

# BỆNH VIỆN ĐA KHOA SỐ 2 TỈNH LÀO CAI

\*\*\*\*\*



## HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH GIẢI PHẪU BỆNH – TẬP 1

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BVĐK2 ngày tháng 11 năm 2025 của  
Giám đốc Bệnh viện Đa khoa số 2 tỉnh Lào Cai)*

Lào Cai, năm 2025

**Hội đồng thẩm định**

BSCKII. Nguyễn Việt Hải	Phó Giám đốc bệnh viện
ThS. Lâm Thị Hậu	Phó Giám đốc Trung tâm Xét nghiệm
ThS. Nguyễn Thế Linh	Phó trưởng phòng QLCL
DSCKI. Nguyễn Thị Mỹ Nương	Phó trưởng phòng KHTH
DSCKI. Hoàng Anh Ninh	GVN. Phó trưởng phòng ĐT&CĐT
Đỗ Dương Quân	Trưởng khoa Giải phẫu bệnh
BSCKI. Hồ Thị Phi Nga	Giám đốc Trung tâm Xét nghiệm
BSCKI. Trần Thị Hảo	Phụ trách bộ phận HHTM - TTXN
ThS. Nguyễn Thị Ngọc Bích	KTV Trưởng Trung tâm Xét nghiệm

**Biên soạn**

Ths. Đỗ Dương Quân	Trưởng khoa GPB
BSCKI. Giàng Thị Nhung	Phó trưởng khoa GPB
ĐDCKI. Phạm Thị Hoà	ĐD Trưởng khoa GPB

## LỜI NÓI ĐẦU

Trong công tác khám và điều trị bệnh, xét nghiệm Giải phẫu bệnh - Tế bào giữ vai trò đặc biệt quan trọng, cung cấp những thông tin chính xác, kịp thời giúp bác sĩ chẩn đoán, theo dõi và đánh giá hiệu quả điều trị. Trong bối cảnh chăm sóc sức khỏe ngày càng hiện đại và yêu cầu chất lượng ngày càng cao, hoạt động xét nghiệm Giải phẫu bệnh - Tế bào không chỉ dừng lại ở việc thực hiện kỹ thuật mà còn đòi hỏi sự chuẩn hóa quy trình, đảm bảo an toàn, kiểm soát chất lượng và tuân thủ các tiêu chuẩn nghề nghiệp.

Nhằm nâng cao hiệu quả công tác xét nghiệm Giải phẫu bệnh - Tế bào, đảm bảo kết quả có độ tin cậy cao, Bệnh viện Đa khoa số 2 tỉnh Lào Cai xây dựng và ban hành “Tập tài liệu hướng dẫn quy trình chuyên ngành Giải phẫu bệnh - Tập 1” gồm 04 quy trình kỹ thuật. Tài liệu bao gồm các quy trình kỹ thuật cơ bản và chuyên sâu, giúp cán bộ kỹ thuật viên, bác sĩ xét nghiệm thực hiện công việc một cách thống nhất, khoa học và an toàn.

Tài liệu không chỉ phục vụ cho công tác chuyên môn mà còn là cơ sở tham khảo hữu ích trong đào tạo, nghiên cứu, và kiểm soát chất lượng xét nghiệm. Thông qua việc áp dụng thống nhất các quy trình, bệnh viện hướng tới mục tiêu nâng cao chất lượng xét nghiệm, giảm thiểu sai sót và đảm bảo an toàn tối đa cho người bệnh.

Tập thể biên soạn mong nhận được những ý kiến đóng góp của các đồng nghiệp, chuyên gia và cán bộ y tế để tài liệu ngày càng hoàn thiện hơn, phục vụ thiết thực cho công tác khám chữa bệnh và quản lý chất lượng xét nghiệm trong toàn ngành.

**Tập thể biên soạn**

**PHỤ LỤC 1**  
**DANH MỤC KỸ THUẬT CHƯƠNG 25 GIẢI PHẪU BỆNH**

<b>STT trong QTKT</b> (cột 1)	<b>STT kỹ thuật trong Chương</b> (cột 2)	<b>Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2024/TT-BYT</b> (cột 3)	<b>Mã liên kết</b> (cột 4)	<b>Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2024/TT-BYT</b> (cột 5)	<b>Tên quy trình của khoa GPB hiện tại</b>
1	25.89	Xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học các bệnh phẩm chọc hút kim nhỏ, áp lam	25.89	Xét nghiệm tế bào học áp nhuộm thường quy	Xét nghiệm tế bào học áp nhuộm thường quy
2	BS_25.205			Tế bào phiên đồ áp	Tế bào phiên đồ áp
3	25.104			Xét nghiệm các gen gây ung thư đại tràng và tụy	Xét nghiệm các gen gây ung thư đại tràng và tụy
4	25.106			Xét nghiệm các gen gây ung thư phổi	Xét nghiệm các gen gây ung thư phổi

## NGUYÊN TẮC ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT

1. Quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chuyên ngành, bao gồm mục đích, ý nghĩa, các bước của quy trình xét nghiệm theo trình tự từ khi bắt đầu nhận mẫu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật.

