máu Bệnh viện Bạch Mai
TS. Hàn Việt Trung	Phó Giám đốc Trung tâm Huyết học – Truyền máu Bệnh viện Bạch Mai
TS. Bùi Quang Biểu	Phó Viện trưởng Viện Ung thư Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
BSCCKII. Võ Thế Hiếu	Phó Trưởng khoa Huyết học lâm sàng Bệnh viện Đa khoa Trung ương Huế

ThS. Trương Lê Vân Ngọc	Trưởng phòng Nghiệp vụ Cục QLKCB
ThS. Nguyễn Thị Thanh Hà	Trưởng phòng Chế độ bảo hiểm y tế Ban thực hiện chính sách bảo hiểm y tế, Bảo hiểm Xã hội Việt Nam
BSCCKII. Cao Đức Phương	Chuyên viên chính Phòng Quản lý hành nghề khám, chữa bệnh Cục QLKCB
ThS. Hoàng Thị Thu Hương	Chuyên viên Vụ Pháp chế
ThS. Dương Thị Hải Ngọc	Chuyên viên chính Cục Bà mẹ và Trẻ em
ThS. Phạm Minh Hùng	Chuyên viên Vụ Bảo hiểm Y tế
ThS. Nguyễn Thị Hương	Chuyên viên Vụ Kế hoạch – Tài chính
ThS. Đoàn Văn Chính	Phó trưởng phòng Kế hoạch tổng hợp Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Nguyễn Lan Phương	Phó trưởng khoa Bệnh máu tổng hợp Viện Huyết học Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Nguyễn Thị Thảo	Phó trưởng khoa bệnh máu lạnh tính Viện Huyết học Truyền máu Trung ương
ThS. Nguyễn Quốc Nhật	Phó trưởng khoa điều trị hoá chất Viện Huyết học Truyền máu Trung ương
BSCCKII. Lưu Thị Thu Hương	Phó trưởng khoa Tế bào - Tổ chức học Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
ThS. Võ Thị Thúy Quỳnh	Trung tâm Y học Hạt nhân và Ung bướu Bệnh viện Bạch Mai
ThS. Trương Thị Hiền	Khoa Tế bào - Tổ chức học Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
Thư ký	
BSCCKII. Cao Đức Phương	Chuyên viên chính Phòng Quản lý hành nghề khám, chữa bệnh Cục QLKCB
ThS. Lê Xuân Thịnh	Kỹ thuật y trưởng Ngân hàng Tế bào gốc Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương
ThS. Đỗ Thị Huyền Trang	Cục QLKCB

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU	6
NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH.....	8
PHỤ LỤC.....	10
DANH MỤC KỸ THUẬT CHƯƠNG TẠO MÁU VÀ LYMPHO – TẬP 2.1	10
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	11
1. ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CỦA TẾ BÀO DIỆT TỰ NHIÊN (NK)	12
2. QUANG HOÁ TẾ BÀO NGOÀI CƠ THỂ.....	17

LỜI NÓI ĐẦU

“Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật Huyết học - Truyền máu - Miễn dịch - Di truyền - Sinh học phân tử” đã được Bộ Y tế đã xây dựng và ban hành vào các năm 2012, 2014, 2017. Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật này làm căn cứ để các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh và nhân viên y tế triển khai áp dụng và thực hiện các kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh về Huyết học.

Trong những năm gần đây, với sự phát triển về khoa học kỹ thuật trên thế giới và năng lực người thực hiện kỹ thuật, nhằm cập nhật, bổ sung những tiến bộ mới và tiếp tục chuẩn hóa quy trình thực hiện kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh, Bộ Y tế đã giao một số bệnh viện làm đầu mối xây dựng Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật tạo máu và lympho gồm Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Bệnh viện Bạch Mai,... trong đó Viện Huyết học truyền máu trung ương được giao làm đầu mối tổng hợp chung. Các Bệnh viện, Viện được giao đã huy động và phân công các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa Huyết học biên soạn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật; tổ chức họp hội đồng khoa học trong bệnh viện để nghiệm thu; thực hiện biên tập, hoàn thiện theo ý kiến của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu do Bộ Y tế thành lập và chịu trách nhiệm về chuyên môn kỹ thuật quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được các thành viên biên soạn rà soát theo hướng dẫn hiện có, tham khảo các tài liệu trong nước, nước ngoài để cập nhật.

Bộ Y tế đã thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Tạo máu và lympho với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các chuyên gia về huyết học trong cả nước. Các thành viên Hội đồng đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật.

