

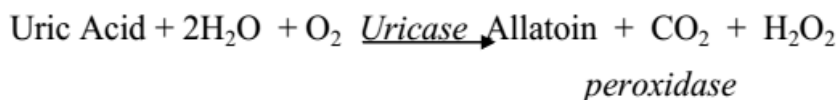
CHƯƠNG I. CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH MÁU

1. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG ACID URIC

I. NGUYÊN LÝ

Acid Uric là sản phẩm chuyển hóa cuối cùng của base có nitơ nhân purin

Acid Uric máu được định lượng theo phương pháp enzyme so màu.



Sản phẩm màu được đo ở bước sóng 546nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, TOOS...

R 2: Uricase, POD, 4-AAP...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý

- Control: 2 mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 5 ngày, ở - 20°C được 6 tháng. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

- Nam: 202 - 416 $\mu\text{mol/l}$

- Nữ: 143 - 399 $\mu\text{mol/l}$

- Acid uric máu tăng trong:

- Bệnh Goutte

- Suy thận

- Nhiễm độc chì, thủy ngân

- Acid uric máu giảm trong:

- Bệnh Willson.

- Con liệt chu kỳ.

- Xanthin niệu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA	Làm giảm kết quả khoảng 7%	Không sử dụng loại chất chống đông này

Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (11,9 - 1487 $\mu\text{mol/L}$)	Sai lệch kết quả. Rất ít gặp	Pha loãng bệnh phẩm

2. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Albumin trong máu của người bệnh theo phương pháp so màu

$\text{pH} = 4.1$

Albumin + BCG \Rightarrow Albumin BCG complex

(BCG: Bromocresol green)

Phức hợp Albumin BCG có màu xanh tỷ lệ thuận với nồng độ Albumin trong mẫu thử được đo ở bước sóng 570 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Albumin, chất chuẩn Albumin, chất kiểm tra chất lượng Albumin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA, không sử dụng chất chống đông Fluorid. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 5 tháng ở 2-8°C, 2.5 tháng ở 15 - 25°C. 4 tháng ở - 15 đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rẽ đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Albumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 34 - 48 g/l.
- Albumin máu tăng trong: Mất nước (nôn nhiều, tiêu chảy nặng).
- Albumin máu giảm trong: Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận). Bệnh không có albumin huyết bẩm sinh. Giảm tổng hợp (viêm gan nặng, xơ gan), kém hấp thu, kém dinh dưỡng, Mất albumin (bong, tổn thương rỉ dịch, bệnh đường ruột mất protein). Ung thư, nhiễm trùng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.
- Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL.

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

3. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

I. NGUYÊN LÝ

Amylase là enzyme thủy phân tinh bột, có nguồn gốc từ tụy và tuyến nước bọt. Xét nghiệm amylase thường được chỉ định trong bệnh lý tuyến tụy hoặc tuyến nước bọt...

Hoạt độ của enzym α Amylase trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

α -amylase

$5 \text{ ethylidene-G7PNP} + 5 \text{ H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2 \text{ ethylidene-G5} + 2 \text{ G2PNP} + 2 \text{ ethylidene-G4} + 2 \text{ G3PNP} + \text{ ethylidene-G3} + \text{ G4PNP}$

α -glucosidase

$2 \text{ G2PNP} + 2 \text{ G3PNP} + \text{ G4PNP} + 14 \text{ H}_2\text{O} \rightleftharpoons 5 \text{ PNP} + 14 \text{ G}$

Đậm độ màu sắc của PNP hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ amylase huyết thanh và có thể đo được ở bước sóng 415 nm

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm α Amylase, chất chuẩn α Amylase, chất kiểm tra chất lượng α Amylase.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2-8°C, 7 ngày ở 20°C đến 25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm α Amylase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm α Amylase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm α Amylase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: < 100 U/L

+ Amylase máu tăng trong: Bệnh tụy (viêm tụy cấp và mạn), Bệnh đường mật, Bệnh ổ bụng không phải bệnh tụy (loét thủng dạ dày, tắc ruột...), Quai bị, tắc tuyến nước bọt, Tăng Amylase ở người bình thường (tăng Macro Amylase)

+ Amylase giảm khi tụy bị hoại tử lan rộng, ngoài ra nó còn giảm trong một số bệnh lý như: Viêm tụy mạn tính. Viêm tụy mạn tính tiến triển. Xơ hóa ống dẫn tụy tiến triển.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- Huyết thanh đục: Triglyceride <1500 mg/dL.

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

Lưu ý: Nước bọt và mồ hôi có chứa α Amylase nên tránh để nhiễm những chất này vào bệnh phẩm hay hóa chất.

4. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ALT (GPT)

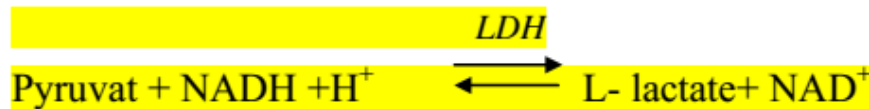
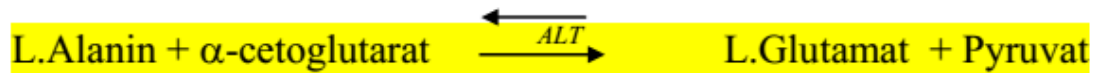
(Alanin transaminase)

ALT còn được gọi là GPT (Glutamat pyruvat transaminase)

Đo hoạt độ ALT thường được làm cùng với AST để xác định bệnh lý về gan, theo dõi tiến triển của bệnh. Ngoài ra ALT cũng được phối hợp với một số xét nghiệm khác như GGT để theo dõi người bệnh nghiện rượu.

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ của enzym ALT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme dựa trên phản ứng:



Hoạt độ ALP được đo bằng sự giảm nồng độ NADH ở bước sóng 340 nm theo thời gian.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh: Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cồn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.

- Bàn lấy máu.

- Găng tay

2.2. Hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm ALP của hãng ROCHE, OLYMPUS.

- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch cho vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông

- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh

- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm ALT trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ ALP được phân tích trên máy phân tích sinh hóa tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Nam: < 41 U/L.
- Nữ: <31 U/L.

2. ALT máu tăng trong

- Các bệnh gan: viêm gan cấp (tăng nhiều, gấp 50-150 lần bình thường) và mạn (tăng gấp 5- 6 lần bình thường), xơ gan, ung thư gan.
- Các bệnh về tim: suy tim xung huyết, viêm màng ngoài tim, nhồi máu cơ tim.
- Viêm túi mật.
- Nhiễm độc rượu cấp.
- Tai biến mạch máu não.
- Viêm tụy cấp hoại tử.
- Hoại tử thận, cơ.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

+ Khi thấy kết quả ALT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu máu vỡ hồng cầu có thể thay đổi kết quả.

+ Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ ALT như: thuốc ức chế men chuyển angiotensin, acetaminophen, thuốc chống co giật, một số loại kháng sinh, thuốc điều trị tâm thần, benzodiazepin, estrogen, sulfat sắt, heparin, interferon, thuốc làm giảm mỡ máu, thuốc chống viêm không phải steroid, salicylat, thuốc lợi tiểu loại thiazid./.

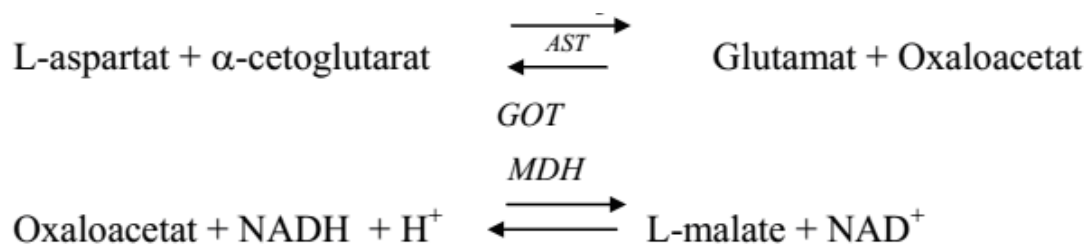
5. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ AST (GOT) (Aspartat transaminase)

AST còn được gọi là GOT (Glutamat oxaloacetat transaminase)

I. NGUYÊN LÝ

Đo hoạt độ AST thường được làm cùng với ALT để xác định bệnh lý và theo dõi tiến triển của gan hay tim mạch,. Ngoài ra AST cũng được phối hợp với một số xét nghiệm khác như GGT để theo dõi người bệnh nghiện rượu.

Hoạt độ của enzym AST trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme, theo phản ứng:



Hoạt độ AST được đo bằng sự giảm nồng độ NADH theo thời gian ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 bác sĩ và 01 kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh: Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000µl, 500 µl, 100µl, 50 µl và 10 µl.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.

- Găng tay

2.2. Hóa chất

+ Hóa chất làm xét nghiệm AST của hãng ROCHE, OLYMPUS.

+ Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

+ Chuẩn của AST.

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông

- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh

- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm AST trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ AST được phân tích trên máy phân tích sinh hóa tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số bình thường:

- Nam: < 37 U/L.
- Nữ: < 31 U/L.

AST máu tăng trong các nguyên nhân:

- Các bệnh gan (tỉ số AST/ALT <1): viêm gan do virus cấp, viêm gan do thuốc (rifampicin, INH, salicylat, heparin), Viêm gan nhiễm độc (CCl₄, amanit phalloid), tắc mật do các nguyên nhân không phải ung thư, apxe gan.

- Các bệnh gan (tỉ số AST/ALT >1): Xơ gan, Viêm gan do rượu, Xâm nhiễm gan (do di căn ung thư, nhiễm sarcoid, lao, u lympho, luput ban đỏ).

- Các bệnh về tim: suy tim mất bù (gan xung huyết), viêm cơ tim, nhồi máu cơ tim, bóp tim ngoài lồng ngực, phẫu thuật tim, sau thông tim (tỉ số AST/ALT >1).

- Viêm túi mật.
- Nhiễm độc rượu cấp.
- Viêm tụy cấp hoại tử.
- Viêm đa cơ, viêm da và cơ,
- Hội chứng vùi lấp.

Hoạt độ AST có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:

- Bệnh Beriberi.
- Nhiễm toan ceton do đái tháo đường.
- Lọc máu.
- Có thai
- Hội chứng ure máu cao.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả AST bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu máu bị vỡ hồng cầu.

+ Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ AST là: Acetaminophen, allopurinol, một số loại kháng sinh, acid ascorbic, chlpropamid, cholestyramin, cholinergic, clofibrat, codein, statin, hydralazin, isoniazid, meperidin, methyl dopa, morphin, thuốc ngừa thai uống, phenothiazin, procainamid, pyridoxin, salicylat, sulfonamid, verapamil, vitamin A.

+ Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ AST là; metronidazol, trifluoperazin../

6. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TRỰC TIẾP (BIL. D)

Bilirubin trực tiếp (Bil D) là bilirubin liên hợp (liên hợp với Acid Glucuronic), ít độc, tan được trong nước, nó lên màu trực tiếp với thuốc thử Diazo nên gọi là Bilirubin trực tiếp.

I. NGUYÊN LÝ

BIL.D trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu.

Bilirubin + diazonium ion => Azobilirubin

Trong môi trường nước, Bilirubin trực tiếp tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp Azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ Bilirubin trực tiếp có trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 546 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL.D, chất chuẩn BIL.D, chất kiểm tra chất lượng BIL.D.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 2 ngày ở 15-25°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rẽ đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BIL.D. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BIL.D. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BIL.D đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $< 5.1 \mu\text{mol/l}$
- BIL.D máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm cần điều chỉnh $\pm 10\%$ khi huyết thanh vàng. Huyết thanh đục do tăng lipid máu hay tán huyết đều ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm.

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)./.

7. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN (BIL. T)

I. NGUYÊN LÝ

Bilirubin là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin. Xét nghiệm bilirubin thường được chỉ định trong bệnh về gan, máu, tắc mật, vàng da...

BIL.T trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu, theo phản ứng:

Acid

Bilirubin + diazonium ion => azobilirubin

Trong môi trường acid Bilirubin tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp Azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ BIL.T có trong mẫu thử được đo ở bước sóng 546 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL.T, chất chuẩn BIL.T, chất kiểm tra chất lượng BIL.T.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng và cần phân tích sớm.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BIL.T. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BIL.T. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BIL.T đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $<17.1 \mu\text{mol/l}$
- BIL.T máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to. Vàng da tiêu huyết: thiếu máu tan huyết, sốt rét... Vàng da sơ sinh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin $< 70 \text{ mg/dL}$ hay $1197 \mu\text{mol/L}$.
- + Tán huyết: Hemoglobin $< 1000 \text{ mg/dL}$.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride $< 1000 \text{ mg/dL}$.

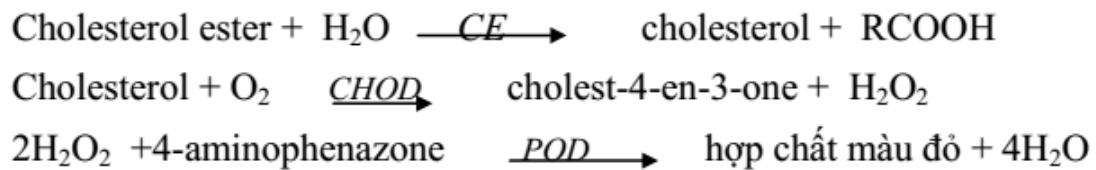
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)./.

8. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Cholesterol toàn phần được tổng hợp ở nhiều mô khác nhau nhưng chủ yếu là ở gan và tế bào thành ruột. Nó được sử dụng để phát hiện nguy cơ vữa xơ động mạch và để chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh có liên quan đến nồng độ cholesterol cũng như các rối loạn chuyển hóa lipid hay lipoprotein

Cholesterol toàn phần trong máu được định lượng theo phương pháp enzym so màu



CE: Cholesterolesterase

CHOD: Cholesterol oxidase

POP: Peroxidas

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, 4AAP, cholesterolester, POD, cholesterol oxydase ...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 4 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Không sử dụng citrate, oxalate, fluorid. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 20°C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 3.9 - 5.2 mmol/l

- Cholesterol máu tăng trong:

+ Vàng da tắc mật

+ Rối loạn chuyển hóa lipid

+ Tiểu đường, tăng huyết áp.

+ Viêm thận, hội chứng thận hư

+ Nhược giáp

- Cholesterol máu giảm trong:

+ Cường giáp

+ Hội chứng Cushing

+ Nhiễm trùng cấp

+ Thiếu máu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

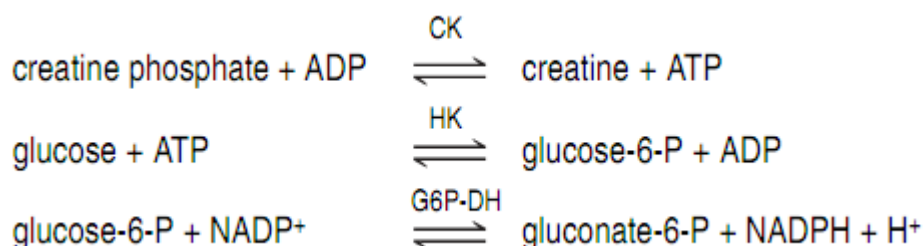
Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (0,1-20,7 mmol/L)	Sai lệch kết quả.	Pha loãng bệnh phẩm

9. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATINE KINASE (CK)

I. NGUYÊN LÝ

CK còn gọi là Creatin Phosphokinase, là một Enzym đóng vai trò quan trọng trong cung cấp năng lượng cho các mô khác nhau trong cơ thể, đặc biệt là mô cơ. CK có mặt chủ yếu ở cơ tim, cơ vân và một lượng ít ở tổ chức não. Bệnh lý xuất hiện ở các cơ quan trên đều có thể gây tăng hoạt độ CK toàn phần.

Định lượng hoạt độ enzym theo động học enzym (kinetic)



Lượng NADPH và ATP được hình thành ở mức tương đương. Hoạt độ CK được đo bằng tốc độ hình thành NADPH tại bước sóng vùng tử ngoại (340 nm), theo thời gian.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và một kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Trang thiết bị

- Các máy phân tích Hóa sinh bán tự động: Emar AE600F, BTS350
- Các máy Hóa sinh tự động: FA200/300/400.
- Máy ly tâm
- Ống nghiệm
- Pipet các loại
- Đầu côn xanh, vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Tùy theo trang thiết bị hiện có, có hóa chất thích hợp

Thuốc thử 1: Gồm đệm Imidazole: 123 mmol/L, pH 6.5 (37°C); EDTA: 2.46 mmol/L; Mg²⁺: 12.3 mmol/L; ADP: 2.46 mmol/L; AMP: 6.14 mmol/L; diadenosine pentaphosphate: 19 µmol/L; NADP (yeast): 2.46 mmol/L; N-acetylcysteine: 24.6 mmol/L; HK (yeast): ≥ 36.7 µkat/L; G6P-DH (E. coli): ≥ 23.4 µkat/L; preservative; stabilizer; additive.