2. Quy trình kỹ thuật này được áp dụng tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Đa khoa số 2 tỉnh Lào Cai.

3. Quy định về thời gian, nhân lực thực hiện kỹ thuật (chức danh chuyên môn nghề nghiệp), thuốc, thiết bị y tế... quy trình ban hành dựa trên tính phổ biến, thường quy thực hiện tại bệnh viện Đa khoa số 2 tỉnh Lào Cai. Trong thực tế triển khai, căn cứ diễn biến lâm sàng, tình trạng người bệnh, điều kiện thực tế của bệnh viện, việc triển khai kỹ thuật có thể cần huy động thêm nhân lực, bổ sung thuốc, thiết bị y tế..., Lãnh đạo bệnh viện ban hành các quy trình kỹ thuật trong đó quy định về thời gian và các quy định khác phù hợp để áp dụng tại đơn vị.

4. Thời gian thực hiện kỹ thuật: Là tổng thời gian tiêu tốn để thực hiện kỹ thuật bao gồm cả chuẩn bị (lấy mẫu bệnh phẩm, chuẩn bị dụng cụ, hóa chất...), thực hiện kỹ thuật, xử lý sai sót, ...

## MỤC LỤC

1. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM TẾ BÀO HỌC ÁP NHUỘM THƯỜNG QUY .....	1
2. QUY TRÌNH TẾ BÀO PHIÊN ĐỒ ÁP .....	5
3. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM CÁC GEN GÂY UNG THƯ ĐẠI TRÀNG VÀ TUY .....	9
4. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM CÁC GEN GÂY UNG THƯ PHỔI .....	13

# **1. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM TẾ BÀO HỌC ÁP NHUỘM THƯỜNG QUY**

**Mã hiệu: QTKT.20.GPB**

## **1. MỤC ĐÍCH**

Mô tả, hướng dẫn cách thực hiện xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp áp nhuộm thường quy.

## **2. PHẠM VI ÁP DỤNG**

- Quy trình này được áp dụng tại khoa Giải phẫu bệnh.
- Thời gian áp dụng: 24h tất cả các ngày trong tuần.

## **3. TRÁCH NHIỆM**

- Hội đồng khoa học kỹ thuật của Bệnh viện có trách nhiệm thẩm định quy trình.
- Lãnh đạo bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.
- Lãnh đạo khoa Giải phẫu bệnh có trách nhiệm triển khai, duy trì tính hiệu lực của quy trình.
- Tất cả nhân viên khoa Giải phẫu bệnh đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.
- Người đủ thẩm quyền, được giao nhiệm vụ nhận định và ký duyệt kết quả.

## **4. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ VÀ CHỮ VIẾT TẮT**

### **4.1. Định nghĩa**

Trong các loại dịch của cơ thể như dịch phế quản, dịch màng phổi, dịch khớp, dịch ổ bụng, nước tiểu, các bệnh phẩm chọc hút áp lam...có thể có các tế bào bong ra, tế bào u từ các tổn thương ở đó. Các tế bào được dàn trên lam kính sau đó được nhuộm để đánh giá hình thái tế bào.

### **4.2. Thuật ngữ, chữ viết tắt**

- GPB: Giải phẫu bệnh
- XN: Xét nghiệm
- QTKT : Quy trình kỹ thuật
- BP : Bệnh phẩm

## **5. NGUYÊN LÝ**

Trong các loại dịch của cơ thể như dịch phế quản, dịch màng phổi, dịch khớp, dịch ổ bụng, nước tiểu, các bệnh phẩm chọc hút áp lam...có thể có các tế bào bong ra, tế bào u từ các tổn thương ở đó. Các tế bào được dàn trên lam kính sau đó được nhuộm để đánh giá hình thái tế bào.

## **6. TRANG THIẾT BỊ VÀ VẬT TƯ**

- Máy ly tâm.
- Bàn sấy tiêu bản

- Kính hiển vi quang học.
- Máy tính, máy in

## **7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Bác sỹ chuyên ngành Giải phẫu bệnh được giao nhiệm vụ đánh giá, đọc và ký duyệt kết quả.

## **8. AN TOÀN**

- Điều kiện nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm phù hợp cho hoạt động của trang thiết bị và hóa chất sinh phẩm của phòng xét nghiệm.
- Đeo găng tay, khẩu trang khi làm việc.
- Thực hiện an toàn điện, phòng chống cháy nổ, xử lý khi có sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm.