Để hoàn thành Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật tạo máu và lympho – Tập 2.1” với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các thành viên chuyên môn là các phó giáo sư, tiến sĩ, Bác sĩ chuyên khoa hàng đầu về Huyết học. Các thành viên chuyên môn đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật về tạo máu và lympho - Tập 2.1” được xây dựng cho các kỹ thuật có trong Phụ lục số 02 nhưng không có trong Phụ lục số 01 (của Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh) với tổng số 02 quy trình kỹ thuật và được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh từ ngày 01 tháng 7 năm 2026.

Bộ Y tế xin trân trọng cảm ơn sự đóng góp tích cực và hiệu quả của các chuyên gia về Huyết học đặc biệt là tập thể lãnh đạo và nhóm thư ký biên soạn và nghiệm thu của Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương.

Trong quá trình biên tập khó tránh được những sai sót, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến từ quý độc giả đồng nghiệp để Tài liệu chuyên môn ngày một hoàn thiện hơn. Mọi ý kiến góp ý xin gửi về Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế, 138A phố Giảng Võ, phường Giảng Võ, Hà Nội.

Xin trân trọng cảm ơn!

GS.TS. Trần Văn Thuấn
THỦ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

NGUYÊN TẮC XÂY DỰNG, BAN HÀNH VÀ ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH

1. Nguyên tắc xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

- a) Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chương, chuyên ngành bảo đảm đầy đủ các nội dung cơ bản về chỉ định, chống chỉ định, thận trọng, chuẩn bị đến các bước thực hiện kỹ thuật theo trình tự thực hiện từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật;
- b) Thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế... (danh mục và số lượng) được quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật căn cứ trên yêu cầu chuyên môn, tính phổ biến, thường quy thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Trong thực tế triển khai, thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực, thuốc, thiết bị y tế... (danh mục và số lượng) có thể thay đổi dựa trên cá thể người bệnh, tình trạng bệnh, diễn biến lâm sàng... và điều kiện thực tế hạ tầng, thiết bị, nhân lực của mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- c) Ngoài địa điểm thực hiện kỹ thuật như phòng phẫu thuật (phòng mổ), phòng thực hiện kỹ thuật (phòng thủ thuật), phòng bệnh... được quy định trong mỗi Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, kỹ thuật có thể được thực hiện ở các địa điểm khác theo nguyên tắc:
 - Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng bệnh thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng thủ thuật, phòng phẫu thuật; ngược lại kỹ thuật quy định thực hiện tại phòng phẫu thuật không được phép thực hiện tại phòng thủ thuật, phòng bệnh trừ trường hợp cấp cứu theo quy định pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh;
 - Kỹ thuật được quy định thực hiện ở phòng thủ thuật thì kỹ thuật đó được phép thực hiện tại phòng phẫu thuật; không được phép thực hiện tại phòng bệnh trừ trường hợp cấp cứu theo quy định pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

2. Nguyên tắc áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh:

- a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được phép áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành và phải có văn bản do người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phê duyệt việc triển khai áp dụng toàn bộ Hướng dẫn quy trình kỹ thuật do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành. Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì việc xây dựng, ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật phải tuân thủ theo nguyên tắc quy định tại khoản 1 Điều này, căn cứ trên Hướng dẫn quy trình kỹ thuật tương ứng do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành và là căn cứ để cơ sở khám bệnh, chữa bệnh triển khai, áp dụng. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chịu hoàn toàn trách nhiệm về việc xây dựng, ban hành và áp dụng.
- b) Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng cho các kỹ thuật quy định tại Phụ lục số 02 Thông tư số

23/2024/TT-BYT ban hành Danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh nhưng không có trong Phụ lục số 01 (của Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh).

- c) Người thực hiện các kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh là người hành nghề có phạm vi hành nghề phù hợp với kỹ thuật thực hiện theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh mà không bị giới hạn bởi các chức danh nghề nghiệp được liệt kê trong từng quy trình kỹ thuật. Đồng thời các chức danh nghề nghiệp được quy định trong từng quy trình kỹ thuật cũng chỉ được thực hiện khi có phạm vi hành nghề theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh.
- d) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ được thực hiện kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh sau khi được cấp có thẩm quyền phê duyệt, cho phép và sử dụng thuốc, thiết bị y tế được cấp phép theo quy định hiện hành.
- e) Trong quá trình triển khai áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, nếu có các bất cập hoặc nhu cầu cần sửa đổi, bổ sung, cập nhật..., các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chủ động cập nhật và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật áp dụng tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, đồng thời báo cáo, đề xuất Bộ Y tế (Cục Quản lý Khám, chữa bệnh) để xem xét ban hành áp dụng trong cả nước.