Thuốc thử 2: đệm C PSO*: 20 mmol/L, pH 8.8 (37°C); glucose: 120 mmol/L; EDTA: 2.46 mmol/L; creatine phosphate: 184 mmol/L; Chất bảo quản

*CAPSO: 3-(cyclohexylamino)-2-hydroxy-1-propanesulfonic acid

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông, cồn sát trùng
- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

- Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh mục đích của xét nghiệm này.

- Tránh vận động, luyện tập cường độ cao trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm có thể dùng: huyết thanh, huyết tương (chống đông Lithium heparin) Khi lấy máu bằng bơm tiêm phải tháo kim trước khi chuyển máu vào ống nghiệm, nhẹ tay tránh gây vỡ hồng cầu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn = multical)

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm
Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và vận hành theo protocol của máy

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ Trị số tham khảo:

Nam: 38-174 U/L-37°C

Nữ: 26 - 140 U/L- 37°C

Hệ số chuyển đổi:

U/L x 0.0167 = μ kat/L

Hoạt độ CK (CPK) toàn phần tăng:

Bệnh tai biến mạch não cấp

Nhồi máu cơ tim

Chấn thương não, đụng giập cơ

Sau phẫu thuật tim

Viêm da và cơ; Viêm cơ, Tiêu cơ vân

Nhồi máu phổi

Hoạt độ CK (CPK) toàn phần giảm:

Bệnh addison

Giảm khối lượng cơ

Bệnh lý gan

Giảm tiết của thụ trước tuyến yên

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố	Hậu quả	Xử trí
Mẫu máu bị vỡ hồng cầu	Tăng hoạt độ CK	Tránh vỡ hồng cầu, mẫu bị huyết tán cần được loại bỏ và lấy mẫu máu khác
Sau các thủ thuật: tiêm truyền nhiều lần trong ngày, thông tim,	Tăng hoạt độ CK	Chú ý khi biện luận, nhận định kết quả

chấn thương cơ, sau luyện tập cường độ cao		
Đang sử dụng thuốc: photericin B, ampicillin, thuốc chống đông, clofibrat, statin dexamethason, thuốc gây mê	Tăng hoạt độ CK	Chú ý khi biến loạn, nhận định kết quả
hoạt động thể lực cường độ cao	Tăng hoạt độ CK	Nhắc nhở người bệnh không tập luyện, hoạt động thể lực cường độ cao

10. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ ISOENZYM CK-MB

I. NGUYÊN LÝ

CK được cấu tạo bởi 2 tiểu đơn vị là B (Brain - não) và M (Cơ - Muscle) tùy theo sự tổ hợp của 2 loại B và M mà tạo nên 3 dạng isozyme của CK là CK-MM, CK-MB và CK-BB tức CK não. CK-BB do không qua được hàng rào máu não nên trong huyết thanh nó chỉ ở dạng vết. CK-MB có nhiều ở tim, trong huyết thanh chiếm tỷ lệ <6%. Xét nghiệm CK-MB thường chỉ định trong bệnh tim mạch đặc biệt là nhồi máu cơ tim.

Hoạt độ của enzym CK-MB trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp ức chế miễn dịch và động học enzym.

CK-MB bao gồm 2 tiểu phần là CK-M và CK-B. Trường hợp này để xác định hoạt độ CK-MB, tiểu phần CK-M bị ức chế bằng kháng thể kháng CK-M. Lúc này chỉ xác định hoạt độ của tiểu phần CK-B theo phản ứng như xác định hoạt độ CPK toàn phần. Hoạt độ của CK-MB là hoạt độ của của CK-B được nhân 2.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CK-MB, chất chuẩn CK-MB, chất kiểm tra chất lượng CK-MB.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-Heparin hoặc EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh

phẩm là huyết thanh ổn định 8 giờ ở 2-8°C, 8 ngày ở 15°C đến 25°C, 4 tuần ở -15°C đến -25°C. Bệnh phẩm là huyết tương Heparin ổn định 8 giờ ở 2-8°C, 5 ngày ở 15°C đến 25°C, 8 tuần ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CK-MB. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CK-MB. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CK-MB đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 24 U/L

- CK-MB máu tăng trong: Nhồi máu cơ tim cấp. Người ta thường tính tỷ lệ CK-MB/CK toàn phần, nếu >6% thì ủng hộ cho chẩn đoán nhồi máu cơ tim.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μmol/L.

- + Tán huyết: Hemoglobin < 20 mg/dL

- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 600 mg/dL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)./.

11. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

I. NGUYÊN LÝ

Creatinin là sản phẩm của quá trình thoái hóa creatin phosphate và creatin ở cơ. Creatinin được đào thải chủ yếu qua thận.

Creatinin máu được định lượng theo phương pháp Jaffe (đo điểm đầu và cuối)

Creatinin + acid pycric Alkaline pH → phức hợp vàng cam

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: Potassium hydroxide, phosphat...

R 2: acid pycric.

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA, heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 20°C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 62- 106 $\mu\text{mol/L}$

Nữ: 44 - 88 $\mu\text{mol/L}$

Trẻ em: 15 - 77 $\mu\text{mol/L}$

- Tăng trong:

Suy thận và các bệnh về thận

Ngộ độc thủy ngân

Lupus ban đỏ

Ung thư (ruột, bàng quang, tinh hoàn, tử cung, tiền liệt tuyến)

Bệnh bạch cầu

Bệnh tim mạch: tăng huyết áp vô căn, nhồi máu cơ tim ...

- Giảm trong: có thai, sản giật ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 171 $\mu\text{mol/L}$	Có thể làm ảnh hưởng đến phép đo	Định lượng creatinin bằng phương pháp khác hoặc pha loãng bệnh phẩm hoặc điều trị tình trạng tăng bilirubin
Bệnh phẩm huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả có thể bị ảnh hưởng	

Trẻ sơ sinh, người lớn có HbF > 60 mg/dL	Ảnh hưởng kết quả	Không dùng phương pháp này để định lượng creatinin
Nồng độ > dải đo (15-2200 $\mu\text{mol/L}$)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

12. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI (Na⁺, K⁺, Cl⁻)

I. NGUYÊN LÝ

Các chất điện giải liên quan đến rất nhiều các chuyển hóa quan trọng trong cơ thể. Na⁺, K⁺, Cl⁻ là các ion quan trọng nhất và được sử dụng nhiều nhất. Chúng được cung cấp qua chế độ ăn, hấp thu ở dạ dày, ruột và được đào thải qua thận.

Các chất điện giải máu được định lượng theo phương pháp điện cực chọn lọc gián tiếp.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ, KTV xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa.
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. ISE reference, ISE Diluent, ISE Internal Standard.

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác.

- Điện cực các loại.
- Chuẩn.
- Control: 2 mức.
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin (không dùng chất chống đông là EDTA, oxalate xitrat). Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 14 ngày (Cl⁻ được 7 ngày). Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

+ Na: 133 - 147 mmol/l

+ K: 3.4 - 4.5 mmol/l

+ Clo: 94 - 111 mmol/l

- Kali máu tăng trong:

+ Suy thận. thiếu niệu, vô niệu...

+ Nhiễm acid, thiếu insulin (hôn mê tiểu đường)...

+ Dập cơ, bồng nặng, tắc ruột cấp, suy tim, NMCT.

- Kali máu giảm trong.

+ Bệnh Westphal.

+ Cường vỏ thượng thận.

+ Nhiễm acid tiểu đường.

+ Bồng.

+ Dùng thuốc lợi niệu.

- Na máu tăng trong:

+ Tổn thương ống thận, suy thượng thận.

+ Dùng thuốc lợi niệu...

- Na máu giảm:

+ Viêm thận.

Suy tim.

+ Nhiễm trùng nặng có sốt.

+ Xơ gan.

- Clo máu máu tăng trong:

+ Ăn mặn, mất nước, tiêu chảy nặng, dò ruột...

+ Suy thận cấp, viêm thận.

+ Cường cận giáp.

+ Nhiễm kiềm hô hấp, nhiễm acid chuyển hóa.

- Clo máu giảm trong:

+ Ăn nhạt.

+ Bồng nạng.

+ Dùng thuốc lợi tiểu...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống có chất chống đông EDTA hoặc các loại chất chống đông khác có chứa Natri hoặc kali hoặc clo	Sai lệch kết quả	Không sử dụng các mẫu này
Bệnh phẩm huyết tán	Kết quả Kali sai tùy mức độ	Không sử dụng mẫu này

13. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG ETHANOL **(Định lượng nồng độ cồn trong máu)**

I. NGUYÊN LÝ

Ethanol được định lượng theo phương pháp động học enzym.



ADH

Ethanol và NAD được chuyển đổi thành acetaldehyde và NADH bởi ADH (alcoholdehydrogenase).

Các NADH được hình thành trong quá trình phản ứng làm thay đổi độ hấp thụ, nồng độ ethanol được đo ở bước sóng 340nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Emar AE600F, BTS350.

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ethanol, chất chuẩn Ethanol, chất kiểm tra chất lượng Ethanol.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, với người bệnh bị tai nạn cần thông báo với người nhà người bệnh ...

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và EDTA. Lưu ý không sử dụng chất sát khuẩn có cồn để lấy máu. Ống lấy máu phải đạt tiêu chuẩn và nút đảm bảo chặt, kín. Máu cần chuyển tới phòng xét nghiệm trong vòng 30 phút.

- Máu cần được ly tâm ngay tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15- 25°C, 2 tuần ở 2-8°C, 4 tuần ở (-15)- (-25)°C. Nếu chống đông bằng Na Fluorid thì bệnh phẩm ổn định được 2 tuần ở 25°C, 3 tháng ở 5°C, 6 tháng ở -15°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

- Bệnh phẩm (Huyết thanh, huyết tương) sau khi đã được tách cần đựng trong ống đậy kín. Bệnh phẩm cần được phân tích ngay trong vòng 5 phút, chỉ lấy bệnh phẩm đủ cho 1 lần phân tích. Nếu phải phân tích lại nên lấy mẫu bệnh phẩm khác ở ống gốc.

- Bệnh phẩm là máu toàn phần cần xử lý như sau:

Lấy 300 µl Acid tricloacetic 10% + 300 µl máu, trộn đều rồi ly tâm 5000 vòng trong 5 phút, tách lấy phần dịch nổi.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Ethanol. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Ethanol đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <10.9 mmol/L

- Ethanol từ 10.9-21.7 mmol/l: Biểu hiện đỏ mặt, nôn mửa, phản xạ chậm chạp, giảm nhạy bén.

- 21.7 mmol/l: Biểu hiện ức chế thần kinh trung ương.

- 86.8 mmol/l: Có thể gây nguy hại cho tính mạng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

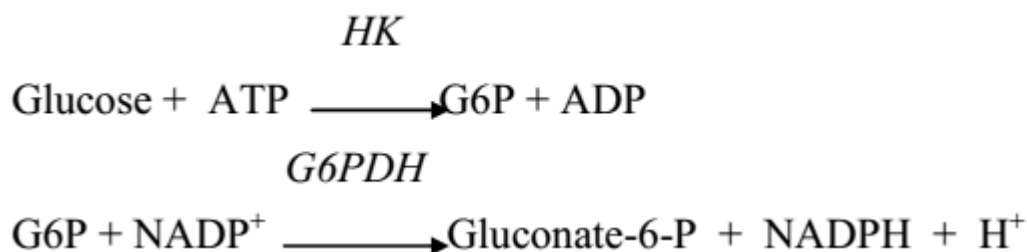
- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL.
- Tán huyết: Hemoglobin < 0.2 g/dl. Nếu nồng độ Hb quá mức này cần xử lý mẫu như mẫu máu toàn phần.
- Huyết thanh đục: Triglyceride < 500 mg/dl.
- Acid Lactic < 30 mmol/L.

14. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Glucose là carbohydrate quan trọng nhất lưu hành trong máu ngoại vi. Quá trình đốt cháy glucose là nguồn chính cung cấp năng lượng cho tế bào.

Glucose máu được định lượng theo phương pháp động học có sự tham gia của enzzym hexokinase:



Đo tốc độ tăng mật độ quang của NADPH ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, NADP...

R 2: HK, G6PDH...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác:

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh

Được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương. Bệnh phẩm phải được ly tâm tách lấy huyết thanh, huyết tương ngay. Bảo quản ở 15-25°C trong vòng 8 giờ, ở 2-8°C được 72 giờ. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

+ Người lớn: 3.9 - 6.4 mmol/l

+ Trẻ em: 3.3 - 5.6 mmol/l

+ Trẻ sơ sinh: 2.2 - 4.4 mmol/l

- Glucose máu tăng trong:

+ Đái tháo đường

+ Viêm tụy, ung thư tụy.

+ U tụy thượng thận.

+ Cường giáp.

- Glucose máu giảm trong:

+ Suy tuyến yên, suy tuyến giáp.

+ Bệnh Insulinoma.

+ Thiếu dinh dưỡng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

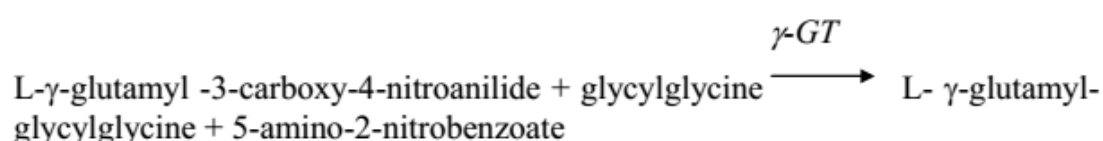
Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm để lâu không ly tâm và định lượng ngay gây hiện tượng hủy đường	Làm giảm kết quả. Sau 1 giờ giảm khoảng 7%	Sử dụng chất chống đông NaF để tránh hủy đường
Lấy máu sau ăn	Làm tăng kết quả	Làm lại mẫu lúc đói
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (0,11-41,6 mmol/L)	Sai lệch kết quả. Rất ít gặp	Pha loãng bệnh phẩm

15. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ GGT (Gamma glutamyl transpeptidase)

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ GGT cho phép phát hiện các người bệnh nghiện rượu (GGT tăng cùng với thiếu máu hồng cầu to và tăng acid uric), theo dõi tình trạng ứ mật, theo dõi tình trạng cai rượu ở người bệnh nghiện rượu. GGT được chỉ định phối hợp với phosphatase kiềm để xác định tăng phosphatase kiềm trong bệnh xương hay gan.

Hoạt độ của enzym GGT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym. Theo phương trình phản ứng sau:



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh: Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cùn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2. Hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm GGT của hãng ROCHE, OLYMPUS.

- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.
- Chuẩn của GGT

2.3. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C và 1 năm ở nhiệt độ (-15)-(-25)°C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm GGT trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ GGT được phân tích trên máy phân tích sinh hóa tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- Nam: 8 - 61 U/L

- Nữ: 5 - 36 U/L

2. GGT máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau đây

- Bệnh lý gan, mật (viêm gan cấp và mạn, viêm gan nhiễm trùng, viêm gan do rượu, xơ gan, ung thư gan, vàng da ứ mật, thoái hóa mỡ xơ gan...)

- Các thâm nhiễm gan: tăng lipid máu, u lympho, kén sán lá gan, lao, bệnh sarcoidose, áp xe, ung thư di căn gan.

- Bệnh lý ứ mật: xơ gan do mật tiên phát, viêm đường mật xơ hóa, sỏi mật, ung thư biểu mô đường mật.

- Các tổn thương tụy tạng: Viêm tụy cấp, viêm tụy mạn, ung thư tụy, u bóng Vater.

- Các tổn thương thận: Hội chứng thận hư, ung thư biểu mô thận.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

* Khi thấy kết quả GGT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

- Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

* Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

- Máu vỡ hồng cầu

- Các chất có thể làm tăng hoạt độ GGT: Rượu, aminoglycosid, barbiturat, thuốc kháng H₂, thuốc chống viêm không phải steroid, phenytoin, thuốc ngừa thai uống, thuốc chống trầm cảm.

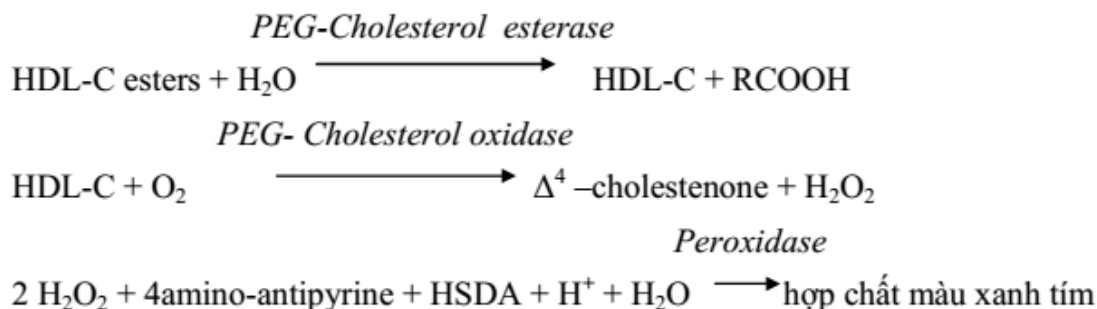
- Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ GGT: Clofibrat./.

16. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG HDL-C

I. NGUYÊN LÝ

HDL-C (High Density Lipoprotein cholesterol) là thành phần vận chuyển cholesterol từ máu về gan. Nồng độ HDL-C máu có liên quan đến nguy cơ mắc chứng xơ vữa động mạch. Làm tăng nồng độ HDL là góp phần điều trị bệnh lý tim mạch.

HDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



PEG: polyethylene glycol

HSDA: Sodium N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: dextran sulfate, magnesium nitrat hexahydrate, peroxidase...

R 2: PEG-C esterase, PEG-C oxidase, 4amino-antipyrine, peroxidase...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, NaCl 9%
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 60°C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: $\geq 0,9$ mmol/L

- HDL-C giảm là một trong những yếu tố dự báo nguy cơ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh tim mạch.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA	Có thể làm giảm kết quả	Không sử dụng loại ống này
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ít bị ảnh hưởng	

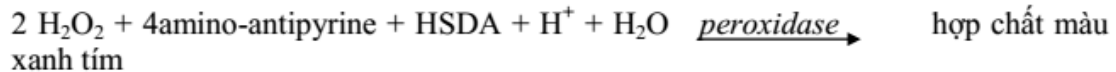
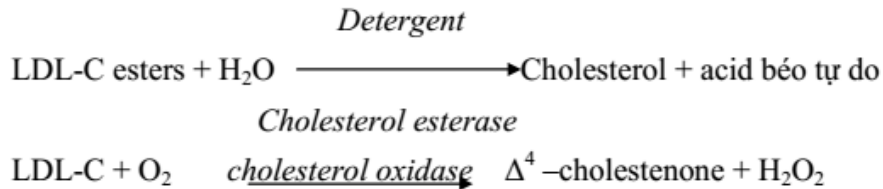
Nồng độ > dải đo (0,08-3,12 mmol/L)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm
-------------------------------------	------------------	---------------------

17. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG LDL-C (Low Density Lipoprotein cholesterolon)

I. NGUYÊN LÝ

LDL-C (Low Density Lipoprotein cholesterolon) là thành phần chính gây nên quá trình xơ vữa động mạch, đặc biệt là xơ vữa mạch vành.

LDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: MOPS, HSDA, peroxidase...

R 2: MOPS, cholesterol esterase, cholesterol oxidase, 4amino-antipyrine, peroxidase, detergent...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, NaCl 9%
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 60°C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: $\leq 3,4$ mmol/L
- LDL-C tăng là một trong những yếu tố dự báo nguy cơ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh tim mạch.

VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA	Có thể làm giảm kết quả	Không sử dụng loại ống này
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ít bị ảnh hưởng	
Nồng độ > dải đo (0,1-14,2 mmol/L)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

18. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng protein toàn phần để đánh giá tình trạng dinh dưỡng của người bệnh, phát hiện một số bệnh như đa u tủy xương, rối loạn protein, tình trạng nhiễm trùng, bệnh tự miễn, các bệnh lý gây mất protein.

Protein toàn phần trong máu của người bệnh được định lượng theo phương pháp so màu dựa trên nguyên tắc phản ứng Biure. Trong môi trường kiềm, những phân tử có từ 2 liên kết peptid trở lên sẽ tạo phức chất với ion Cu^{++} . Protein trong huyết thanh tác dụng với ion Cu^{++} trong môi trường kiềm tạo phức chất càng của màu xanh tím. Độ đậm của màu tỷ lệ thuận với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh: Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μl , 500 μl , 100 μl , 50 μl và 10 μl .
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

Hóa chất

- + Hóa chất làm xét nghiệm Protein.T của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- + Chuẩn của Protein

+ Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

+ Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông.

+ Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh.

+ Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 1 tháng ở nhiệt độ 2-8°C và 6 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)°C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm định lượng protein toàn phần trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Mẫu bệnh phẩm được dán barcode cùng số với tờ phiếu chỉ định xét nghiệm (nơi không có barcode sẽ được đánh số trên ống nghiệm và phiếu chỉ định).

- Mẫu bệnh phẩm được ly tâm, phân phối vào các máy phân tích.

- Phiếu chỉ định được nhập chỉ định bằng hệ thống phần mềm quản lý dữ liệu (nơi không có phần mềm sẽ được quản lý bằng sổ sách).

- Trước khi phân tích, máy phải được thực hiện các bước bảo dưỡng hàng ngày theo quy định của mỗi máy.

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giả trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng protein toàn phần được phân tích trên máy phân tích sinh hóa tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Duyệt kết quả: người phân tích có trách nhiệm kiểm soát kết quả trên máy phân tích trước khi in qua hệ thống máy tính hoặc điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu ở nơi không có phần mềm quản lý số liệu

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

4.1. Trị số bình thường: 66 - 87 g/l

4.2. Protein máu toàn phần có thể tăng trong:

- Mất nước (nôn, tả, mất mồ hôi, sốt cao kéo dài).

- Bệnh Đa u tủy xương.

- Bệnh Waldstrom.

- Bệnh Sarcoidose.

- Các nhiễm khuẩn mạn tính và các bệnh tự miễn gây tăng gamma globulin máu.

4.3. Protein máu toàn phần có thể giảm trong:

- Hòa loãng máu.

- Giảm khẩu phần protein: Suy dinh dưỡng, nuôi dưỡng bằng dịch truyền tĩnh mạch không có protein.

- Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận).

- Mất protein qua da (bong).

- Mất protein qua đường tiêu hóa: Hội chứng giảm hấp thu, cắt ruột non, rò ruột, bệnh lý của ruột gây mất protein.

- Tăng hủy protein (đái tháo đường, nhiễm độc tuyến giáp, suy kiệt do ung thư)

- Bệnh gan (viêm gan, xơ gan).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả protein toàn phần bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

+ Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Máu bị hòa loãng hoặc cô đặc sẽ làm thay đổi nồng độ protein toàn phần.

+ Các thuốc có thể làm thay đổi kết quả xét nghiệm là: spirin, corticosteroid, estrogen, penicillin, phenytoin, procainamid, thuốc ngừa thai uống, progestin.

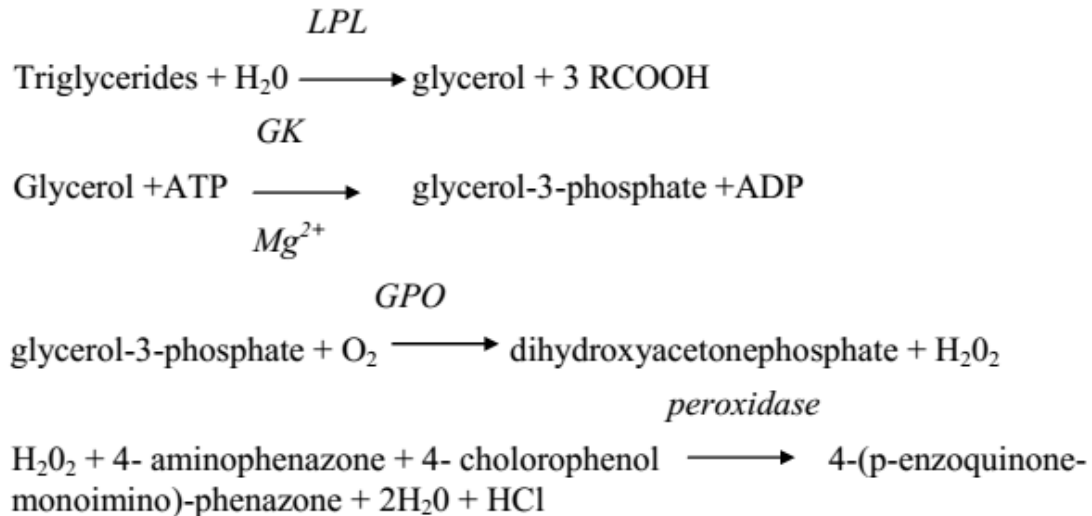
+ Tiêm vaccin gây miễn dịch trong vòng 6 tháng trước có thể gây tăng nồng độ globulin gây tăng nồng độ protein toàn phần trong máu.

19. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

I. NGUYÊN LÝ

Mục đích của xét nghiệm: Triglycerid thường được định lượng để giúp đánh giá tình trạng cân bằng giữa trọng lượng lipid đưa vào và chuyển hóa lipid trong cơ thể.

Định lượng Triglycerid trong máu của người bệnh theo phương pháp Enzym so màu theo phương trình phản ứng sau:



LPL: Lipoprotein lipase

GK: Glycerol kinase

GPO: Glycerol phosphate oxidase

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh: Emar AE600F, FA200/300/400, BTS350.
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000μl, 500 μl, 100μl, 50 μl và 10 μl.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2 Hóa chất

- Hóa chất làm xét nghiệm Triglycerid của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 5- 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C và 3 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)°C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm định lượng Triglycerid trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.

- Dựng đường chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng Triglycerid được phân tích trên máy phân tích sinh hóa tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 0.46 - 1.88 mmol/l
- Nồng độ Triglycerid máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau:
 - + Tăng huyết áp
 - + Đái tháo đường
 - + Viêm tụy cấp
 - + Xơ gan do rượu
 - + Tăng lipoprotein máu có tính chất gia đình.
 - + Bệnh thận.
 - + Hội chứng thận hư
 - + Suy giáp
 - + Nhồi máu cơ tim
 - + Bệnh gút.
 - + Liên quan với chế độ ăn: Tỷ lệ protein thấp, tỷ lệ carbohydrat cao.
 - + Bệnh lý kho dự trữ glycogen.
- Nồng độ Triglycerid máu có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:
 - + Không có β -lipoprotein huyết bẩm sinh
 - + Cường giáp.
 - + Suy dinh dưỡng.
 - + Do chế độ ăn: Tỷ lệ mỡ thấp.
 - + Hội chứng giảm hấp thu.
 - + Nhồi máu não
 - + Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả Triglycerid bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông đặc hay bất thường gì không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Các chất có thể làm tăng nồng độ triglycerid máu: Rượu, thuốc chẹn beta giao cảm, cholestyramin, corticosteroid, estrogen, thuốc ngừa thai uống, thuốc lợi tiểu thiazid.

+ Các chất có thể làm giảm nồng độ triglycerid máu: Acid ascorbic, asparaginase, colestipol, clofibrat, dextrothyroxin, metformin, niacin.

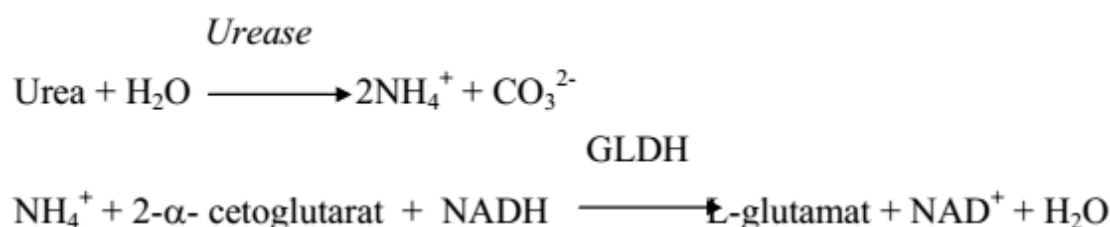
+ Có thai, hoặc người bệnh không nhịn ăn sẽ làm tăng nồng độ triglycerid máu.

20. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG URE

I. NGUYÊN LÝ

Ure là sản phẩm của quá trình chuyển hóa $-NH_2$ từ chu trình ure ở gan. Ure được đào thải chủ yếu qua thận. Nồng độ ure phụ thuộc nhiều vào chế độ ăn

Ure máu được định lượng theo phương pháp động học:



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: NaCl 9%...

R 2: TRIS buffer, NADH, ADP, urease...

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA, heparin (không dùng ammonium heparin. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 20°C được 12 tháng. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 1,7- 8,3 mmol/L
- Ure máu tăng: Suy thận và các bệnh về thận
Sốt, nhiễm trùng
Các bệnh tim mạch
Ăn nhiều protid
- Ure máu giảm: Suy gan nặng, suy dinh dưỡng ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng Ammonium heparin	Có thể làm tăng kết quả	Không sử dụng loại ống này
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc	Kết quả ít bị ảnh hưởng	
Nồng độ > dải đo (0,5-40 mmol/L)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

CHƯƠNG II. CHUYÊN NGÀNH HUYẾT HỌC - TRUYỀN MÁU

21. QUY TRÌNH KỸ THUẬT

TỔNG PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI

I. MỤC TIÊU

- Phản ánh đến số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, khối hồng cầu. Kính thước tế bào và độ phân giải của mỗi tế bào, thành phần bạch cầu, nồng độ huyết sắc tố, số lượng và nồng độ huyết sắc tố trong hồng cầu.

- Các kết quả được ứng dụng trong chuẩn đoán và điều trị cho người bệnh.

II TRÁCH NHIỆM

1. Cán bộ kỹ thuật viên xét nghiệm

- Đảm bảo mã hóa đúng trong quy trình sao lưu và kỹ thuật thực hiện.

-Thực hiện an toàn chính xác các loại xét nghiệm.

- Đảm bảo an toàn trong quy trình thao tác.

- Ghi chép thông tin và báo cáo kết quả xét nghiệm.

2. Trưởng khoa xét nghiệm

- Kiểm tra giám sát chất lượng kết quả xét nghiệm.

- Báo cáo kết quả xét nghiệm.

- Quản lý kết quả xét nghiệm.

- Xây dựng, cập nhật, cải tiến quy trình cho phù hợp phòng xét nghiệm.

III. PHẠM VI ÁP DỤNG

Áp dụng cho tất cả phòng xét nghiệm.

IV. THUẬT NGỮ

- WBC: Số lượng bạch cầu.

- RBC: Số lượng hồng cầu.

- PLT: Số lượng tiểu cầu.

- HGB: Số lượng Hemoglobin.

V. NỘI DUNG

5.1. Nguyên lý xét nghiệm

Xét nghiệm huyết học là xét nghiệm quá trình phản ánh tình trạng tăng hay giảm để đánh giá mức độ phá hủy ở máu ngoại vi hay tình trạng mất máu dựa trên nguyên lý đo các chỉ số trên các máy xét nghiệm tự động hoặc bán tự động.

5.2 Trang thiết bị- Thuốc thử

5.2.1 Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm huyết học bán tự động – 20 thông số - Covergys X3.
- Máy xét nghiệm huyết học bán tự động - 20 thông số - SYSMEX.

5.2.2 Hóa chất- Thuốc thử

- Dịch pha loãng Diluent.
- Dịch phá vỡ Lyse.
- Dịch rửa Rinse.

5.2.3 Mẫu bệnh phẩm

Các mẫu có chất chống đông sau khi lấy máu nghiêng đi nghiêng lại và lắc cho chất chống đông được hòa tan trong mẫu máu.

5.2.4 Quy trình xét nghiệm

- Nhận bệnh phẩm tại khoa xét nghiệm hoặc lấy máu bệnh nhân ngoại trú tại phòng xét nghiệm.
- Chạy mẫu trên máy H18Light hoặc máy Micros-60
- Mẫu máu toàn phần trong ống chống đông EDTA-K3
- Các chế độ đo:
 - + Chế độ pha loãng trước
 - + Chế độ Capillary.
- Nhập thông tin bệnh nhân: Tên- mã bệnh phẩm - ngày tháng- bác sỹ chỉ định- người vận hành.
- Tiến hành đo: chạy mẫu trên máy 60s. Kết thúc quy trình theo kết quả hiện thị trên màn hình cùng với ba lược đồ WBC, RBC, PLT.

5.2.5 Hiệu chuẩn

- Kiểm tra background(chạy trắng) là các đơn giản nhất để hiệu chuẩn đảm bảo máy chạy tốt.

- Nếu background vượt quá giới hạn cho phép đo kiểm tra lại vài lần để chuẩn trắng tốt nhất.

5.2.6 Kiểm tra chất lượng

Chạy kiểm tra chất lượng:

+ Chạy control để đo chuẩn.

+ Kiểm tra kết quả chạy control đáp ứng chuẩn cho phép tiếp tục quy trình chạy mẫu bệnh nhân.