## **9. NỘI DUNG THỰC HIỆN**

### **9.1. Người thực hiện**

Nhân viên y tế có Chứng chỉ hành nghề GPB.

### **9.2. Thời gian thực hiện xét nghiệm:**

Khoảng 10 - 20 phút, có thể lâu hơn những trường hợp khó cần hội chẩn.

### **9.3. Các bước tiến hành**

#### **9.3.1. Chuẩn bị bệnh phẩm**

*Lấy bệnh phẩm*

Việc lấy mẫu bệnh phẩm được thực hiện bởi các khoa lâm sàng, cận lâm sàng và gửi bệnh phẩm về phòng xét nghiệm GPB.

Yêu cầu: dịch hút ra được dàn lên lam kính, để khô tự nhiên, sau đó cố định phiến đồ

#### **9.3.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất**

- Găng tay, khẩu trang.
- Lam kính, Lamen
- Pipet nhựa
- Giá đựng lam kính
- Bút ghi kính, giấy in, panh kẹp, kéo, mã code.
- Các dụng cụ để nhuộm: Khay, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.
- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, máu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.
- Hộp an toàn.
- Dung dịch cố định phù hợp.
- Dung dịch nhuộm : Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quick/ Hematoxylin Eosin/ Papanicolaou/ Ziehl - Neelsen...).

- Các dung dịch sát khuẩn.
- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên lam kính.

### 9.3.3. Tiến hành kỹ thuật

- Cố định phiến đồ.

Cố định bằng dung dịch phù hợp lên toàn bộ bề mặt lam kính có chứa bệnh phẩm trước khi nhuộm (tuỳ phương pháp nhuộm).

- Nhuộm các phiến đồ:

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

## 10. DIỄN GIẢI KẾT QUẢ VÀ BÁO CÁO

Phiến đồ sau khi nhuộm màu xong sẽ được đọc dưới kính hiển vi quang học bởi Bác sĩ, từ đó đưa ra định hướng và chẩn đoán cho người bệnh...

## 11. LƯU Ý: Những sai sót và xử trí

- Phiến đồ bị mất tế bào trong quá trình cố định: cần để khô sau khi dàn 3-5 phút trước khi cố định bằng cồn.
- Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng lam kính có phủ chất chống bong
- Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay
- Tế bào thoái hóa, tan rã, không nhận định được hình thái nhân và bào tương: dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay.
- Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt.
- Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.
- Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần thực hiện đúng kỹ thuật.

## 12. LƯU TRỮ HỒ SƠ

- Kết quả được lưu trên phần mềm máy tính.
- Cuối tháng in sổ từ phần mềm máy tính lưu tại khoa GPB.

## 13. TÀI LIỆU LIÊN QUAN

TT	Mã quy trình/biểu mẫu	Tên quy trình/ biểu mẫu
1	QTKT.19.GPB	Quy trình nhuộm Giemsa trên phiến đồ.

## 14. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế, Quyết định số 5530/QĐ-BYT ngày 25/12/2015 Ban hành Hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm.
- Chính phủ, Nghị định số 103/2016/NĐ-CP ngày 01/7/2016 quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm, 2016.
- Bộ Y tế, Quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12/6/2017 Ban hành Tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, 2017.

- Bộ Y tế, Quyết định số 3376/QĐ-BYT ngày 30/08/2023 về việc ban hành Đề cương quy trình kỹ thuật xét nghiệm, 2023.
- Bộ y tế (2013), “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh”

## 2. QUY TRÌNH TẾ BÀO PHIẾN ĐỒ ÁP

Mã hiệu: QTKT.21.GPB

### 1. MỤC ĐÍCH

Mô tả, hướng dẫn cách thực hiện xét nghiệm và chẩn đoán tế bào học bằng phương pháp áp nhuộm thường quy.

### 2. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Quy trình này được áp dụng tại khoa Giải phẫu bệnh.
- Thời gian áp dụng: 24h tất cả các ngày trong tuần.

### 3. TRÁCH NHIỆM

- Hội đồng khoa học kỹ thuật của Bệnh viện có trách nhiệm thẩm định quy trình.
- Lãnh đạo bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.
- Lãnh đạo khoa Giải phẫu bệnh có trách nhiệm triển khai, duy trì tính hiệu lực của quy trình.
- Tất cả nhân viên khoa Giải phẫu bệnh đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.
- Người đủ thẩm quyền, được giao nhiệm vụ nhận định và ký duyệt kết quả.

### 4. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ VÀ CHỮ VIẾT TẮT

#### 4.1. Định nghĩa

Trong các loại dịch của cơ thể như dịch phế quản, dịch màng phổi, dịch khớp, dịch ổ bụng, nước tiểu, các bệnh phẩm chọc hút áp lam...có thể có các tế bào bong ra, tế bào u từ các tổn thương ở đó. Các tế bào được dàn trên lam kính sau đó được nhuộm để đánh giá hình thái tế bào.