PHỤ LỤC
DANH MỤC KỸ THUẬT CHƯƠNG TẠO MÁU VÀ LYMPHO –
TẬP 2.1

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Mã liên kết (cột 3)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT (cột 4)
1932	59		Đánh giá hoạt tính của tế bào diệt tự nhiên (NK)
2011	138		Quang hoá tế bào ngoài cơ thể

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
NK	Natural Killer	Tế bào diệt tự nhiên
ECP	Extracorporeal Photopheresis	Quang hoá ngoài cơ thể

1. ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CỦA TẾ BÀO DIỆT TỰ NHIÊN (NK)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá số hoạt tính của tế bào diệt tự nhiên (NK).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Tế bào NK (Natural Killer), hay còn gọi là tế bào diệt tự nhiên, đóng vai trò quan trọng trong miễn dịch tự nhiên của cơ thể được xác định bởi sự hiện diện của các dấu ấn trên bề mặt tế bào là CD56 và CD16. NK có khả năng sản xuất chất gây viêm (IFN- γ) và chất gây hoại tử khối u (TNF- α), kích hoạt phản ứng miễn dịch và tham gia vào cơ chế tiêu diệt vi khuẩn, virus và các tế bào ung thư. Do đó hoạt tính tế bào NK có thể được đánh giá thông qua cảm ứng chế tiết IFN γ hoặc TNF- α .

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sĩ: 01;
- Kỹ thuật y: 02.

2.2. Vật tư:

- Đầu côn 25 μ l; 1000 μ l;
- Ống lấy máu;
- Kim tiêm 10ml;
- Bút viết lên ống;
- Túi đựng chất thải.

2.3. Thiết bị

- Dàn máy ELISA (tự động hoặc bán tự động);
- MicroPipet 10-100 μ l; 100-1000 μ l;
- Máy ly tâm;
- Tủ lạnh lưu chất chuẩn và hóa chất (1), tủ lưu bệnh phẩm sau xét nghiệm (tùy số lượng xét nghiệm, cần ít nhất 01 chiếc).

2.4. Thuốc thử/ hóa chất

Bộ kit xét nghiệm hoạt tính NK.

2.5. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

2.5.1. Lấy mẫu bệnh phẩm máu ngoại vi

- Chuẩn bị người bệnh: đối chiếu, kiểm tra thông tin trên phiếu xét nghiệm với định danh người bệnh.

- Thực hiện định danh lên ống bệnh phẩm: số barcode, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm, người lấy mẫu.

- Sát trùng vị trí lấy mẫu, lấy 1,8 - 2,2 ml máu toàn phần vào ống không có chất chống đông. Lắc trộn nhẹ nhàng 8 - 10 lần.

- Mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và vận chuyển đến phòng xét nghiệm ngay sau khi lấy mẫu.

2.5.2. Lấy mẫu bệnh phẩm sinh thiết tử cung

- Chuẩn bị người bệnh:

- + Như mục 2.5.1.

- + Sinh thiết lấy mẫu xét nghiệm được tiến hành vào giữa giai đoạn của hoàng thể, thông thường là ngày 21 - 24 của chu kỳ kinh nguyệt.

- Thực hiện định danh mẫu bệnh phẩm: như mục 2.5.1

- Tiến hành sinh thiết niêm mạc cổ tử cung, lấy 30-50mg nội mạc cổ tử cung bảo quản trong ống heparin.

- Mẫu sinh thiết được bảo quản ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và vận chuyển đến phòng xét nghiệm ngay sau khi lấy mẫu.

2.5.3. Xử lý, bảo quản mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu: kiểm tra chất lượng mẫu, để đông trong 30 phút và ly tâm ở tốc độ 1000 vòng/phút trong 10 phút, sau đó tách huyết thanh (tách huyết thanh càng sớm càng tốt). Nếu lẫn hồng cầu hoặc thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

- Mẫu mô sinh thiết niêm mạc cổ tử cung: được nghiền nhỏ trong 2ml dung dịch PBS, lắc đều, ly tâm 1000 vòng/phút trong 10 phút và thu lấy dịch nổi.