VI. ĐƠN VỊ - HỆ SỐ- KHOẢNG GIÁ TRỊ BÌNH THƯỜNG

TT	Tên xét nghiệm	Ký hiệu	Đơn vị	Chỉ số thấp	Chỉ số cao
1	Số lượng bạch cầu	WBC	10 ⁹ /L	4.0	10.0
2	% LYMPHOCYTE	LYM%	10 ⁹ /L	20.0	40.0
3	% MONOCYTE	MON%	10 ⁹ /L	1.0	15.0
4	% GRANULOCYTE	GRA%	10 ⁹ /L	50.0	70.0
5	Số lượng LYMPHOCYTE	#LYM	u/l	0.6	4.1
6	Số lượng MONOCYTE	#MON	u/l	0.1	1.8
7	Số lượng GRANULOCYTE	#GRA	u/l	2.0	7.8
8	Số lượng hồng cầu	RBC	10 ¹² /L	3.50	5.50
9	Số lượng hemoglobin	HGB	g/dl	11.0	16.0
10	Số lượng hematocrit	HCT	%	36.0	48.0
11	TT trung bình hồng cầu	MCV	Mm ³	80.0	90.0
12	Cỡ hạt trung bình hemoglobin	MCH	P.g	26.0	32.0
13	Độ tập trung tế bào hemoglobin	MCHC	G/dl	32.0	36.0
14	Kích thước tế bào hồng cầu	RDW-SD	Fl	37.0	54.0
15	Độ phân bố tiểu cầu	RDW-CV	Fl	11.5	14.5
16	Số lượng tiểu cầu	PLT	10 ³ /L	100	500

17	Độ keo tiểu cầu	PCT	%	0.10	0.28
18	TTTB hồng cầu	MPV	f1	7.4	10.4
19	Độ phân bố TB hồng cầu	RPW	%	10.0	17.0
20	Tỉ lệ TB tiểu cầu lớn	P-LCR	%	13.0	43.0

VII. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG

7.1 Mẫu máu

- Vị trí lấy máu.
- Thời gian lấy máu.
- Số lượng lấy máu.

7.2 Chất chống đông và chất bảo quản

Trong từng loại xét nghiệm mà dùng chất chống đông khác nhau.

7.3 Thời gian lưu giữ máu

7.4 Kỹ thuật lấy máu lấy máu

Sự tan huyết làm sai kết quả xét nghiệm.

7.5. Tác dụng của việc tiêm truyền

VIII. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

- Trưởng khoa xét nghiệm kiểm tra giám sát và tổ chức thực hiện
- Các kỹ thuật viên xét nghiệm thực hiện đúng quy trình xét nghiệm./.

22. QUY TRÌNH KỸ THUẬT THỜI GIAN MÁU CHẢY

(Phương pháp Duke)

I. NGUYÊN LÝ

Đo thời gian từ lúc tạo một vết thương chuẩn ở vùng giữa dải tai đến khi máu ngừng chảy. Đây là xét nghiệm đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp nghi ngờ có bất thường đông cầm máu, nhất là các bệnh lý về thành mạch (thiếu vitamin C...) bệnh lý về số lượng, chất lượng tiểu cầu (xuất huyết giảm tiểu cầu, Glanzmann...).

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Người bệnh đang có viêm nhiễm hoặc xuất huyết ở dải tai.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện - hóa chất

- Kim chích (Blood lancet).

- Đồng hồ bấm giây.

- Giấy thấm.

- Bông thấm, dung dịch sát trùng (ether, cồn).

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Phiếu xét nghiệm

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Người bệnh ở tư thế nằm hoặc ngồi, thoải mái

- Sát trùng vùng dải tai bằng cồn hoặc ether.

- Dùng kim chích tạo một vết thương chuẩn theo quy định. Khởi động đồng hồ bấm giây.

- Cứ 30 giây 1 lần, dùng giấy thấm, thấm máu chảy ra từ vết chích cho đến khi máu ngừng chảy. Bấm đồng hồ dừng lại.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên./.

23. QUY TRÌNH KỸ THUẬT CO CỤC MÁU ĐÔNG **(Phương pháp Budtz-Olsen)**

I. NGUYÊN LÝ

Nhằm mục đích khảo sát tình trạng số lượng, chất lượng tiểu cầu và sợi huyết, nhất là trong điều kiện không có khả năng triển khai những kỹ thuật cao cấp, phức tạp; Người ta tiến hành đánh giá khả năng co của cục máu sau khi đông.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp nghi ngờ bất thường số lượng và / chất lượng tiểu cầu, sợi huyết.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện - hóa chất

- Bình cách thủy 37⁰C.
- Ống nghiệm tan máu sạch, khô, kích thước 75x9.5mm.
- Bơm kim tiêm nhựa lấy máu.
- Bông, cồn sát trùng, dây ga-rô.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Phiếu xét nghiệm

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Chuẩn bị 2 ống nghiệm tan máu khô, sạch, điền đầy đủ thông tin người bệnh: tên, tuổi, khoa phòng.
- Ga-rô, sát trùng, lấy khoảng 2-3ml máu tĩnh mạch.

- Phân phối đều vào 2 ống nghiệm tan máu đã chuẩn bị sẵn, mỗi ống 1-1,5ml
- Đặt vào bình cách thủy 37⁰C.
- Sau 2-4 giờ, đọc kết quả dựa vào mức độ co của cục đông: co hoàn toàn, co không hoàn toàn, không co, cục đông bị tan.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Cục máu co hoàn toàn: tạo cục máu bờ rõ ràng, phần huyết thanh còn lại chiếm khoảng 50-65% thể tích máu ban đầu, không có hồng cầu tự do.
- Cục máu co không hoàn toàn: tạo cục máu bờ không rõ ràng, phần huyết thanh còn lại < 40% thể tích máu ban đầu hoặc còn hồng cầu tự do.
- Cục máu không co: không tạo riêng phần huyết thanh.
- Cục máu bị nát: hầu hết hồng cầu tự do trong huyết thanh.
- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng, năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

24. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM THỜI GIAN MÁU ĐÔNG

I. NGUYÊN LÝ

Máu ra khỏi mạch máu sẽ tiếp xúc với yếu tố không nội mạc, và quá trình đông máu được phát động bằng việc hoạt hoá yếu tố tiếp xúc (nội sinh). Thời gian từ khi máu ra khỏi mạch máu (tiếp xúc với yếu tố không nội mạc) đến khi hình thành cục đông là thời gian máu đông.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện - hóa chất

- Kim chích (Blood lancet).
- Đồng hồ bấm giây.
- Giấy thấm.
- Bông thấm, dung dịch sát trùng (ether, cồn).

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Phiếu xét nghiệm

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Người bệnh ở tư thế nằm hoặc ngồi, thoải mái
- Sát trùng vùng da tại bằng cồn hoặc ether.
- Dùng kim chích tạo một vết thương chuẩn theo quy định. Khởi động đồng hồ bấm giây.
- Cho 1 giọt máu lên lam kính, khi giọt máu đông. Bấm đồng hồ dừng lại.

IV. KẾT QUẢ

Thời gian máu đông bình thường 6-10 phút

Thời gian máu đông kéo dài là thể hiện của rối loạn đông máu, có thể do giảm yếu tố hay có yếu tố ức chế đông máu.

Đây là xét nghiệm đơn giản nhưng không nhạy. Nhiều rối loạn của tiểu cầu và thậm chí thiếu yếu tố (ví dụ Hemophilia) vẫn có thể bị bỏ qua. Vì vậy, xét nghiệm này hiện nay không nên sử dụng.

25. QUY TRÌNH KỸ THUẬT NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT

(Tournique Test - Phương pháp tăng áp)

I. NGUYÊN LÝ

Đánh giá sức bền của mao mạch qua các nốt xuất huyết dưới da sau khi tăng áp lực của máu bằng cách tạo ra một sự ứ đọng tĩnh mạch. Đây là một trong những xét nghiệm được sử dụng để đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp nghi ngờ suy giảm sức bền mao mạch.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

1 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy đo huyết áp.

- Đồng hồ.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Kiểm tra nốt xuất huyết trên tay người bệnh (Nếu có, cần ghi rõ để phân biệt với nốt xuất huyết mới xuất hiện sau khi tiến hành kỹ thuật);

- Đo huyết áp người bệnh;

- Duy trì áp lực bằng máy đo huyết áp ở trị số trung bình giữa huyết áp tối đa và tối thiểu trong 10 phút;

- Tháo nhanh máy đo huyết áp, giơ cao tay người bệnh để máu lưu thông bình thường.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Đọc kết quả bằng cách đếm các nốt xuất huyết mới ở vùng phía dưới dải quấn đo huyết áp;

- Ghi kết quả: bình thường không có nốt xuất huyết mới. Khi có >10 nốt xuất huyết mới trên diện tích 10cm² dấu hiệu đây thắt được gọi là dương tính và tùy theo số nốt xuất huyết xuất hiện mà kết quả được biểu thị (+), (++) , (+++);

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhầm với nốt xuất huyết cũ, do không kiểm tra hoặc kiểm tra không kỹ;

- Tạo áp lực quá cao hoặc quá thấp;

- Không đảm bảo thời gian tăng áp lực.

26. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM THỜI GIAN PROTHROMBIN (PT)

(PT: Prothrombin Time. Tên khác: TQ - Thời gian Quick; Tỷ lệ prothrombin; Tỷ lệ phức hệ prothrombin)

I. NGUYÊN LÝ

Đây là một trong những xét nghiệm được sử dụng rộng rãi để đánh giá đường đông máu ngoại sinh sau khi bổ sung đầy đủ một lượng thromboplastin tổ chức và canxi.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp nghi ngờ có bất thường đông máu: suy giảm chức năng gan, thiếu hụt vitamin K... Đây cũng là một trong những xét nghiệm tiền phẫu, xét nghiệm theo dõi hiệu quả điều trị kháng vitamin K.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện - hóa chất

- Tủ lạnh.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37⁰C / máy đông máu bán tự động / tự động.
- Pipet 100 μ l, 1.000 μ l.
- Đồng hồ bấm giây.
- Bơm tiêm nhựa lấy máu.
- Bông cotton sát trùng, dây ga-rô.
- Ống nghiệm tan máu sạch, khô, kích thước 75x9,5mm.
- Ống nghiệm plastic có chống đông natri citrat 3,2%.
- Thromboplastin canxi đông khô.
- Nước cất.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Phiếu xét nghiệm

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Ga-rô, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch.
- Trộn máu và chất chống đông citrat natri 3,2% theo tỷ lệ 9 thể tích máu /1 thể tích chống đông.
- Ly tâm mạnh thu huyết tương nghèo tiểu cầu.
- Tách lấy huyết tương làm xét nghiệm.
- Mỗi người bệnh, chuẩn bị hai ống nghiệm tan máu, ghi tên, tuổi, khoa, phòng.
- Phân phối 100µl huyết tương của mẫu cần kiểm tra vào ống nghiệm tan máu đã chuẩn bị .
- Cho thêm vào 200µl thromboplastin canxi. Khởi động đồng hồ ngay; khi xuất hiện màng đông, bấm đồng hồ dừng lại.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Thời gian (giây), luôn đi kèm thời gian của chứng bình thường.
- %: dựa vào đường thẳng chuẩn.
- INR (International Normalized Ratio), được tính theo công thức: PT bệnh (giây) ISI

$$INR = PTR^{ISI} = \left[\frac{PT \text{ bệnh (giây)}}{PT \text{ chứng (giây)}} \right]^{ISI}$$

(ISI: International Sensitivity Index: chỉ số độ nhạy quốc tế).

- Ghi kết quả: thời gian, %, INR vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

27. THỜI GIAN THROMBOPLASTIN TÙNG PHẦN HOẠT HÓA

(APTT: Activated Partial Thromboplastin Time. Tên khác: TCK - Thời gian Cephalin Kaolin)

I. NGUYÊN LÝ

Đây là xét nghiệm được sử dụng để đánh giá đường đông máu nội sinh sau khi thay thế yếu tố 3 tiêu cầu bằng cephalin và hoạt hóa tối đa các yếu tố tiếp xúc bằng các chất hoạt hóa.

II. CHỈ ĐỊNH

Những trường hợp nghi ngờ bất thường đông cầm máu, nhất là bất thường đường đông máu nội sinh: nghi ngờ hemophilia, có biểu hiện xuất huyết, huyết khối trên lâm sàng, chảy máu khó cầm sau can thiệp.. APTT cũng được chỉ định trước can thiệp, phẫu thuật trong bộ xét nghiệm tiền phẫu.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện - hóa chất

- Tủ lạnh.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37⁰C / máy đông máu bán tự động /tự động.
- Đồng hồ bấm giây.
- Bơm tiêm nhựa lấy máu.
- Bông cotton sát trùng, dây ga-rô.
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75x9,5mm.
- Ống nghiệm plastic có chống đông natri citrat 3,2%.
- Pipet 100 μ l, 1.000 μ l.
- Đồng hồ bấm giây.
- Nước cất.
- CaCl₂ M/40.
- Cephalin - kaolin

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Phiếu xét nghiệm

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Ga-rô, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch.
- Trộn đều máu với chất chống đông citrat natri 3,2% theo tỷ lệ: 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu.
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.
- Mỗi người bệnh, chuẩn bị hai ống nghiệm tan máu, ghi tên, tuổi, khoa, phòng.
- Phân phối 100 μ l huyết tương nghèo tiểu cầu cần kiểm tra vào ống nghiệm, để vào bình cách thủy 37 $^{\circ}$ C.
- Thêm vào 100 μ l hỗn dịch cephalin - kaolin; ủ ở bình cách thủy 37 $^{\circ}$ C trong 3-5 phút.
- Cho thêm vào 100 μ l CaCl₂ M/40. Ghi thời gian đông.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Ghi kết quả: thời gian, chỉ số bệnh /chứng vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

28. QUY TRÌNH KỸ THUẬT THỜI GIAN THROMBIN

I. NGUYÊN LÝ

Thrombin có tác dụng chuyển fibrinogen thành fibrin, tạo cục đông máu. Sử dụng thrombin nồng độ thích hợp để đo thời gian hình thành fibrin sẽ cho phép đánh giá con đường đông máu chung: khả năng và tốc độ chuyển fibrinogen thành fibrin.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp bất thường đông máu nghi ngờ do giảm số lượng và chất lượng fibrinogen, do ức chế giai đoạn này của quá trình đông máu bởi ngăn cản quá trình trùng hợp tạo fibrin: tăng cao các sản phẩm thoái giáng fibrin...thường gặp trong đông máu rải rác trong lòng mạch, tiêu sợi huyết tiên phát...

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện - hóa chất

- Tủ lạnh.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37⁰C / máy đông máu bán tự động /tự động.
- Đồng hồ bấm giây.
- Bơm tiêm nhựa lấy máu.
- Bông cotton sát trùng, dây ga-rô.
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75x9,5mm.
- Ống nghiệm plastic có chống đông natri citrat 3,2%.
- Pipet 100 μ l, 1.000 μ l.
- Thrombin pha loãng nồng độ thích hợp theo hướng dẫn.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Phiếu xét nghiệm

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Ga-rô, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch
- Trộn đều máu với chất chống đông citrat natri 3,2% theo tỷ lệ: 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu.
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu.
- Phân phối 100 μ l huyết tương nghèo tiểu cầu cần kiểm tra vào ống nghiệm, để vào bình cách thủy 37⁰C.
- Cho thêm 100 μ l thrombin ở nồng độ thích hợp đã xác định. Khởi động đồng hồ.
- Quan sát khi xuất hiện màng đông, bấm đồng hồ dừng lại.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Ghi kết quả: thời gian, chỉ số bệnh /chứng vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

29. QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG MÁU PROTHROMBIN (PT) *(Phương pháp thủ công)*

I. ĐỊNH NGHĨA

Đông cầm máu là sự thay đổi tình trạng vật lý của máu do sự biến chuyển của một protein hòa tan (fibrinogen) sang dạng gen rắn (fibrin) -> hạn chế mất máu, giữ toàn vẹn thành mạch và tình trạng lỏng của máu.

II. NGUYÊN LÝ

Máu chống đông bằng Natri citrat sẽ được phát động quá trình đông máu theo con đường ngoại sinh khi hồi phục calci và có mặt thromboplastin.

Dựa vào đặc tính này, người ta khảo sát thời gian đông của huyết tương sau khi cho thừa thromboplastin calci để đánh giá các yếu tố đông máu đường ngoại sinh (Phức hệ Prothrombin: II, VII, X).

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp kết quả xét nghiệm đánh giá đường đông máu ngoại sinh kéo dài bất thường.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học. Mặc quần áo bảo hộ, đội mũ, đeo khẩu trang, mang găng tay cao su trong suốt quá trình thực hiện xét nghiệm mẫu bệnh phẩm.