#### 4.2. Thuật ngữ, chữ viết tắt

- GPB: Giải phẫu bệnh
- XN: Xét nghiệm
- QTKT : Quy trình kỹ thuật
- BP : Bệnh phẩm
- TB : Tế bào

### 5. NGUYÊN LÝ

Trong các loại dịch của cơ thể như dịch phế quản, dịch màng phổi, dịch khớp, dịch ổ bụng, nước tiểu, các bệnh phẩm chọc hút áp lam...có thể có các tế bào bong ra, tế bào u từ các tổn thương ở đó. Các tế bào được dàn trên lam kính sau đó được nhuộm để đánh giá hình thái tế bào.

### 6. TRANG THIẾT BỊ VÀ VẬT TƯ

- Máy ly tâm.

- Bàn sậy tiêu bản
- Kính hiển vi quang học.
- Máy tính, máy in

## **7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Bác sỹ chuyên ngành Giải phẫu bệnh được giao nhiệm vụ đánh giá, đọc và ký duyệt kết quả.

## **8. AN TOÀN**

- Điều kiện nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm phù hợp cho hoạt động của trang thiết bị và hóa chất sinh phẩm của phòng xét nghiệm.
- Đeo găng tay, khẩu trang khi làm việc.
- Thực hiện an toàn điện, phòng chống cháy nổ, xử lý khi có sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm.

## **9. NỘI DUNG THỰC HIỆN**

### **9.1. Người thực hiện**

Nhân viên y tế có Chứng chỉ hành nghề GPB.

### **9.2. Thời gian thực hiện xét nghiệm:**

Khoảng 10 - 20 phút, có thể lâu hơn những trường hợp khó cần hội chẩn.

### **9.3. Các bước tiến hành**

#### **9.3.1. Chuẩn bị bệnh phẩm**

*Lấy bệnh phẩm*

Việc lấy mẫu bệnh phẩm được thực hiện bởi các khoa lâm sàng, cận lâm sàng và gửi bệnh phẩm về phòng xét nghiệm GPB.

Yêu cầu: dịch hút ra được dàn lên lam kính, để khô tự nhiên, sau đó cố định phiến đồ

#### **9.3.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất**

- Găng tay, khẩu trang.
- Lam kính, Lamén
- Pipet nhựa
- Giá đựng lam kính
- Bút ghi kính, giấy in, panh kẹp, kéo, mã code.
- Các dụng cụ để nhuộm: Khay, cốc pha thuốc nhuộm, ống hút.
- Phiếu xét nghiệm ghi rõ họ và tên người bệnh, vị trí lấy dịch, số lượng dịch, máu sắc, thời gian lấy, người thực hiện kỹ thuật, số lượng phiến đồ.
- Hộp an toàn.
- Dung dịch cố định phù hợp.
- Dung dịch nhuộm : Phẩm nhuộm phiến đồ (Giemsa/Diff - Quick/ Hematoxylin

Eosin/ Papanicolaou/ Ziehl - Neelsen...).

- Các dung dịch sát khuẩn.
- Nước cất, nước sạch để rửa thuốc nhuộm trên lam kính.

### 9.3.3. Tiến hành kỹ thuật

- Cố định phiến đồ.

Cố định bằng dung dịch phù hợp lên toàn bộ bề mặt lam kính có chứa bệnh phẩm trước khi nhuộm (tùy phương pháp nhuộm).

- Nhuộm các phiến đồ:

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

## 10. DIỄN GIẢI KẾT QUẢ VÀ BÁO CÁO

Phiến đồ sau khi nhuộm màu xong sẽ được đọc dưới kính hiển vi quang học bởi Bác sĩ, từ đó đưa ra định hướng và chẩn đoán cho người bệnh...

## 11. LƯU Ý: Những sai sót và xử trí

- Phiến đồ bị mất tế bào trong quá trình cố định: cần để khô sau khi dàn 3-5 phút trước khi cố định bằng cồn.
- Bong bệnh phẩm: rửa nhẹ nhàng, nên dùng lam kính có phủ chất chống bong
- Các tế bào dày, chồng chất: lấy lượng dịch vừa đủ, dàn đều tay
- Tế bào thoái hóa, tan rã, không nhận định được hình thái nhân và bào tương: dịch lấy ra khỏi cơ thể phải làm xét nghiệm ngay.
- Các tế bào bắt màu quá kém: cần cố định tốt và nhuộm đủ thời gian, thuốc nhuộm tốt.
- Nhuộm quá đậm: tẩy bớt thuốc nhuộm bằng cồn tuyệt đối.
- Các tế bào bị kéo dài hoặc bị dập nát: cần thực hiện đúng kỹ thuật.