- Mẫu bệnh phẩm bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C có thể dùng làm xét nghiệm trong vòng 7 ngày. Nếu muốn để lưu lâu hơn cần phải bảo quản ở tủ lạnh sâu ($\leq -20^{\circ}\text{C}$ trong 1 tháng hoặc $\leq -80^{\circ}\text{C}$ trong 6 tháng). Tuy nhiên với mẫu bảo quản lạnh sâu cần tránh đông - tan nhiều lần.

2.6. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Đủ thông tin: tên xét nghiệm, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu, người lấy mẫu.

2.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: khoảng 210-240 phút.

2.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Đảm bảo các quy định về phòng chống cháy nổ;

- Đảm bảo quy định về an toàn sinh học.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

- Kiểm tra trước khi bật hệ thống máy:
 - + Kiểm tra điện, hệ thống máy tính, máy in đi kèm, điều kiện môi trường...
 - + Kiểm tra hạn sử dụng hóa chất.
- Bật hệ thống máy: Khởi động máy tính, khởi động máy ELISA.
- Chuẩn bị giếng: rửa phiến 2 lần với 400 μ l dung dịch đệm rửa, cách nhau 10- 15 giây.
 - Pha IFN γ người đông khô với nước cất về đúng nồng độ 500pg/ml: pha ngay trước khi sử dụng và sử dụng trong vòng 20 phút sau khi chuẩn bị.
 - Nhỏ 100 μ l dung dịch đệm vào 8 giếng chuẩn. Nhỏ 100 μ l dung dịch IFN γ vào giếng 1, trộn đều sau đó hút 100 μ l dung dịch sang giếng 2, lặp lại thao tác thêm 5 lần tạo thành 7 giếng chuẩn với nồng độ pha loãng IFN γ dao động trong khoảng 500 - 7.81pg/ml (1:1 đến 1:64).
 - Nhỏ 50 μ l dung dịch pha loãng mẫu vào giếng xét nghiệm. Nhỏ 50 μ l mẫu bệnh phẩm vào giếng xét nghiệm.
 - Che phủ giếng bằng miếng dán và ủ nhiệt độ phòng trong 1 giờ.
 - Rửa các giếng bằng dung dịch đệm rửa từ 3-5 lần.
 - Thêm 50 μ l dung dịch cộng hợp với kháng thể.
 - Che phủ giếng bằng miếng dán và ủ nhiệt độ phòng trong 1 giờ.
 - Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 400 μ l/giếng/lần.
 - Nhỏ 100 μ l dung dịch HPR vào mỗi giếng.
 - Che phủ giếng bằng miếng dán và ủ nhiệt độ phòng trong 30 phút.
 - Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 400 μ l/giếng/lần.
 - Nhỏ 100 μ l cơ chất tạo màu (TMB substrate) vào mỗi giếng.
 - Ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
 - Nhỏ 100 μ l dung dịch dừng phản ứng (stop solution) vào mỗi giếng theo đúng trình tự nhỏ TMB.
 - Đọc phiến ở bước sóng 450nm trong vòng 30 phút sau khi ủ dung dịch ngừng phản ứng.
 - Phân tích kết quả.
 - Xử lý mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm: mẫu bệnh phẩm sau khi phân tích xét nghiệm kết thúc được xếp theo thứ tự trên hộp xốp và bảo quản lưu mẫu bệnh phẩm theo quy trình lưu mẫu bệnh phẩm sau xét nghiệm.

4.2. Nhận định kết quả

- Căn cứ vào nồng độ chuẩn được xác định khi thực hiện xét nghiệm với 7 mẫu pha loãng đã biết trước nồng độ (mẫu chứng) để thiết lập đường cong chuẩn.

- Giá trị biện luận: Dựa trên đường cong chuẩn được thiết lập, tính toán giá trị IFN γ , trả theo đơn vị pg/mL.

* Mức rất thấp (dưới 100 pg/ml): cho thấy hoạt tính của tế bào NK hoạt động bất thường ở mức thấp.

* Mức thấp (100-249 pg/ml): hoạt tính của tế bào NK dưới mức bình thường, nên thực hiện lại sau 2-4 tuần.

* Mức cảnh báo (từ 250 -500pg/ml): hoạt tính của tế bào NK hoạt động thấp tạm thời, nên kiểm tra lại 3-6 tháng/lần.

* Mức bình thường (trên mức 500pg/ml): hoạt tính của tế bào NK đang hoạt động rất tốt, khuyến cáo kiểm tra 1 lần/năm.