- Tuân thủ đúng các nội quy, yêu cầu trong phòng xét nghiệm Huyết học.
- Áp dụng các biện pháp an toàn chung khi xử lý mẫu và thực hiện xét nghiệm theo quy trình về an toàn xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ lạnh.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37°C/máy đông máu bán tự động/máy đông máu tự động.
- Đồng hồ bấm giây.
- Bơm tiêm nhựa lấy máu.
- Bông cotton sát trùng, dây garo.

- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm.
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%.
- Pipette 100 μ l.
- Đồng hồ bấm giây.
- Nước cất.
- Thromboplastin canxi
- Huyết tương chứng.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên đầy đủ, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh và 2ml máu tĩnh mạch của chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại).

- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu.

- Cho ống máu bệnh nhân ly tâm 3000 vòng/phút trong 10 phút.

- Tách lấy huyết tương làm xét nghiệm.

- Phân phối 0,1ml của mẫu cần kiểm tra vào 2 ống nghiệm. Để ở bình cách thủy 37^oC trong 5 phút.

- Ống 1: Cho vào 0,2ml Thromboplastin. Khởi động đồng hồ ngay. Lắc đều ống nghiệm ở bình thủy 37^oC trong 7 – 9 giây.

- Sau 9 giây nghiêng nhẹ ống nghiệm để quan sát, đến khi xuất hiện màng đông, bấm dừng đồng hồ lại.

- Lặp lại tương tự với ống thứ 2 của mẫu kiểm tra.

- Kết quả được tính nếu 2 ống không vượt quá 5% giây.

VI. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ

- Tùy theo loại thromboplastin sử dụng mà mỗi phòng xét nghiệm có trị số bình thường khác nhau. Thời gian Quick bình thường khi sử dụng thromboplastin có hoạt tính đầu đủ thường từ 11 – 13 giây.

- PTs > 15 giây là dài.

- Cách tính tỷ lệ prothrombin từ thời gian Quick:

Phiên bản 2.0, cập nhật ngày 28/9/2020

79/220

+ PT% = (PT chứng/ PT Bệnh). 100%

+ INR = PTR =(PT bệnh/ PT chứng)

- Thời gian Quick kéo dài trong các trường hợp rối loạn đường đông máu ngoại sinh (giảm nồng độ các yếu tố phức hệ prothrombin do: suy chức năng gan hoặc thiếu Vitamin K, điều trị chống đông bằng dẫn xuất coumarin).

VII. NGUYÊN NHÂN SAI SÓT THƯỜNG GẶP

- Do mẫu huyết tương kiểm tra: đông dây, sai tỷ lệ chất chống đông.

- Do kỹ thuật: Tiến hành kỹ thuật sau 4 giờ với mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

- Do chất lượng Thromboplastin không đảm bảo hoặc sử dụng thromboplastin đã bảo quản lâu sau khi chuẩn bị.

Lưu ý:

Hóa chất phải được bảo quản ở nhiệt độ 2-6⁰C. Và chỉ dùng sau khi mở trong vòng 3 tiếng.

VIII. LƯU HỒ SƠ

Lưu kết quả trên máy và phần mềm trả kết quả.

30. QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHÁT HIỆN KHÁNG ĐÔNG ĐƯỜNG NGOẠI SINH (Máu đông của xét nghiệm PT - Prothrombin time 1:1 mix)

I. NGUYÊN LÝ

Thời gian đông của xét nghiệm PT (prothrombin time) đánh giá đường ngoại sinh kéo dài do 2 nhóm nguyên nhân chính: thiếu hụt hoặc có chất ức chế một hoặc nhiều yếu tố đông máu tham gia con đường đông máu này. Tiến hành xét nghiệm PT với mẫu trộn huyết tương người bệnh với huyết tương bình thường theo tỷ lệ 1:1 (PT 1:1 mix test) để phân biệt 2 nhóm nguyên nhân này: PT của mẫu trộn sẽ điều chỉnh về bình thường nếu thiếu hụt yếu tố đông máu, PT của mẫu trộn không điều chỉnh về bình thường trong trường hợp có chất ức chế.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp kết quả xét nghiệm đánh giá đường đông máu ngoại sinh kéo dài bất thường.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ lạnh.
- Máy ly tâm.
- Bình cách thủy 37°C/máy đông máu bán tự động/máy đông máu tự động.
- Đồng hồ bấm giây.
- Bơm tiêm nhựa lấy máu.
- Bông cotton sát trùng, dây garo.
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm.
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%.
- Pipette 100µl.
- Đồng hồ bấm giây.
- Nước cất.
- Thromboplastin canxi

- Huyết tương chứng.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên đầy đủ, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh và 2ml máu tĩnh mạch của chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại);

- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;

- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu bệnh và chứng;

- Tiến hành xét nghiệm PT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:

- + Mẫu huyết tương chứng;

- + Mẫu huyết tương bệnh;

- + Mẫu huyết tương hỗn hợp chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1.

- Ghi thời gian đông của cả 3 mẫu.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- + PT của hỗn hợp bệnh và chứng điều chỉnh về bình thường: kháng đông ngoại sinh âm tính;

- + PT của hỗn hợp bệnh và chứng không điều chỉnh về bình thường: kháng đông ngoại sinh dương tính;

- Ghi kết quả kháng đông ngoại sinh dương tính hay âm tính vào giấy xét nghiệm;

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu huyết tương chứng không đảm bảo chất lượng;

- Mẫu huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không đảm bảo tỷ lệ.

- Các mẫu kiểm tra: huyết tương bệnh, chứng và huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không được tiến hành xét nghiệm PT cùng thời điểm, cùng hóa chất...

31. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÁN TIẾP

(PT- BASED ASSAYS) bằng máy bán tự động/tự động)

I. NGUYÊN LÝ

Tiến hành xét nghiệm PT mẫu máu cần kiểm tra, nồng độ fibrinogen sẽ được suy ra từ mức độ thay đổi mật độ quang so với đường cong chuẩn; Đường cong chuẩn được thành lập dựa vào mức độ thay đổi mật độ quang học khi tiến hành xét nghiệm PT ở các nồng độ pha loãng khác nhau của mẫu huyết tương chuẩn đã biết trước nồng độ fibrinogen.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp định lượng fibrinogen nhằm mục đích sàng lọc bất thường đông cầm máu.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Máy đông máu bán tự động/tự động;
- Pipette 100 μ l, 1000 μ l;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Thromboplastin canxi;
- Nước cất.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bật máy đông máu, chờ đủ nhiệt độ;
- Garo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh;
- Trộn máu và chất chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh thu huyết tương nghèo tiểu cầu;
- Tách lấy huyết tương cho vào cup đựng mẫu hoặc đặt trực tiếp ống máu đã ly tâm vào khay mẫu của máy (tùy theo loại máy);
- Chọn chương trình PT - Fib. trên máy đông máu;
- Chuẩn bị thromboplastin canxi theo hướng dẫn của nhà sản xuất;
- Đặt hóa chất đã chuẩn bị vào đúng vị trí ở khay hóa chất của máy;
- Tiến hành kỹ thuật theo đúng các bước được hướng dẫn trên màn hình của từng loại máy.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu máu bị đông, vỡ hồng cầu;
- Thromboplastin canxi không đảm bảo chất lượng.

32. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM THỜI GIAN ĐÔNG MÁU THROMBIN (TT)

Thời gian đông của xét nghiệm thời gian thrombin (TT) kéo dài do 2 nhóm nguyên nhân chính: thiếu hụt yếu tố đông máu hoặc do có chất ức chế con đường đông máu này. Tiến hành xét nghiệm TT với mẫu trộn huyết tương người bệnh với huyết tương bình thường theo tỷ lệ 1:1 (TT 1:1 mix test) để phân biệt 2 nhóm nguyên nhân này: TT của mẫu trộn sẽ điều chỉnh về bình thường nếu thiếu hụt yếu tố đông máu, TT của mẫu trộn không điều chỉnh về bình thường trong trường hợp có chất ức chế.

II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp kết quả xét nghiệm đánh giá đường đông máu chung (Thrombin time) kéo dài.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 kỹ thuật viên; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bình cách thủy 37°C/máy đông máu bán tự động/máy đông máu tự động;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100µl, 1.000 µl;
- Thrombin pha loãng nồng độ thích hợp để tiến hành kỹ thuật thời gian thrombin.

3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán...

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch người bệnh và 2ml máu tĩnh mạch chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại);

- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;

- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu chứng và bệnh;

- Trộn huyết tương chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1;

- Tiến hành xét nghiệm TT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:

+ Mẫu huyết tương chứng;

+ Mẫu huyết tương bệnh;

+ Mẫu huyết tương hỗn hợp chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ TT hỗn hợp bệnh và chứng điều chỉnh về bình thường: kháng đông đường chung âm tính;

+ TT hỗn hợp bệnh và chứng không điều chỉnh: kháng đông đường chung dương tính;

- Ghi kết quả kháng đông đường chung dương tính hay âm tính vào giấy xét nghiệm;

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu huyết tương chứng không đảm bảo chất lượng;

- Mẫu huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không đảm bảo tỷ lệ.

- Các mẫu kiểm tra: huyết tương bệnh, chứng và huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không được tiến hành xét nghiệm TT cùng thời điểm, cùng lô hóa chất...

33. QUY TRÌNH KỸ THUẬT LẤY MÁU TOÀN PHẦN TỪ NGƯỜI HIẾN MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Lấy máu tĩnh mạch từ người trưởng thành, tình nguyện, đủ tiêu chuẩn sức khỏe để sử dụng trong điều trị.

II. CHỈ ĐỊNH

1. Đối với cơ sở y tế

1.1. Được thực hiện ở các trung tâm, các khoa truyền máu hoặc khoa xét nghiệm được giao nhiệm vụ lấy và cung cấp máu cho điều trị ở các bệnh viện.

1.2. Nhân viên y tế được đào tạo và thành thạo kỹ thuật.

1.3. Có đủ các nguyên vật liệu lấy và bảo quản máu.

2. Đối với người hiến máu

2.1. Được tư vấn, giải thích về nhu cầu, mục đích và các điều kiện sức khỏe để hiến máu.

2.2. Tình nguyện đăng ký hiến máu.

2.3. Đã được khám tuyển sức khỏe và đủ tiêu chuẩn hiến máu theo quy định hiện hành.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

1. Đối với cơ sở y tế

Không đạt các yêu cầu ở mục 2.1.

2. Đối với người hiến máu

Không đạt các yêu cầu ở mục 2.1.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ hoặc điều dưỡng dưới sự chỉ đạo của bác sĩ làm nhiệm vụ tư vấn sức khỏe và khám tuyển.

- Điều dưỡng làm nhiệm vụ tiếp nhận đăng ký hiến máu, lấy máu xét nghiệm, lấy máu vào túi đựng máu.

- Kỹ thuật viên xét nghiệm hoặc điều dưỡng thực hiện xét nghiệm trước hiến máu.

2. Phương tiện - hóa chất

- Bộ dụng cụ đo huyết áp.

- Bộ dụng cụ lấy máu:

+ Bông, gạc và dung dịch sát khuẩn (cồn ethanol 70⁰, cồn iốt 2% hoặc các dung dịch tương đương).

+ Kéo tù đầu, kẹp không máu.

+ Bơm tiêm lấy máu xét nghiệm 3ml, kim lấy máu cỡ 20 - 22G.

+ Dây ga-rô, băng dính vải.

+ Khay quả đậu.

+ Hộp đựng vật sắc nhọn.

+ Ống nghiệm đựng mẫu máu các loại.

- Bộ dụng cụ xét nghiệm:

+ Dung dịch sulphat đồng tỷ trọng 1.052 để sàng lọc người thiếu máu.

+ Sinh phẩm xét nghiệm nhanh sàng lọc người có virus viêm gan B.

- Bộ túi lấy máu toàn phần:

+ Bộ túi dero lấy máu toàn phần có sẵn dung dịch chống đông, có gắn kim lấy máu cỡ 16G.

- Thùng vận chuyển /bảo quản lạnh.

- Cân và máy lắc túi máu.

- Máy hàn dây máu.

- Kim vuốt dây máu.

- Hộp đựng vật sắc nhọn.

- Giường lấy máu.

3. Người hiến máu

Người hiến máu đủ tiêu chuẩn sức khỏe hiến máu theo quy định:

- Hướng dẫn người hiến máu điền vào Phiếu đăng ký hiến máu.

- Khám lâm sàng, tư vấn người hiến máu về mục đích, ý nghĩa của việc hiến

máu; quy trình hiến máu; những phản ứng không mong muốn có thể xảy ra; tư vấn về những bệnh lây qua đường truyền máu để người hiến máu tự sàng lọc nếu mình không có nguy cơ lây nhiễm mới tham gia hiến máu.

- Một số qui định cụ thể khám tuyển chọn người cho máu theo TT26/2013/TT-BYT hướng dẫn hoạt động truyền máu:

+ Tuổi: Nam: 18 – 60, Nữ: 18 – 55; không mắc các bệnh mạn tính hoặc cấp tính, tinh táo, mạch, nhiệt độ, huyết áp bình thường.

+ Cân nặng từ 45 kg trở lên đối với nam, từ 42kg trở lên đối với nữ.

+ Xét nghiệm công thức máu có Hb \geq 120 g/l.

+ Các xét nghiệm bắt buộc: Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D), sàng lọc kháng thể bất thường; HIV, HBV, HCV, giang mai, sốt rét (với những người đến từ vùng dịch tễ sốt rét)

4. Hồ sơ

- Mẫu đăng ký hiến máu, bảng hỏi về tình trạng sức khỏe người hiến máu.

- Mẫu khám lâm sàng, xét nghiệm.

- Mẫu nhãn túi máu, nhãn ống nghiệm.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Tiếp nhận đăng ký hiến máu.

2. Kiểm tra hồ sơ lưu về tiền sử sức khỏe và hiến máu (đối với người hiến máu nhắc lại).

3. Tư vấn, khám lâm sàng và ghi hồ sơ về tình trạng lâm sàng, cân nặng, mạch, huyết áp và các yêu cầu khác theo tiêu chuẩn. Người đăng ký hiến máu đáp ứng các tiêu chuẩn lâm sàng được hướng dẫn tiếp bước sau.

4. Lấy mẫu máu tĩnh mạch của người đăng ký hiến máu vào ống nghiệm có chống đông:

- Sát trùng da bằng cồn ethanol 70⁰.

- Dùng bơm kim tiêm lấy 2-3ml máu tĩnh mạch, trộn đều với chất chống đông.

- Nhỏ 1 giọt máu vào cốc đựng dung dịch sulphat đồng. Theo dõi sự chìm, nổi của giọt máu. Kết luận huyết sắc tố đạt bằng và lớn hơn 120g/l khi giọt máu chìm; Khi giọt máu nổi cho biết huyết sắc tố dưới 120g/l.

- Ly tâm 1.000-3.000 vòng /phút.
- Nhúng que thử nhanh viêm gan B vào phần huyết tương trong. Đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Người đăng ký hiến máu có huyết sắc tố bằng hoặc lớn hơn 120g/l và xét nghiệm nhanh viêm gan B cho kết quả âm tính.

5. Lấy máu

Chuẩn bị túi lấy máu và ống nghiệm đựng mẫu máu.

- Kiểm tra túi lấy máu: về thể tích máu cần lấy, hạn sử dụng túi máu, màu sắc túi và dung dịch chống đông, biểu hiện rách, thủng, sự nguyên vẹn của túi, các ống dây, nắp đậy kim lấy máu.

- Tính thể tích máu lấy theo cân nặng theo công thức 1ml máu toàn phần tương đương 1,052 g (không tính túi máu và lượng dung dịch chống đông).

250ml máu toàn phần tương đương với 265g.

350ml máu toàn phần tương đương với 370g.

450ml máu toàn phần tương đương với 475g.

- Chuẩn bị 1 ống nghiệm có chống đông khô và 1 ống nghiệm không chống đông.

- Dán nhãn mã hóa định danh túi máu và hai ống nghiệm.

6. Tiếp nhận người hiến máu có hồ sơ khám tuyển chọn đạt tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm. Đối chiếu thông tin hành chính trong hồ sơ với người hiến máu. Dán nhãn hồ sơ hiến máu với mã hóa tương tự nhãn mã hóa túi máu và ống nghiệm.

7. Chọn và sát trùng da nơi lấy máu:

- Bộc lộ vùng khuỷu tay cách nếp khuỷu tay 5-7cm.

- Lựa chọn vị trí để chọc tĩnh mạch.

- Sát trùng da bằng cồn iốt 2% từ vị trí dự kiến chọc kim theo đường tròn đồng tâm từ trong ra ngoài đường kính khoảng 4cm. Để yên 10 giây.