## 12. LƯU TRỮ HỒ SƠ

- Kết quả được lưu trên phần mềm máy tính.
- Cuối tháng in sổ từ phần mềm máy tính lưu tại khoa GPB.

## 13. TÀI LIỆU LIÊN QUAN

TT	Mã quy trình/biểu mẫu	Tên quy trình/ biểu mẫu
1	QTKT.19.GPB	Quy trình nhuộm Giemsa trên phiến đồ.

## 14. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế, Quyết định số 5530/QĐ-BYT ngày 25/12/2015 Ban hành Hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm.
- Chính phủ, Nghị định số 103/2016/NĐ-CP ngày 01/7/2016 quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm, 2016.

- Bộ Y tế, Quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12/6/2017 Ban hành Tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, 2017.

- Bộ Y tế, Quyết định số 3376/QĐ-BYT ngày 30/08/2023 về việc ban hành Đề cương quy trình kỹ thuật xét nghiệm, 2023.

- Bộ y tế (2013), “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh”

### **3. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM CÁC GEN GÂY UNG THƯ ĐẠI TRÀNG VÀ TUY** **Mã hiệu: QTKT.30.GPB**

#### **1. MỤC ĐÍCH**

Hướng dẫn cho toàn bộ nhân viên trong khoa Giải phẫu bệnh hiểu và tuân thủ theo quy trình GPB từ đó tránh được tối đa sai sót có thể gặp trong giai đoạn trước xét nghiệm, trong xét nghiệm và sau xét nghiệm.

#### **2. PHẠM VI ÁP DỤNG**

- Quy trình này được áp dụng tại khoa Giải phẫu bệnh.
- Thời gian áp dụng: 24h tất cả các ngày trong tuần.

#### **3. TRÁCH NHIỆM**

- Hội đồng khoa học kỹ thuật của Bệnh viện có trách nhiệm thẩm định quy trình.
- Lãnh đạo bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.
- Lãnh đạo khoa Giải phẫu bệnh có trách nhiệm triển khai, duy trì tính hiệu lực của quy trình.
- Tất cả nhân viên khoa Giải phẫu bệnh đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.
- Người đủ thẩm quyền, được giao nhiệm vụ nhận định và ký duyệt kết quả.

#### **4. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ VÀ CHỮ VIẾT TẮT**

##### **4.1. Định nghĩa**

Xét nghiệm các gen gây ung thư đại tràng và tụy là kỹ thuật phân tích gen để tìm kiếm các thay đổi (đột biến) trong gen, một gen liên quan đến nhiều loại ung thư, sử dụng DNA được trích xuất từ các khối mô đã được xử lý và bảo quản trong parafin, phổ biến trong chẩn đoán và điều trị ung thư.

##### **4.2. Thuật ngữ, chữ viết tắt**

- GPB: Giải phẫu bệnh
- XN: Xét nghiệm
- QTKT : Quy trình kỹ thuật
- BP : Bệnh phẩm

#### **5. NGUYÊN LÝ**

Sử dụng máy giải trình tự gen để xác định các đột biến gen

#### **6. TRANG THIẾT BỊ VÀ VẬT TƯ**

- Máy giải trình tự ABI 3130
- Máy PCR
- Máy điện di
- Máy ly tâm lạnh

- Lò vi sóng
- Máy soi gel và chụp ảnh tự động
- Máy cắt lát mỏng
- Tủ ấm 37° và 56°
- Tủ lạnh sâu

## **7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Bác sỹ chuyên ngành Giải phẫu bệnh được giao nhiệm vụ đánh giá, đọc và ký duyệt kết quả.

## **8. AN TOÀN**

- Điều kiện nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm phù hợp cho hoạt động của trang thiết bị và hóa chất sinh phẩm của phòng xét nghiệm.

- Đeo găng tay, khẩu trang khi làm việc.
- Thực hiện an toàn điện, phòng chống cháy nổ, xử lý khi có sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm.

## **9. NỘI DUNG THỰC HIỆN**

### **9.1. Người thực hiện**

Nhân viên y tế có Chứng chỉ hành nghề GPB.

### **9.2. Thời gian thực hiện xét nghiệm:**

Khoảng 24 - 72 giờ (1 - 3 ngày) có thể lâu hơn những trường hợp khó, hội chẩn tuyến trên.

### **9.3. Các bước tiến hành**

#### **9.3.1. Chuẩn bị bệnh phẩm**

*Lấy bệnh phẩm*

Việc lấy mẫu bệnh phẩm được thực hiện bởi các khoa lâm sàng, cận lâm sàng và gửi bệnh phẩm về phòng xét nghiệm GPB.