- Một số trường hợp không nên làm xét nghiệm tế bào NK vì có khả năng đánh giá sai ở các đối tượng như:

* Đang điều trị các bệnh tự miễn;

* Phụ nữ có thai kỳ bình thường;

* Đang sử dụng các kháng sinh nhóm Macrolid (Erythromycin, Clarithromycin, Azithromycin...) hoặc các thuốc ức chế miễn dịch;

* Người bệnh mắc bạch cầu cấp dòng lympho.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Báo cáo kết quả bằng bản điện tử và/hoặc bản cứng, điền đầy đủ thời gian, ký và ghi rõ họ tên người duyệt kết quả.

5. SAI SÓT VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên người bệnh trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống nghiệm, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót do nhỏ mẫu vào phiên phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự người bệnh và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu.

- Chứng dương âm tính hoặc chứng âm dương tính: nếu xảy ra hiện tượng này đều không dùng được kết quả của lần xét nghiệm này. Nguyên nhân có thể do hóa chất không đảm bảo chất lượng, do không thực hiện đủ và đúng các bước trong quy trình xét nghiệm, nhiệt độ phản ứng không phù hợp, thực hiện bước rửa kém hiệu quả.

Xử trí: làm lại xét nghiệm, kiểm tra chỉ dùng hóa chất còn hạn sử dụng và được bảo quản đúng điều kiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (20 - 25°C).

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Cần bảo dưỡng máy hàng ngày, hàng tuần và hàng tháng theo các quy trình hướng dẫn bảo dưỡng và xử lý lỗi trên các thiết bị.

- Hoá chất khi đem sử dụng cần được kiểm tra xem còn hạn sử dụng không.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abnova Diagnostics. ABNOVA instruction manual.
2. Lin, Q., Rong, L., Jia, X. et al. IFN- γ -dependent NK cell activation is essential to metastasis suppression by engineered Salmonella. Nat Commun 12, 2537 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22755-3>

2. QUANG HOÁ TẾ BÀO NGOÀI CƠ THỂ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xử lý tế bào đơn nhân bằng hợp chất psoralen (methoxsalen) sau đó kích hoạt bằng tia cực tím và đảm bảo vô khuẩn trong quá trình thực hiện.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Quang hoá ngoài cơ thể (ECP) là một hình thức trị liệu miễn dịch, dựa trên phơi sáng tế bào đơn nhân máu ngoại vi bằng tia UVA kết hợp với chất cảm quang, gây ra tình trạng chết theo chương trình của tế bào lympho, đặc biệt là tế bào lympho T và tế bào NK, từ đó tạo miễn dịch chống lại các tế bào u và điều hoà miễn dịch.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

Kỹ thuật y: 02 người.

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ: túi chiếu xạ;

2.2.2. Vật tư tiêu hao

- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tắm cồn sát trùng 70°, cồn iod;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Lưỡi dao hàn vô trùng;
- Kim lấy mẫu túi máu vô trùng;
- Bơm, kim tiêm;
- Chai cấy máu.

2.2.3. Hoá chất

- 8-methoxypsoralen;
- NaCl 0.9%;
- Cồn sát khuẩn.

2.3. Thiết bị

- Hệ thống máy quang hóa liệu pháp;
- Hệ thống phòng sạch;
- Tủ an toàn sinh học;
- Máy nối dây vô trùng;

- Máy hàn dây;
- Cân túi máu.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Khối tế bào đơn nhân sau thu thập hoặc sau bảo quản đông lạnh.

2.5. Phiếu chỉ định

Đầy đủ thông tin theo quy định: mã mẫu, loại chế phẩm, họ tên người hiến, họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán...

2.6. Thời gian thực hiện: khoảng 90-120 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: tại phòng sạch.

3. AN TOÀN

3.1. An toàn thực hành

- Mặc áo, găng tay vô khuẩn khi làm việc;
- Đi giày, dép kín mũi chân;
- Thao tác đúng quy trình, chính xác.

3.2. An toàn hóa chất

- Ghi rõ ngày nhận, mở hóa chất;
- Hóa chất chưa sử dụng được sắp xếp gọn gàng, phân loại rõ ràng;
- Đọc kỹ nhãn mác hóa chất trước khi sử dụng;
- Hóa chất thải bỏ được đổ, để đúng nơi quy định.