- Sát trùng tiếp bằng cồn ethanol 70⁰ theo cách tương tự như trên. Để khô trong 20-30 giây.

8. Tạo một vòng thắt lỏng trên dây lấy máu cách khoảng 10cm từ kim lấy máu.

9. Dùng kẹp không máu kẹp dây lấy máu.

10. Đặt túi máu lên cân hoặc máy lắc túi máu thấp hơn tay và thân người hiến máu.
11. Ga-rô phần cánh tay cách nếp khuỷu 3-5cm.
12. Tháo nắp đậy kim, chọc tĩnh mạch. Khi đầu kim nằm trong tĩnh mạch, tháo kẹp để máu chảy vào túi máu. Cố định dây và kim lấy máu bằng băng dính.
13. Lắc trộn đều máu với chất chống đông bằng máy lắc túi máu.
14. Theo dõi thể tích máu thu được theo dự kiến.
15. Khi đủ thể tích máu, thắt dây, dùng kẹp vuốt ngược dây máu về phía tay người hiến máu khoảng 2cm, hàn dây máu.
16. Cắt dây ở khoảng giữa nút thắt dây và vị trí kẹp.
17. Mở kẹp lấy mẫu máu vào 2 ống nghiệm đã chuẩn bị, mỗi ống khoảng 4ml máu.
18. Rút kim khỏi tĩnh mạch, dùng bông khô ép cầm máu ở vị trí rút kim, thay băng liền gạc dính vô trùng vết chọc tĩnh mạch.

19. Bảo quản túi máu, hoàn thiện đơn vị máu.

20. Thu dọn dụng cụ sau khi lấy máu

- Tắt công tắc điện máy lắc, máy hàn.
- Kim dùng một lần bỏ vào thùng đựng vật sắc nhọn.
- Bông gạc bỏ vào thùng đựng rác y tế.

21. Hoàn thiện hồ sơ ghi chép

- Lưu: Họ tên tuổi người hiến máu, ngày giờ lấy máu, số lượng máu, các kết quả xét nghiệm vào sổ đăng ký cho máu, sổ trữ máu các nhóm phù hợp. Ghi mã số trên dây túi máu, lấy 1 đoạn dây lưu trữ bảo quản ở tủ - 35°C.

- Viết phiếu bồi dưỡng cho người hiến máu.

VI. THEO DÕI

Trong suốt quá trình lấy máu, luôn chú ý theo dõi:

- Tình trạng dòng chảy vào túi máu và thể tích túi máu.

- Trao đổi với người hiến máu nhằm phát hiện sớm các bất thường xảy ra ở người hiến máu, giám sát tình trạng sức khỏe người hiến máu.

VII. XỬ TRÍ TAI BIẾN

1. Ở người hiến máu có thể xuất hiện một hoặc nhiều dấu hiệu như hoa mắt, chóng mặt, cảm thấy yếu mệt, lo lắng, thở nhanh, da xanh tái, vã mồ hôi lạnh, buồn nôn, nôn, thoáng ngất, ngất, đái ỉa không tự chủ, khám lâm sàng có huyết áp hạ, mạch chậm (dấu hiệu giúp phân biệt với sốc giảm thể tích máu): đây là các biểu hiện, mức độ tai biến có nguồn gốc tâm lý - thần kinh khi lấy máu, thậm chí mới chỉ nhìn thấy máu của người khác. Có thể ra ở một vài người riêng lẻ hoặc xảy ra hàng loạt trên nhiều người hiến máu.

Xử trí: tùy theo triệu chứng, mức độ tai biến, có thể áp dụng một hoặc nhiều biện pháp sau:

- Tháo ga rô, rút kim.
- Chuyển người hiến máu tới vị trí riêng biệt để tiện chăm sóc, thông báo cho bác sĩ, nếu tình trạng bất thường không giảm bớt hoặc xấu đi.
- Chườm lạnh vùng trán, gáy.
- Hạ thấp đầu, nâng cao chân.
- Hướng dẫn người hiến máu thở chậm.
- Để nghiêng đầu nếu nôn tránh hít phải chất nôn.
- Cho uống nhiều nước ấm, có đường.

2. Khi có co cứng, co giật cơ ở người có biểu hiện thở nhanh, tetani do tăng thông khí trao đổi, trò chuyện tránh để người hiến máu quá chú ý vào việc lấy máu, hướng dẫn người hiến máu thở chậm.

3. Tụ máu trong và sau khi chọc tĩnh mạch.

- Bỏ ga-rô, rút kim.
- Băng ép với lớp bông gạc dày ở nơi tụ máu.
- Nâng cao tay.
- Chườm lạnh, nếu cần.

4. Chọc vào động mạch: khi có dấu hiệu như máu màu sắc đỏ tươi, dòng chảy mạnh và thay đổi cường độ theo tần số mạch, có tụ máu, cần.

- Rút ngay kim lấy máu.
- Ấn mạnh liên tục khoảng 10 phút bằng tay vào vị trí chọc kim. Sau đó băng ép với lớp bông gạc dày ở nơi tụ máu.
- Kiểm tra mạch quay cổ tay, nếu mạch yếu hoặc không bắt được, cần gọi bác sĩ đánh giá tình trạng và xử trí tiếp.

5. Co giật, động kinh

- Tránh để thương tích người hiến máu và phòng tránh cho bản thân nhân viên y tế.
- Duy trì đường thở thông thoáng, tránh cắn lưỡi bằng dụng cụ.
- Cần bóp tim ngoài lồng ngực, hô hấp nhân tạo nếu ngừng tim, ngừng hô hấp.
- Thở oxy qua bóp bóng.
- Chuyển đến cơ sở y tế chuyên khoa gần nhất.

VIII. LƯU Ý CHĂM SÓC NGƯỜI HIẾN MÁU

1. Người hiến máu nên ăn nhẹ trước hiến máu.
2. Băng ép hoặc yêu cầu người hiến máu ấn nhẹ ngón tay qua bông gạc vào vị trí rút kim chọc tĩnh mạch trong tối thiểu 10-15 phút.
3. Với sự giám sát của nhân viên y tế:
 - Yêu cầu người hiến máu nằm thêm trên giường lấy máu tối thiểu khoảng 4-5 phút.
 - Cho phép người hiến máu ngồi thẳng người và đi lại.
4. Dặn người hiến máu
 - Ăn bồi dưỡng nhẹ và uống nhiều nước ngay sau hiến máu. Tăng lượng nước uống trong vài ngày sau đó.
 - Không uống rượu, hút thuốc cho đến khi đã ăn uống sau hiến máu.
 - Ngồi hoặc nằm khi cảm thấy chóng mặt.
 - Thông báo cho nhân viên y tế khi cảm thấy điều bất thường kéo dài.
 - Chỉ tiếp tục các công việc thường ngày nếu cảm thấy khỏe mạnh.
 - Tháo băng tại vị trí chọc tĩnh mạch sau khoảng 4 giờ sau hiến máu.
5. Nhân viên y tế cần được đào tạo và thành thạo việc.

- Thay băng dính vô khuẩn vị trí chọc kim khi chắc chắn đã cầm chảy máu.
- Cư xử chu đáo, cảm ơn và khuyến khích người hiến máu quay lại hiến máu lần sau.
- Phát hiện các dấu hiệu không mong muốn như da xanh tái, tri giác kém linh hoạt, lo lắng, thở nhanh...
- Tư vấn, giải thích, trả lời thắc mắc của người hiến máu, đánh giá tình trạng sức khỏe an toàn cho phép người hiến máu ra về,...
- Ghi hồ sơ các phản ứng xảy ra ở người hiến máu và các xử trí nếu có./.

34. QUY TRÌNH BẢO QUẢN TÚI MÁU TOÀN PHẦN

Máu toàn phần là toàn bộ thể tích máu thu thập được từ người **hiến máu**.

Chỉ những người trưởng thành khỏe mạnh và đáp ứng đủ các điều kiện theo quy định, không thuộc các trường hợp phải trì hoãn hiến máu mới được tham gia hiến máu.

Như vậy, nhìn chung, sau khi được thu thập từ người hiến máu và thực hiện một số xét nghiệm cần thiết, nếu đạt yêu cầu, các đơn vị máu toàn phần sẽ được truyền trực tiếp cho người bệnh mà không qua thêm các bước xử lý nào (Trừ một số đơn vị có thể tách từng phần khối hồng cầu, tiểu cầu... để thực hiện truyền theo chỉ định cho người bệnh).

I. MỤC ĐÍCH

Bảo quản tốt nhất chất lượng máu sau khi lấy vào túi dèo.

II. CHỈ ĐỊNH

Cho tất cả các túi máu toàn phần sau khi đã được lấy vào túi dèo.

III. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ, KTV xét nghiệm.

2. Dụng cụ

Tủ lạnh nhiệt độ điều chỉnh tốt.

3. Điều kiện bảo quản và hạn sử dụng

Túi máu toàn phần lấy xong đảm bảo an toàn và vô khuẩn, ghi đầy đủ các thông tin cần thiết theo quy định cho vào tủ lạnh với nhiệt độ từ 2 °C đến 6 °C, hạn dùng của máu toàn phần không quá 21 ngày với dung dịch chống đông Citrat – Phosphat – Dextrose và không quá 35 ngày với dung dịch Citrat – Phosphat – Dextrose – Adenin.

Khi bảo quản túi máu toàn phần ở nhiệt độ 20 °C đến 24 °C, hạn dùng của máu toàn phần không quá 24 giờ.

4. Xuất túi máu về khoa lâm sàng

Sau khi đã làm các xét nghiệm cơ bản giữa máu người cho và máu người nhận đảm bảo.

Khoa lâm sàng gửi phiếu lĩnh túi máu (Ký duyệt đầy đủ) đến Khoa Xét nghiệm – CĐHA.

Khoa Xét nghiệm – CĐHA phát túi máu đảm bảo vô khuẩn.

Ghi chú: Các khoa lâm sàng thực hiện kỹ thuật truyền máu cơ bản, định nhóm máu trước đầu giường và đảm bảo truyền nhanh trước 30 phút lĩnh máu về khoa và thời gian truyền trong vòng 4 giờ. Theo dõi toàn trạng người bệnh có vấn đề gì bất thường để xử trí theo y lệnh.

IV. GHI HỒ SƠ

Khoa Xét nghiệm-CĐHA ghi đầy đủ vào sổ theo dõi, bảo quản túi máu trong tủ lạnh, thời gian giao nhận, người giao, người nhận của các khoa...

Các khoa ghi đầy đủ diễn biến quá trình chăm sóc, phiếu truyền máu theo quy định./.

35. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO

(Kỹ thuật ống nghiệm)

I. NGUYÊN LÝ

Hệ nhóm máu ABO là hệ nhóm máu quan trọng nhất trong thực hành truyền máu và đã được phát hiện năm 1901 bởi nhà bác học Karl Landsteiner.

Các nhóm máu của hệ ABO được xác định dựa vào sự có mặt hoặc không có mặt của kháng nguyên A và kháng nguyên B trên bề mặt hồng cầu và sự có mặt hoặc không có mặt của kháng thể A, kháng thể B trong huyết thanh.

Định nhóm máu hệ ABO là xác định tên của các nhóm máu của hệ ABO là: Nhóm máu A, nhóm máu B, nhóm máu AB, nhóm máu O. Phải xác định nhóm máu hệ ABO bằng hai phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu.

Nguyên lý của kỹ thuật định nhóm máu hệ ABO được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết.

II. CHỈ ĐỊNH

Nhóm máu hệ ABO được xác định trong những trường hợp sau:

- Định nhóm máu cho bệnh nhân khi vào viện, khi người bệnh cần truyền máu và định nhóm máu cho người bệnh tại giường bệnh ngay trước khi truyền máu.

- Định nhóm máu cho người hiến máu trước khi được tiếp nhận máu, định nhóm máu cho các đơn vị máu và chế phẩm khi phát máu và định nhóm máu cho đơn vị máu, chế phẩm tại giường bệnh ngay trước khi truyền máu.

- Định nhóm máu cho người khỏe mạnh.

- Định nhóm máu trong các nghiên cứu về hằng số và nghiên cứu về nhân chủng học.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân kỹ thuật, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

2. Phương tiện - hóa chất

- Trang thiết bị.

Máy ly tâm loại thông thường; Kính hiển vi; Bình cách thủy; Tủ lạnh.

- Dụng cụ:

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cắm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500ml; Bút marker; Pipet nhựa.

- Thuốc thử và hóa chất:

Huyết thanh mẫu: Anti A, Anti B, Anti AB; Hồng cầu mẫu A, B; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

- Mẫu bệnh phẩm:

Gồm 2 ống máu của người bệnh:

+ Ống máu chống đông bằng EDTA: 2ml.

+ Ống máu không chống đông: 5ml.

+ Vật tư tiêu hao:

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

3. Thời gian làm xét nghiệm

30 phút.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất, sinh phẩm trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu định nhóm máu của người bệnh. Kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm.

3. Chuẩn bị hồng cầu người bệnh 5% trong môi trường nước muối sinh lý 0,9% (1 giọt hồng cầu khối của người bệnh + 19 giọt NaCl 0,9%) và ly tâm ống máu không chống đông để tách huyết thanh.

4. Chuẩn bị 2 bộ, mỗi bộ 6 ống nghiệm sạch, khô. Trên mỗi ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn thứ tự anti -A; anti B; anti AB; Hồng cầu mẫu A; Hồng cầu mẫu B; Hồng cầu mẫu O, đồng thời ghi đầy đủ thông tin của người bệnh cần định nhóm lên ống nghiệm.

5. Định nhóm máu hệ ABO lần 1 bằng 2 phương pháp: huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu.

6. Định nhóm máu hệ ABO lần 2 bằng 2 phương pháp: huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Đối chiếu kết quả giữa hai lần định nhóm

Nếu kết quả phù hợp: đóng dấu nhóm máu A, hoặc B, hoặc AB, hoặc O vào phiếu xét nghiệm.

- Nếu kết quả không phù hợp: kiểm tra lại toàn bộ các bước trên và lặp lại xét nghiệm.

2. Ghi ngày tháng làm xét nghiệm, bác sĩ hoặc cử nhân hoặc kỹ thuật viên hoặc điều dưỡng trung học làm trực tiếp ký nháy vào phiếu xét nghiệm.

3. Ghi kết quả vào sổ lưu kết quả định nhóm máu.

4. Trưởng khoa xét nghiệm ký giấy xét nghiệm để trả kết quả cho người bệnh./.

36. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh (D)

(Kỹ thuật ống nghiệm)

I. NGUYÊN LÝ

Hệ nhóm máu Rh là hệ nhóm máu quan trọng thứ hai trong thực hành truyền máu và đã được phát hiện năm 1940 bởi nhà bác học Kahl Landsteiner và Wiener.

Kháng nguyên nhóm máu hệ Rh rất phong phú với khoảng 50 kháng nguyên khác nhau, tuy nhiên có 5 kháng nguyên chính là D, C, c, E, e. Kháng nguyên D là quan trọng nhất. Người mang kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu được gọi là người có nhóm máu Rh (D) dương, người không mang kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu được gọi là người có nhóm máu Rh (D) âm.

Nhóm máu hệ Rh (D) được xác định dựa vào sự có mặt hoặc không có mặt kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu.

Nguyên lý của kỹ thuật định nhóm máu hệ Rh (D) được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết.

II. CHỈ ĐỊNH

Nhóm máu hệ ABO được xác định trong những trường hợp sau:

- Định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh.
- Định nhóm máu hệ Rh(D) cho người hiến máu.
- Định nhóm máu hệ Rh (D) cho các nghiên cứu về hằng số và nhân chủng học.
- Định nhóm máu hệ Rh (D) để xây dựng panel hồng cầu và xây dựng ngân hàng người hiến máu có nhóm máu hiếm.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

2. Phương tiện - hóa chất

- Trang thiết bị: máy ly tâm loại thông thường; Kính hiển vi; Bình cách thủy; Tủ lạnh.

- Dụng cụ: ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500ml; Bút marker; Pipet nhựa.

- Thuốc thử và hóa chất: huyết thanh mẫu: Anti - A, Anti - B, Anti AB; Hồng cầu mẫu A, B; Nước muối sinh lý 0.9%; Nước cất.

- Mẫu bệnh phẩm: gồm 2 ống máu của người bệnh:

+ Ống máu chống đông bằng EDTA: 2ml.

+ Ống máu không chống đông: 5ml.

- Vật tư tiêu hao

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

3. Thời gian làm xét nghiệm

30 phút.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất, sinh phẩm trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu định nhóm máu Rh (D) của người bệnh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm.

3. Chuẩn bị hồng cầu người bệnh 5% trong môi trường nước muối sinh lý 0,9% (1giọt hồng cầu khối của người bệnh + 19 giọt NaCl 0,9%).

4. Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô ghi nhãn anti -D và ghi đầy đủ thông tin của người bệnh lên ống nghiệm.

5. Tiến hành định nhóm máu Rh (D): Nhỏ 1 giọt thuốc thử anti -D vào ống nghiệm đã chuẩn bị ở trên; Thêm 1 giọt hồng cầu 5% của người bệnh vào ống nghiệm trên; Trộn đều, ly tâm 1.000 vòng /phút x 20 giây.

6. Đọc kết quả và ghi lại mức độ ngưng kết.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nếu phản ứng ngưng kết, kết luận có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu, đóng dấu kết quả: nhóm máu Rh (D) dương.

- Nếu phản ứng không ngưng kết, kết luận không có kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu, đóng dấu kết quả: nhóm máu Rh (D) âm.

- Ghi ngày tháng làm xét nghiệm, bác sĩ hoặc kỹ thuật viên hoặc điều dưỡng làm trực tiếp ký nháy vào phiếu xét nghiệm.
- Ghi kết quả vào sổ lưu kết quả định nhóm máu.
- Trưởng khoa xét nghiệm ký giấy xét nghiệm để trả kết quả cho người bệnh./.

37. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO (Kỹ thuật phiên đá)

I. NGUYÊN LÝ

- Phương pháp huyết thanh mẫu: Dùng huyết thanh đã biết trước kháng thể, cho phản ứng với hồng cầu của bệnh nhân để xác định kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu, từ đó xác định nhóm máu của bệnh nhân.

- Phương pháp hồng cầu mẫu: Dùng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên cho phản ứng với huyết thanh của bệnh nhân để xác định kháng thể trong huyết thanh, từ đó xác định nhóm máu của bệnh nhân.

II. CHỈ ĐỊNH

Nhóm máu hệ ABO được xác định trong những trường hợp sau:

- Định nhóm máu cho bệnh nhân khi vào viện, khi người bệnh cần truyền máu và định nhóm máu cho người bệnh tại giường bệnh ngay trước khi truyền máu.

- Định nhóm máu cho người hiến máu trước khi được tiếp nhận máu, định nhóm máu cho các đơn vị máu và chế phẩm khi phát máu và định nhóm máu cho đơn vị máu, chế phẩm tại giường bệnh ngay trước khi truyền máu.

- Định nhóm máu cho người khỏe mạnh.

- Định nhóm máu trong các nghiên cứu về hăng số và nghiên cứu về nhân chủng học.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân kỹ thuật, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

2. Phương tiện - hóa chất

- Máy ly tâm.

- Tủ lạnh.

- Gạch men trắng.
- Pipet
- Lam kính.
- Kính hiển vi.
- Huyết thanh mẫu: Anti A, anti B, anti AB.
- Hồng cầu mẫu: Hồng cầu mẫu A, B.
- Nước muối 0,9 %.
- Mẫu bệnh phẩm.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Phương pháp huyết thanh mẫu

- Nhỏ vào 3 vị trí khác nhau mỗi vị trí 1 giọt anti A, B, AB.
- Thêm vào mỗi vị trí 1 giọt hồng cầu cần định nhóm (5% trong nước muối 0,9%).
- Trộn đều huyết thanh mẫu với hồng cầu của bệnh nhân cần định nhóm bằng một lam kính thành một vòng tròn có đường kính 2-3 cm. Lắc nhẹ liên tục trong vòng 1 phút rồi đọc kết quả.

2. Phương pháp hồng cầu mẫu

- Nhỏ vào 2 vị trí khác nhau mỗi vị trí 2 giọt huyết thanh của bệnh nhân cần định nhóm.
- Thêm 1 giọt hồng cầu mẫu A, B 5% vào 2 vị trí.
- Trộn đều huyết thanh của bệnh nhân với hồng cầu mẫu bằng lam kính thành một vòng tròn có đường kính 2-3 cm. Lắc nhẹ liên tục trong vòng 1 phút rồi đọc kết quả.
- Nhóm máu được xác định khi có sự tương đồng cả 2 phương pháp huyết thanh mẫu và hồng cầu mẫu.

3. Diễn giải và báo cáo kết quả

Nhóm máu được xác định	Huyết thanh mẫu + hồng cầu cần định nhóm			Hồng cầu mẫu + huyết thanh cần định nhóm	
	Chống A	Chống B	Chống AB	Hồng cầu A	Hồng cầu B
A	+	(-)	+	(-)	+

B	(-)	+	+	+	(-)
AB	+	+	+	(-)	(-)
O	(-)	(-)	(-)	+	+

- Lưu ý

Nguyên nhân sai lầm trong định nhóm máu hệ ABO:

+ Huyết thanh mẫu, hồng cầu mẫu hỏng, biến chất, nhiễm trùng, quá hạn sử dụng.

+ Mẫu máu cần định nhóm bị nhiễm trùng, Mẫu máu định nhóm không lấy đúng quy cách.

+ Dụng cụ bẩn.

+ Tay nghề và trình độ của người làm kỹ thuật.

- Ghi ngày tháng làm xét nghiệm, bác sĩ hoặc cử nhân hoặc kỹ thuật viên hoặc điều dưỡng trung học làm trực tiếp ký nháy vào phiếu xét nghiệm.

- Ghi kết quả vào sổ lưu kết quả định nhóm máu.

- Trưởng khoa xét nghiệm ký giấy xét nghiệm để trả kết quả cho người bệnh./.

38. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh (D) *(Kỹ thuật phiên đá)*

I. NGUYÊN LÝ

Hệ nhóm máu Rh là hệ nhóm máu quan trọng thứ hai trong thực hành truyền máu và đã được phát hiện năm 1940 bởi nhà bác học Kahl Landsteiner và Wiener.

Kháng nguyên nhóm máu hệ Rh rất phong phú với khoảng 50 kháng nguyên khác nhau, tuy nhiên có 5 kháng nguyên chính là D, C, c, E, e. Kháng nguyên D là quan trọng nhất. Người mang kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu được gọi là người có nhóm máu Rh (D) dương, người không mang kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu được gọi là người có nhóm máu Rh (D) âm.

Nhóm máu hệ Rh (D) được xác định dựa vào sự có mặt hoặc không có mặt kháng nguyên D trên bề mặt hồng cầu.

Nguyên lý của kỹ thuật định nhóm máu hệ Rh (D) được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết.

II. CHỈ ĐỊNH

Nhóm máu hệ ABO được xác định trong những trường hợp sau:

- Định nhóm máu hệ Rh(D) cho người bệnh.
- Định nhóm máu hệ Rh(D) cho người hiến máu.
- Định nhóm máu hệ Rh (D) cho các nghiên cứu về hăng số và nhân chủng học.
- Định nhóm máu hệ Rh (D) để xây dựng panel hồng cầu và xây dựng ngân hàng người hiến máu có nhóm máu hiếm.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy ly tâm.
- Tủ lạnh.
- Gạch men trắng.
- Pipet.

- Lam kính.
- Kính hiển vi.
- Huyết thanh mẫu: Anti D
- Nước muối 0,9 %.
- Mẫu bệnh phẩm.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất, sinh phẩm trước khi tiến hành xét nghiệm.
2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu định nhóm máu Rh (D) của người bệnh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm.
3. Nhỏ lên đá men 1 giọt anti D.
4. Thêm vào mỗi vị trí 1 giọt hồng cầu cần định nhóm (10% được pha trong nước muối 0,9%)
5. Trộn đều huyết thanh mẫu với hồng cầu của bệnh nhân cần định nhóm bằng một lam kính thành một vòng tròn có đường kính 2-3 cm. Lắc nhẹ liên tục trong vòng 2 phút rồi đọc kết quả.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Hồng cầu bệnh nhân ngưng kết với huyết thanh mẫu: Rh(+)
- Hồng cầu bệnh nhân không ngưng kết với huyết thanh mẫu: Rh(-)
- Ghi ngày tháng làm xét nghiệm, bác sĩ hoặc kỹ thuật viên hoặc điều dưỡng làm trực tiếp ký nháy vào phiếu xét nghiệm.
- Ghi kết quả vào sổ lưu kết quả định nhóm máu.
- Trưởng khoa xét nghiệm ký giấy xét nghiệm để trả kết quả cho người bệnh./.

Lưu ý: Nguyên nhân sai lầm trong định nhóm máu hệ Rh

- + Huyết thanh mẫu, hồng cầu mẫu hỏng, biến chất, nhiễm trùng, quá hạn sử dụng.
- + Mẫu máu cần định nhóm bị nhiễm trùng, Mẫu máu định nhóm không lấy đúng quy cách.
- + Dụng cụ bẩn.
- + Tay nghề và trình độ của người làm kỹ thuật.

39. QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHẢN ỨNG HOÀ HỢP ĐẦY ĐỦ

I. NGUYÊN LÝ

Là phản ứng ngưng kết, để tìm sự hoà hợp về nhóm máu hệ hồng cầu ABO và các hệ nhóm máu hồng cầu khác giữa người cho và người nhận.

Xét nghiệm này góp phần đảm bảo an toàn về miễn dịch cho người bệnh khi được truyền máu, thực hiện truyền máu có hiệu lực.

II. CHỈ ĐỊNH

Khi truyền máu, chế phẩm máu.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ Khoa xét nghiệm – CDHA.
- KTV Khoa xét nghiệm – CDHA.

2. Bệnh phẩm

Máu bệnh nhân: 2ml máu lấy vào ống không chứa chất chống đông + 1ml vào ống chứa chất chống đông EDTA.

3. Phương tiện, hóa chất

*** Phương tiện:**

- Máy ly tâm ống thẳng.
- Tủ lạnh bảo quản thuốc thử huyết thành mẫu, hồng cầu mẫu và mẫu máu, huyết thanh Coombs.
- Kính hiển vi.
- Gạch men trắng.
- Bình cách thủy 37°C (hoặc tủ ấm hoặc bình giữ nhiệt).
- Bình đựng nước muối.
- Nhiệt kế.
- Pipett Paster hoặc pipett man, đầu côn.
- Ống nghiệm để định nhóm (50 x 7mm) nhựa hoặc thủy tinh.
- Giá đựng ống nghiệm để tiến hành kỹ thuật.

- Lam kính.
- Bút chì kính, bút dạ.
- Bông thấm.
- Cốc mỏ thuỷ tinh.
- Que thuỷ tinh.
- Găng tay.

*** Thuốc thử**

- Anti D, anti A, anti B, anti AB.
- Huyết thanh Coombs.
- Nước muối 9 %.
- Hồng cầu mẫu.
- Hồng cầu chứng.

4. Phiếu xét nghiệm

Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

* Đánh dấu ống 1 và ống 2:

- + Ống 1: Huyết thanh người bệnh + Hồng cầu người cho 5%.
- + Ống 2: Hồng cầu bệnh nhân 5% + Huyết thanh người cho.

* Yêu cầu kỹ thuật:

- + Truyền máu toàn phần: Làm chéo cả 2 ống.
- + Truyền khối hồng cầu: Làm chéo ống 1.
- + Truyền huyết tương, khối tiểu cầu: Làm chéo ống 2.

* Kỹ thuật làm chéo ống 1 đầy đủ như sau:

Bước 1: Định lại nhóm máu của bệnh nhân và người cho.

Bước 2: Nhỏ 3 giọt huyết thanh bệnh nhân.

Bước 3: Thêm 1 giọt hồng cầu của người cho 5%.

Bước 4: Trộn đều.

Bước 5: Ly tâm 1000 vòng/phút trong 15 - 30 giây.

Bước 6: Đọc và ghi lại kết quả.

Bước 7: Ủ tiếp ở 37°C trong 30 phút.

Bước 8: Ly tâm 1000 vòng/phút trong 15 - 30 giây.

Bước 9: Đọc, ghi kết quả.

Bước 10: Rửa hồng cầu 3 lần bằng nước muối 0.9%.

Bước 10: Thêm 2 giọt kháng globulin.

Bước 11: Ly tâm 1000 vòng/phút trong 15 - 30 giây.

Bước 12: Đọc và ghi kết quả.

Bước 13: Nếu kết quả âm tính thêm 1 giọt hồng cầu chứng.

Bước 14: Ly tâm 1000 vòng/phút trong 15 - 30 giây.

Bước 15: Đọc, ghi lại kết quả.

+ Kết quả phải dương tính.

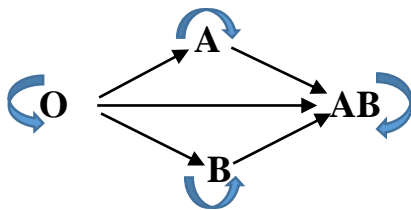
+ Nếu kết quả âm tính phải làm lại thử nghiệm.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

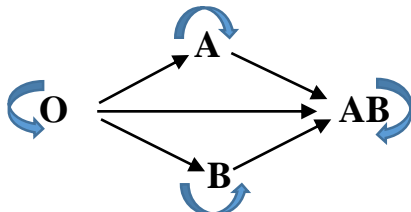
- Nếu kết quả một trong những điều kiện, nhiệt độ của phản ứng hoà hợp đầy đủ trên dương tính (ngưng kết) phải tiến hành chọn máu cho bệnh nhân.

- Nếu kết quả phản ứng hoà hợp đầy đủ ở các điều kiện, nhiệt độ trên đều âm tính (không ngưng kết), máu người cho hoà hợp với máu của bệnh nhân. Túi máu được phát để truyền cho bệnh nhân.

VII. SƠ ĐỒ TRUYỀN MÁU



Sơ đồ 1: Truyền máu an toàn (Cổ điển).



Sơ đồ 2: Truyền hòa hợp (theo hệ ABO) các chế phẩm hồng cầu.

Lưu ý: Tốt nhất là truyền máu cùng nhóm.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Hồng cầu bệnh nhân tự ngưng kết do vậy phải rửa bằng nước muối ấm 37°C.

40. QUY TRÌNH THỰC HIỆN TRUYỀN MÁU CẤP CỨU TẠI TRUNG TÂM Y TẾ SÌN HỒ

I. TRƯỚC KHI TRUYỀN MÁU

1. Chuẩn bị người bệnh

a) Nhiệm vụ của bác sĩ

- Có chỉ định truyền máu: Trong điều kiện tại Trung tâm Y tế huyện Sìn Hồ chỉ định truyền máu: **chỉ áp dụng với các trường hợp cấp cứu cần gấp số lượng máu để cứu sống bệnh nhân trong điều kiện không hoặc chưa đủ khả năng để chuyển lên tuyến trên điều trị tiếp.**

- Lấy ý kiến chấp thuận của người bệnh: Trước khi truyền máu, người bệnh

và người nhà người bệnh phải được thông báo về chỉ định truyền máu, các nguy cơ có thể gặp phải. Trong trường hợp phẫu thuật cần truyền máu, cũng cần có sự chấp thuận của người bệnh và cần ghi chung vào giấy cam đoan chấp nhận phẫu thuật, thủ thuật và gây mê hồi sức (*Có phụ lục I kèm theo*). Người bệnh hoặc người nhà người bệnh phải xác nhận và ký vào bệnh án nếu từ chối việc truyền máu, chế phẩm máu.

- Ghi chỉ định truyền máu: Nhóm máu, chế phẩm máu (**Lưu ý: Tại Trung tâm Y tế huyện Sìn Hồ hiện tại chỉ sử dụng chế phẩm máu là máu toàn phần từ ngân hàng máu sống**), số đơn vị máu cần truyền, các thuốc dùng trước khi truyền máu, lý do cần truyền máu.

- Ghi chỉ định thực hiện các xét nghiệm:

+ Định nhóm máu hệ ABO.

+ Định nhóm máu hệ Rh (D).

+ Phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22⁰C.

+ Test nhanh virus HIV, viêm gan B, viêm gan C, giang mai, rôt rét (được thu theo quy định hiện hành).

+ Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu.

- Điền và ký vào “*Phiếu cung cấp máu và thành phần máu*”.

b) Nhiệm vụ của điều dưỡng

- Kiểm tra hồ sơ bệnh án xem bác sĩ có ra chỉ định:

+ Truyền máu.