#### **9.3.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất**

- Găng tay, khẩu trang.
- Lưỡi dao cắt lát mỏng
- Ống hút
- Các hóa chất để thực hiện PCR
- Hóa chất để điện di sản phẩm
- Hóa chất tinh sạch sản phẩm PCR
- Hóa chất để đọc giải trình tự gen
- Dung dịch đệm lysis
- Dung dịch K

- Dung dịch phenol
- Dung dịch clorofom
- Etanol
- Dung dịch acetat
- Dung dịch hòa tan DNA
- Xylen
- Dung dịch rửa
- Túi rác các loại

### 9.3.3. Tiến hành kỹ thuật

- Các khối parafin chứa bệnh phẩm được cắt lát mỏng và dán lên phiến kính
- Vùng mô ung thư được đánh dấu trên phiến kính
- Cạo mô ung thư vào ống ly tâm 1,5 ml
- Cho xylen vào ống ly tâm 2 lần để khử parafin
- Rửa lại bằng etanol và để khô trước khi ủ với proteinase K ở 480 C trong 16 giờ

- Tinh sạch sản phẩm DNA
- Kết tủa DNA bằng etanol tuyệt đối
- Tách DNA bằng kit KAPA
- Khuếch đại exon bằng PCR Master Mix của KAPA
- Chạy điện di trên thạch Agarose 1%
- Tinh sạch sản phẩm PCR bằng nitrogen kit
- PCR sản phẩm đã tinh sạch với BigDye kit
- Tinh sạch sản phẩm BigDye bằng Zymmo kit
- Giải trình tự gen bằng máy ABI 3130
- Phân tích kết quả giải trình tự bằng phần mềm có sẵn.

## 10. DIỄN GIẢI KẾT QUẢ VÀ BÁO CÁO

Kết quả được phân tích bằng phần mềm tương thích. Kết quả được đối chiếu với trình tự nucleotid trên DNA bình thường trong hệ thống dữ liệu ngân hàng gen để xác định chính xác nucleotid đột biến.

## 11. LƯU Ý: Những sai sót và xử trí

- Không có đỉnh hoặc đỉnh hiển thị ở mức độ yếu:
  - + Do không cho khuôn DNA hoặc khuôn cho vào ở dưới nồng độ cần thiết.
  - + Không bổ sung môi vào phản ứng khi GTT.
  - + Môi không tương tác hiệu quả với khuôn sử dụng: nếu GTT từ một plasmid nhân dòng: Cần đảm bảo plasmid được tinh sạch hoàn toàn. Cần xem lại trình tự môi thiết kế nhằm bắt cặp đặc hiệu với khuôn. Plasmid nhân dòng có thể bị đứt gãy hoặc

đoạn nhân dòng chỉ được chèn một phần vào plasmid, nên không có vị trí cho mỗi bám vào. Khuôn sử dụng cho GTT điện di thu được bằng đúng kích thước quan tâm, nhưng thực chất là khuếch đại một đoạn trình tự khác hoàn toàn với trình tự quan tâm (Ví dụ: một số gen có trình tự trùng khớp nhau một vài phần nhất định).

- Xuất hiện nhiễu: do quá trình tinh sạch không loại bỏ hoàn toàn cặn hoặc sản phẩm PCR không đặc hiệu, do DNA bị thoái hóa bởi các chất ức chế nhiễm vào mẫu trong quá trình GTT như muối, phenol, EDTA...

- Đoạn đầu bị nhiễu, sau đó GTT được đoạn sau, nhưng tín hiệu thấp: có thể do môi tự bắt cặp hoặc có sự tham gia của một môi khác khi thao tác. Cần thiết kể lại môi để loại bỏ trường hợp tự ghép cặp, đồng thời, tinh sạch sản phẩm PCR để loại bỏ hoàn toàn các chất cũng như môi khác không cần thiết.

- Nhiều đỉnh chồng lên nhau: do môi có nhiều vị trí bắt cặp, tinh sạch kém hoặc mẫu bị lẫn các DNA khác. Cần sử dụng môi khác, đảm bảo loại bỏ hoàn toàn môi và dNTPs. Nếu đoạn GTT được đưa vào plasmid nhân dòng, cần đảm bảo kiểm tra được khuẩn lạc duy nhất.

- Xuất hiện các đỉnh lạ sau GTT: trong mao quản có bong bóng chưa được loại bỏ hoàn toàn, mẫu bị nhiễm một thành phần nào đó, POP sử dụng trong GTT bị thoái hóa, hỏng.

## 12. LƯU TRỮ HỒ SƠ

- Kết quả được lưu trên phần mềm máy tính.
- Cuối tháng in sổ từ phần mềm máy tính lưu tại khoa GPB.

## 13. TÀI LIỆU LIÊN QUAN

TT	Mã quy trình/biểu mẫu	Tên quy trình/ biểu mẫu
1	QT.63.HT	Quy trình Tiếp nhận, Thực hiện và Trả KQ XN Giải phẫu bệnh.