3.3. An toàn thiết bị và điện

- Đảm bảo tay và các bề mặt làm việc khô trước khi chạm vào thiết bị điện hay dây nối.
- Kiểm tra mọi dây dẫn phích và dây nối dài, tìm các dấu hiệu tróc lớp cách điện. Thay thế nếu cần.
- Không tự ý cắt đóng cầu dao điện.
- Luôn có đường điện ưu tiên để an toàn cho các thiết bị.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Chuẩn bị trước khi xử lý

- Người thực hiện: rửa tay hai lần; mặc quần áo bảo hộ theo quy định;
- Sát khuẩn bề mặt túi máu trước khi chuyển vào phòng xử lý và trước khi chuyển túi vào tủ an toàn sinh học;
- Dán barcode, ghi thông tin vào phiếu và túi xử lý;
- Rã đông khối tế bào gốc theo quy trình nếu bảo quản đông lạnh.

4.2. Thực hiện kỹ thuật

Bước 1: Tiếp nhận khối tế bào đơn nhân

- Tiếp nhận túi khối tế bào đơn nhân kiểm tra thông tin trên túi;
- Cân túi để xác định lại thể tích;
- Trộn đều túi, hàn tách một đoạn dây để lưu mẫu.

Bước 2: Chuyển tế bào đơn nhân vào túi chiếu xạ

- Chuẩn bị túi chiếu xạ chuyên dụng;
- Kết nối vô trùng túi tế bào đơn nhân với túi chiếu xạ chuyên dụng (sử dụng máy nối vô trùng);
- Chuyển toàn bộ sản phẩm tế bào đơn nhân từ túi thu thập sang túi chiếu xạ;
- Hàn tách túi rỗng tế bào đơn nhân và lưu cùng đoạn dây chứa mẫu ở trên để đánh giá chất lượng (cấy khuẩn lại) nếu trường hợp cấy khuẩn mẫu trong quá trình xử lý dương tính.
- Cân lại túi chiếu xạ.

Bước 3: Bổ sung dung dịch NaCl 0.9% và lấy mẫu làm xét nghiệm

- Kết nối kín túi chiếu xạ với chai/túi NaCl 0.9%, bổ sung NaCl 0.9% sao cho tổng thể tích tế bào đơn nhân và nước muối bằng 300 ml; hàn tách và đuổi khí;
- Trộn đều, lấy mẫu xét nghiệm tế bào máu; xác định lượng Hematocrit (HCT) trong túi sản phẩm:
 - + Nếu $HCT < 2\%$, thì tiến hành chiếu xạ;
 - + Nếu $HCT \geq 2\%$ thì tăng mức độ chiếu xạ thêm $0.5J/cm^2$ hoặc chia làm 2 túi chiếu xạ.
- Hút 3 ml 8-MOP (C_F : 200 ng/ml) bổ sung vào túi 300 ml.

Bước 4: Chiếu UVA

- Bật máy quang hóa liệu pháp;
- Thực hiện quy trình chiếu xạ đã được lập trình:
 - + UVA liều lượng: $2 J/cm^2$;
 - + $HCT < 2\%$;
 - + Thời gian 10 phút.
- Cấy khuẩn túi sản phẩm.

4.3. Nhận định kết quả

Quy trình không đảm bảo vô khuẩn, rò rỉ, rách vỡ.

4.4. Kết thúc quy trình

- Điền đầy đủ các thông tin trên phiếu xử lý;

- Gửi mẫu xét nghiệm (tùy theo mục đích ứng dụng): nhóm máu, virus, cấy máu đến các phòng xét nghiệm;

- Bàn giao mẫu tế bào sau xử lý cho đơn vị sử dụng.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Hành chính	Nhầm mẫu, nhầm tên	Đối chiếu thông tin mẫu và chỉ định	Sửa thông tin và lấy lại mẫu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

STT	Nguyên nhân	Cụ thể	Cách nhận biết	Biện pháp khắc phục
1	Trang thiết bị, dụng cụ	Thiết bị không đảm bảo yêu cầu	Các sản phẩm tạo ra không đạt chất lượng như yêu cầu	Sửa chữa, thay thế
2	Nhân viên thực hiện	Thực hiện không đúng quy trình	Mẫu điều chế không đúng cách, chất lượng mẫu sau bảo quản không đảm bảo	Đào tạo lại

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Knobler R, Arenberger P, Arun A, et al. European dermatology forum - updated guidelines on the use of extracorporeal photopheresis 2020 - part 1. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2020 Dec; 34(12): 2693-2716.

2. Lagacé F, Netchiporouk E, et al. Extracorporeal Photopheresis and Its Use in Clinical Dermatology in Canada. Skin Therapy Lett. 2022 Sep; 27(5): 1-63.

3. Worel N & Leitner G. Clinical Results of Extracorporeal Photopheresis. Transfus Med Hemother. 2012 Aug; 39(4): 254-262.