## 14. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế, Quyết định số 5530/QĐ-BYT ngày 25/12/2015 Ban hành Hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm.

- Chính phủ, Nghị định số 103/2016/NĐ-CP ngày 01/7/2016 quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm, 2016.

- Bộ Y tế, Quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12/6/2017 Ban hành Tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, 2017.

- Bộ Y tế, Quyết định số 3376/QĐ-BYT ngày 30/08/2023 về việc ban hành Đề cương quy trình kỹ thuật xét nghiệm, 2023.

- Bộ y tế (2013), “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh”

## **4. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM CÁC GEN GÂY UNG THƯ PHỔI**

**Mã hiệu: QTKT.31.GPB**

### **1. MỤC ĐÍCH**

Mô tả, hướng dẫn cách thực hiện xét nghiệm các gen gây ung thư phổi.

### **2. PHẠM VI ÁP DỤNG**

- Quy trình này được áp dụng tại khoa Giải phẫu bệnh.
- Thời gian áp dụng: 24h tất cả các ngày trong tuần.

### **3. TRÁCH NHIỆM**

- Hội đồng khoa học kỹ thuật của Bệnh viện có trách nhiệm thẩm định quy trình.
- Lãnh đạo bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.
- Lãnh đạo khoa Giải phẫu bệnh có trách nhiệm triển khai, duy trì tính hiệu lực của quy trình.
- Tất cả nhân viên khoa Giải phẫu bệnh đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.
- Người đủ thẩm quyền, được giao nhiệm vụ nhận định và ký duyệt kết quả.

## **4. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ VÀ CHỮ VIẾT TẮT**

### **4.1. Định nghĩa**

Xét nghiệm các gen gây ung thư phổi là kỹ thuật phân tích gen để tìm kiếm các thay đổi (đột biến) trong gen, một gen liên quan đến nhiều loại ung thư, sử dụng DNA được trích xuất từ các khối mô đã được xử lý và bảo quản trong parafin, phổ biến trong chẩn đoán và điều trị ung thư.

### **4.2. Thuật ngữ, chữ viết tắt**

- GPB: Giải phẫu bệnh
- XN: Xét nghiệm
- QTKT : Quy trình kỹ thuật
- BP : Bệnh phẩm

## **5. NGUYÊN LÝ**

Sử dụng máy giải trình tự gen để xác định các đột biến gen

## **6. TRANG THIẾT BỊ VÀ VẬT TƯ**

- Máy giải trình tự ABI 3130
- Máy PCR
- Máy điện di
- Máy ly tâm lạnh
- Lò vi sóng

- Máy soi gel và chụp ảnh tự động
- Máy cắt lát mỏng
- Tủ ấm 37° và 56°
- Tủ lạnh sâu

## **7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

Bác sỹ chuyên ngành Giải phẫu bệnh được giao nhiệm vụ đánh giá, đọc và ký duyệt kết quả.

## **8. AN TOÀN**

- Điều kiện nhiệt độ, độ ẩm của phòng xét nghiệm phù hợp cho hoạt động của trang thiết bị và hóa chất sinh phẩm của phòng xét nghiệm.
- Đeo găng tay, khẩu trang khi làm việc.
- Thực hiện an toàn điện, phòng chống cháy nổ, xử lý khi có sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm.

## **9. NỘI DUNG THỰC HIỆN**

### **9.1. Người thực hiện**

Nhân viên y tế có Chứng chỉ hành nghề GPB.

### **9.2. Thời gian thực hiện xét nghiệm:**

Khoảng 24 - 72 giờ (1 - 3 ngày) có thể lâu hơn những trường hợp khó, hội chẩn tuyến trên.

### **9.3. Các bước tiến hành**

#### **9.3.1. Chuẩn bị bệnh phẩm**

Lấy bệnh phẩm

Việc lấy mẫu bệnh phẩm được thực hiện bởi các khoa lâm sàng, cận lâm sàng và gửi bệnh phẩm về phòng xét nghiệm GPB.

#### **9.3.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất**

- Găng tay, khẩu trang.
- Lưỡi dao cắt lát mỏng
- Ống hút
- Các hóa chất để thực hiện PCR
- Hóa chất để điện di sản phẩm
- Hóa chất tinh sạch sản phẩm PCR
- Hóa chất để đọc giải trình tự gen
- Dung dịch đệm lysis
- Dung dịch K
- Dung dịch phenol

- Dung dịch clorofom
- Etanol
- Dung dịch acetat
- Dung dịch hòa tan DNA
- Xylen
- Dung dịch rửa
- Túi rác các loại

### 9.3.3. Tiến hành kỹ thuật

- Các khối parafin chứa bệnh phẩm được cắt lát mỏng và dán lên phiến kính
- Vùng mô ung thư được đánh dấu trên phiến kính
- Cạo mô ung thư vào ống ly tâm 1,5 ml
- Cho xylen vào ống ly tâm 2 lần để khử parafin
- Rửa lại bằng etanol và để khô trước khi ủ với proteinase K ở 480 C trong 16 giờ

- Tinh sạch sản phẩm DNA
- Kết tủa DNA bằng etanol tuyệt đối
- Tách DNA bằng kit KAPA
- Khuếch đại exon bằng PCR Master Mix của KAPA
- Chạy điện di trên thạch Agarose 1%
- Tinh sạch sản phẩm PCR bằng nitrogen kit
- PCR sản phẩm đã tinh sạch với BigDye kit
- Tinh sạch sản phẩm BigDye bằng Zymmo kit
- Giải trình tự gen bằng máy ABI 3130
- Phân tích kết quả giải trình tự bằng phần mềm có sẵn.

## 10. DIỄN GIẢI KẾT QUẢ VÀ BÁO CÁO

Kết quả được phân tích bằng phần mềm tương thích. Kết quả được đối chiếu với trình tự nucleotid trên DNA bình thường trong hệ thống dữ liệu ngân hàng gen để xác định chính xác nucleotid đột biến.

### 11. LƯU Ý: Những sai sót và xử trí

- Không có đỉnh hoặc đỉnh hiển thị ở mức độ yếu:
  - + Do không cho khuôn DNA hoặc khuôn cho vào ở dưới nồng độ cần thiết.
  - + Không bổ sung môi vào phản ứng khi GTT.
  - + Môi không tương tác hiệu quả với khuôn sử dụng: nếu GTT từ một plasmid nhân dòng: Cần đảm bảo plasmid được tinh sạch hoàn toàn. Cần xem lại trình tự môi thiết kế nhằm bắt cặp đặc hiệu với khuôn. Plasmid nhân dòng có thể bị đứt gãy hoặc đoạn nhân dòng chỉ được chèn một phần vào plasmid, nên không có vị trí cho môi bám

vào. Khuôn sử dụng cho GTT điện di thu được bằng đúng kích thước quan tâm, nhưng thực chất là khuếch đại một đoạn trình tự khác hoàn toàn với trình tự quan tâm (Ví dụ: một số gen có trình tự trùng khớp nhau một vài phần nhất định).

- Xuất hiện nhiễu: do quá trình tinh sạch không loại bỏ hoàn toàn cặn hoặc sản phẩm PCR không đặc hiệu, do DNA bị thoái hóa bởi các chất ức chế nhiễm vào mẫu trong quá trình GTT như muối, phenol, EDTA...

- Đoạn đầu bị nhiễu, sau đó GTT được đoạn sau, nhưng tín hiệu thấp: có thể do môi tự bắt cặp hoặc có sự tham gia của một môi khác khi thao tác. Cần thiết kể lại môi để loại bỏ trường hợp tự ghép cặp, đồng thời, tinh sạch sản phẩm PCR để loại bỏ hoàn toàn các chất cặn như môi khác không cần thiết.

- Nhiều đỉnh chồng lên nhau: do môi có nhiều vị trí bắt cặp, tinh sạch kém hoặc mẫu bị lẫn các DNA khác. Cần sử dụng môi khác, đảm bảo loại bỏ hoàn toàn môi và dNTPs. Nếu đoạn GTT được đưa vào plasmid nhân dòng, cần đảm bảo kiểm tra được khuẩn lạc duy nhất.

- Xuất hiện các đỉnh lạ sau GTT: trong mao quản có bong bóng chưa được loại bỏ hoàn toàn, mẫu bị nhiễm một thành phần nào đó, POP sử dụng trong GTT bị thoái hóa, hỏng.

## 12. LƯU TRỮ HỒ SƠ

- Kết quả được lưu trên phần mềm máy tính.
- Cuối tháng in sổ từ phần mềm máy tính lưu tại khoa GPB.

## 13. TÀI LIỆU LIÊN QUAN

TT	Mã quy trình/biểu mẫu	Tên quy trình/ biểu mẫu
1	QT.63.HT	Quy trình Tiếp nhận, Thực hiện và Trả KQ XN Giải phẫu bệnh.

## 14. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế, Quyết định số 5530/QĐ-BYT ngày 25/12/2015 Ban hành Hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm.
- Chính phủ, Nghị định số 103/2016/NĐ-CP ngày 01/7/2016 quy định về bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm, 2016.
- Bộ Y tế, Quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12/6/2017 Ban hành Tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, 2017.
- Bộ Y tế, Quyết định số 3376/QĐ-BYT ngày 30/08/2023 về việc ban hành Đề cương quy trình kỹ thuật xét nghiệm, 2023.
- Bộ y tế (2013), “Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành giải phẫu bệnh”