- + Định nhóm máu hệ ABO, Rh (D).
- + Phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22⁰C.
- + Test nhanh virus HIV, viêm gan B, viêm gan C, giang mai, rôt rét (được thu theo quy định hiện hành).
- + Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu
 - Đánh máy và in phiếu chỉ định theo y lệnh bác sỹ (*Phiếu chỉ định này sẽ chuyển cho Khoa XN-CDHA*).
- + Định nhóm máu hệ ABO (*Kỹ thuật phiên đá*).
- + Định nhóm máu hệ Rh (D) (*Kỹ thuật phiên đá*).
- + Định nhóm máu hệ ABO bằng giấy định nhóm máu để truyền máu toàn phần, phản ứng hòa hợp trong môi trường nước muối ở 22⁰C (*Cứ bắt đầu truyền một đơn vị máu hoặc chế phẩm máu thì phải tiến hành đánh 01 lần chỉ định bao gồm 02 dịch vụ kỹ thuật đó*).
- + Test nhanh virus HIV, viêm gan B, viêm gan C, giang mai, rôt rét (được thu theo quy định hiện hành).
 - Tiếp tục đánh máy và in phiếu chỉ định (*Phiếu chỉ định này được lưu tại khoa*): Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu [toàn phần] (*Giá dịch vụ và bảo hiểm y tế theo quy định hiện hành*). Nếu cùng một thời điểm, người bệnh được truyền nhiều đơn vị máu toàn phần thì từ đơn vị thứ hai trở đi cứ bắt đầu truyền 01 đơn vị phải tiến hành đánh 1 lần chỉ định dịch vụ kỹ thuật “*Định nhóm máu tại giường bệnh trước truyền máu [toàn phần]*”, (*Giá dịch vụ và bảo hiểm y tế theo quy định hiện hành*). Các phiếu chỉ định này sẽ đính kèm kết quả định nhóm máu tại giường bệnh do điều dưỡng khoa điều trị thực hiện và được lưu vào hồ sơ bệnh án.
 - Hoàn thành “*Phiếu cung cấp máu và thành phần máu*”.
 - Lấy mẫu máu tĩnh mạch của người bệnh có chỉ định truyền máu theo các yêu cầu sau:
 - + Khi lấy mẫu máu phải kiểm tra chỉ định truyền máu, tên, tuổi, mã số người bệnh, khoa, số giường điều trị đối chiếu với hồ sơ bệnh án.
 - + Mẫu máu của người bệnh phải lấy vào 2 ống nghiệm với thể tích từ 1 ml đến 2 ml máu có chống đông và 4 ml đến 5 ml máu không chống đông.
 - + Ghi thông tin trên nhãn ống nghiệm:
 - Họ và tên hoặc mã số của người bệnh.
 - Năm sinh của người bệnh.

– Số giường, khoa phòng điều trị.

- Liên hệ với Khoa Xét nghiệm-Chẩn đoán hình ảnh để xác định nhóm máu, và nhanh chóng liên hệ người hiến máu từ ngân hàng máu sống đến cơ sở y tế thực hiện quy trình hiến máu.

- Đảm bảo đường truyền tĩnh mạch cho người bệnh theo yêu cầu (*Khuyến cáo dùng loại 18G/20G*), lưu vein bằng dung dịch tinh thể đẳng trương trong thời gian chờ máu nếu không có chỉ định đặc biệt.

- Thực hiện y lệnh dùng thuốc trước khi truyền nếu có chỉ định.

2. Lĩnh máu

a. Điều dưỡng các khoa đi lĩnh máu cung cấp cho Kỹ thuật viên Khoa XN-CDHA

- Phiếu cung cấp máu và thành phần máu.

- 2 ống nghiệm chứa mẫu máu người bệnh.

- Giấy chỉ định các xét nghiệm về định nhóm máu ABO, Rh (D), phản ứng hòa hợp, các xét nghiệm test nhanh HIV, viêm gan b, viêm gan C, giang mai và sốt rét.

a) Kỹ thuật viên Khoa XN-CDHA khi tiếp nhận bệnh phẩm cần kiểm tra đầy đủ thông tin

- Phiếu cung cấp máu và thành phần máu.

- 2 ống nghiệm chứa mẫu máu người bệnh.

- Giấy chỉ định các xét nghiệm.

- Đối chiếu thông tin xem có trùng khớp không.

Sau khi kiểm tra đầy đủ, Kỹ thuật viên Khoa XN-CDHA ghi thời gian nhận bệnh phẩm vào sổ của khoa. Tiến hành định nhóm máu hệ ABO, Rh (D) của người bệnh và phản ứng hòa hợp, các xét nghiệm test nhanh HIV, viêm gan b, viêm gan C, giang mai và sốt rét.

Khi đã biết nhóm máu của người bệnh, nhân viên Khoa XN-CDHA báo Phòng Kế hoạch nghiệp vụ- điều dưỡng (*Trong giờ hành chính liên hệ đồng chí Hoàng Hồng Quân sđt: 0965097809*), Trục lãnh đạo (*Ngoài giờ hành chính*) để liên hệ nhanh với người hiến máu phù hợp với người nhận máu.

Khoa XN-CDHA tiếp nhận người hiến máu: Hướng dẫn người hiến máu điền đầy đủ thông tin vào phiếu đăng ký hiến máu, Bác sỹ Khoa Xét nghiệm-CDHA hoặc bác sỹ các khoa lâm sàng hỗ trợ (khi có yêu cầu) về khai thác thông tin và khám sàng lọc người hiến máu được quy định tại Điều 4 Thông tư

26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu của Bộ Y tế. (Có bảng khai thác thông tin theo Phụ lục II đính kèm).

Khi đã đủ điều kiện về sức khỏe của người hiến máu. Kỹ thuật viên ghi đầy đủ thông tin vào “*Phiếu dự trữ và lĩnh máu, chế phẩm máu ngoại viện*”, nhanh chóng thực hiện các xét nghiệm bắt buộc (Căn cứ Thông tư 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013 của Bộ Y tế về hướng dẫn hoạt động truyền máu và tình hình thực tế tại Trung tâm y tế huyện Sinh Hồ):

Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D) của người hiến, nếu kết quả phù hợp với người nhận máu thì tiếp tục sàng lọc kháng thể bất thường bằng test nhanh: HIV, HBV, HCV, giang mai, sốt rét (với những người đến từ vùng dịch tễ sốt rét), (*Giá dịch vụ đối với các test nhanh không nằm trong danh mục thanh toán của BHYT thực hiện thu theo quy định hiện hành*), sau khi các kết quả xét nghiệm trên phù hợp và an toàn sẽ tiến hành thực hiện “*quy trình lấy máu toàn phần từ người hiến máu*” (Theo quy trình số 33).

Khi đã có chế phẩm máu từ người hiến đảm bảo an toàn trong túi đeo vô trùng tiếp tục thực hiện các bước như sau:

- Định lại nhóm máu, túi máu.
- Thực hiện phản ứng hòa hợp, dán nhãn hòa hợp.
- Ghi chép các thông tin vào “*Phiếu cung cấp máu và thành phần máu*” và sổ kết quả.
- Kiểm tra lại các thông tin người bệnh trên nhãn của đơn vị máu; Phiếu cung cấp máu và thành phần máu; Sổ kết quả phản ứng hòa hợp và phiếu truyền máu.

Sau khi đã hoàn tất các bước trên, Kỹ thuật viên Khoa XN-CDHA báo khoa điều trị đến để lĩnh máu, chế phẩm máu (*Máu, chế phẩm máu chỉ được phát cho điều dưỡng không được phát cho hộ lý hay người nhà của người bệnh*). Yêu cầu điều dưỡng lĩnh máu ký vào sổ phát máu. Ghi rõ ngày giờ phát máu, chế phẩm máu.

- Điều dưỡng lĩnh máu tiếp nhận phiếu truyền máu, máu, chế phẩm máu (Cần kiểm tra bằng mắt thường máu, chế phẩm máu xem có bọt khí, màu sắc bất thường, vón cục...) để báo ngay cho nhân viên khoa xét nghiệm.

II. THỰC HIỆN TRUYỀN MÁU VÀ THEO DÕI TRUYỀN MÁU TẠI KHOA ĐIỀU TRỊ (Theo Quy trình số 41)

1. Bác sỹ điều trị và điều dưỡng phải thực hiện kiểm tra, đối chiếu, định nhóm máu, làm phản ứng chéo, theo dõi truyền máu, phát hiện, xử trí kịp thời các bất thường, tai biến không mong muốn xảy ra trong và sau truyền máu.

2. Thực hiện kiểm tra, đối chiếu các nội dung sau

- Đối chiếu thông tin của người bệnh, đơn vị máu và phiếu truyền máu.

- Kiểm tra hạn sử dụng và hình thức bên ngoài túi máu, phải kiểm tra tình trạng túi máu, chế phẩm máu (*Có màu sắc bất thường; Thủng, hở, nứt vỡ túi đựng máu; Có cục đông vẩn tủa; có nổi váng trên bề mặt...*). Nếu phát hiện túi máu không bảo đảm chất lượng thì phải hủy túi máu đó.

3. Thực hiện định nhóm máu hệ ABO của người bệnh, của túi máu ngay tại giường bệnh và đối chiếu với thông tin trên phiếu truyền máu.

Dán kết quả định nhóm máu tại giường trước truyền máu vào phiếu chỉ định và lưu vào bệnh án.

4. Thực hiện việc truyền máu, theo dõi diễn biến, phát hiện, xử trí các bất thường về tình trạng sức khỏe của người bệnh:

- Kiểm tra, theo dõi các chỉ số mạch, nhiệt độ, huyết áp, trạng thái tinh thần của người bệnh vào các thời điểm trước và trong quá trình truyền máu (*Mỗi 15 phút x 4 lần, sau đó mỗi 30 phút x 2 lần, sau đó 1 giờ 1 lần cho đến khi truyền xong*), đặc biệt lưu ý theo dõi trong 15 phút đầu truyền máu để phát hiện và xử trí kịp thời tai biến liên quan đến truyền máu. Nếu người bệnh có biểu hiện bất an như hốt hoảng, rùng mình ớn lạnh, hoặc có biến đổi đột ngột các dấu hiệu sinh tồn (huyết áp, mạch, nhịp thở...) thì cần ngừng truyền máu ngay (khóa đường truyền và giữ nguyên), theo dõi chặt trạng thái người bệnh và nếu cần thì kiểm tra túi máu (phù hợp nhóm máu ABO và Rh (D), chất lượng túi máu...).

- Phải sử dụng bộ dây truyền máu có bầu lọc để truyền cho người bệnh;

- Ghi đầy đủ các chỉ số mạch, nhiệt độ, huyết áp, trạng thái tinh thần, diễn biến lâm sàng của người bệnh, các xử trí (nếu có) vào phiếu truyền máu. Căn cứ tình trạng của người bệnh và diễn biến trong quá trình truyền máu, bác sỹ điều trị chỉ định việc theo dõi sau khi kết thúc truyền máu.

5. Không được bổ sung bất cứ chất gì (bao gồm cả các loại thuốc) vào túi máu, trừ trường hợp có chỉ định hoà loãng khối hồng cầu thì chỉ được sử dụng dung dịch muối đẳng trương (NaCl 0,9%) loại truyền tĩnh mạch.

6. Khi xảy ra các tai biến liên quan đến truyền máu, cơ sở điều trị phải thực hiện ngay các việc sau

- Tùy theo mức độ nghiêm trọng của tai biến mà phải giảm tốc độ hoặc ngừng truyền máu. Trường hợp ngừng truyền máu, phải duy trì đường truyền tĩnh mạch bằng cách sử dụng dung dịch muối đẳng trương.

- Xử trí cấp cứu người bệnh.

- Không được tiếp tục truyền đơn vị máu, chế phẩm máu có liên quan đến tai biến sau khi đã ngừng truyền quá 4 giờ.

III. SAU KHI TRUYỀN MÁU

Sau khi hoàn thành truyền máu mà không có tai biến gì, bác sỹ và điều dưỡng phải ký xác nhận điều này vào phiếu truyền máu. Phiếu truyền máu sẽ được dán vào hồ sơ bệnh án của người bệnh.

Theo dõi người bệnh trong vài giờ để có thể biết được các dấu hiệu hay triệu chứng của các phản ứng do truyền máu./.

PHỤ LỤC I
GIẤY CAM ĐOAN CHẤP NHẬN
PHẪU THUẬT, THỦ THUẬT VÀ GÂY MÊ HỒI SỨC, TRUYỀN MÁU

I. BÁC SỸ/PHẪU THUẬT VIÊN

- Tên tôi là: Chức danh:

Tôi đã giải thích những thông tin liên quan đến cuộc phẫu thuật, thủ thuật cho bệnh nhân

..... tới người bệnh và gia đình người bệnh: đặc biệt về:

- Chẩn đoán bệnh:

- Chỉ định phẫu thuật, thủ thuật:

- Phương pháp phẫu thuật, thủ thuật:

- Phương pháp vô cảm:

Và đã thông báo cho người bệnh và gia đình người bệnh những nguy cơ có thể xảy ra, các tai biến, biến chứng, di chứng trong và sau khi thực hiện phẫu thuật, thủ thuật.

II. NGƯỜI BỆNH/NGƯỜI NHÀ NGƯỜI BỆNH

- Tên tôi là: Tuổi: Nam/ Nữ

- Dân tộc: Ngoại kiều:

- Nghề nghiệp: Nơi làm việc:

- Địa chỉ:

- Là người bệnh/ đại diện gia đình người bệnh/ họ tên là:

hiện đang được điều trị tại Khoa: Trung tâm Y tế Sìn Hồ.

Sau khi nghe bác sĩ cho biết tình trạng bệnh của tôi/ của người gia đình tôi/ những nguy hiểm của bệnh nếu không thực hiện phẫu thuật, thủ thuật, gây mê hồi sức và truyền máu và những rủi ro có thể xảy ra do bệnh tật, do khi tiến hành phẫu thuật, thủ thuật, gây mê hồi sức và truyền máu; tôi tự nguyện viết giấy cam đoan này:

Đồng ý xin phẫu thuật, thủ thuật, gây mê hồi sức, truyền máu và để giấy này làm bằng.

Không đồng ý phẫu thuật, thủ thuật, gây mê hồi sức, truyền máu và để giấy này làm bằng.

(Câu 1 và câu 2 do người bệnh, đại diện gia đình tự viết)

.....

PHỤ LỤC II

MẪU BẢNG HỎI TÌNH TRẠNG SỨC KHOẺ NGƯỜI HIẾN MÁU

(Ban hành kèm theo Thông tư số 26/2013/TT-BYT ngày 16/9/2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế và Quyết định số , ngày tháng năm 2020 của Giám đốc TTYT Sìn Hồ)

SỞ Y TẾ LAI CHÂU
TRUNG TÂM Y TẾ SÌN HỒ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

BẢNG HỎI TÌNH TRẠNG SỨC KHOẺ NGƯỜI HIẾN MÁU

I. Phần thông tin hành chính :

1. Họ và tên:
2. Ngày sinh:
3. Giới:
4. Quốc tịch: Việt Nam
5. Dân tộc:
6. Nghề nghiệp:
7. Địa chỉ trường học, nơi làm việc:
8. Địa chỉ thường trú:
9. Địa chỉ liên lạc:
10. Điện thoại (nếu có):
11. Email (nếu có):
12. Số chứng minh thư / hộ chiếu:
13. Số thẻ hiến máu:

II. Phần trả lời của người hiến máu

1. Cảm giác bản thân về sức khỏe hiện tại của người hiến máu:
2. Người hiến máu có làm việc hoặc tham gia các hoạt động như: làm việc trên cao hoặc dưới độ sâu (phi công, lái cần cẩu, công nhân làm việc trên cao, người leo núi, thợ mỏ, thợ lặn, thủy thủ); Vận hành các phương tiện giao thông công cộng (lái xe buýt, lái tàu hỏa, lái tàu thủy); Vận động viên chuyên nghiệp, người vận động nặng, tập luyện nặng.
3. Số lần đã hiến máu và thời gian hiến máu gần nhất:
4. Tiền sử sức khỏe chung và bệnh tật:
 - Bệnh tim mạch:
 - Bệnh gan, viêm gan các loại:
 - Bệnh thận:

- Nội tiết:
 - Bệnh lao và hệ hô hấp:
 - Bệnh máu:
 - Bệnh tâm thần, thần kinh:
 - Sốt rét:
 - Giang mai:
 - HIV/AIDS:
 - Các bệnh lây truyền khác:
 - Tiền sử về phẫu thuật, các thủ thuật y tế:
 - Tiền sử tiêm vaccin và các chế phẩm sinh học, truyền máu và chế phẩm máu; ghép cơ quan, tổ chức; xăm trổ; phơi nhiễm với máu và dịch cơ thể từ người khác....
5. Các biểu hiện bất thường bệnh lý:
- Sụt cân không rõ lý do:
 - Ra mồ hôi trộm:
 - Xuất hiện u, bướu trên da hoặc niêm mạc:
 - Hạch to kéo dài trên 1 tháng:
 - Rối loạn tiêu hoá:
 - Sốt trên 37^o5 kéo dài trên 10 ngày:
6. Tiền sử có sử dụng các chất gây nghiện:
7. Tiền sử quan hệ tình dục với người mắc viêm gan, HIV/AIDS, người có quan hệ tình dục đồng giới:
8. Tình trạng mang thai, nuôi con nhỏ dưới 12 tháng tuổi:
9. Những bệnh, triệu chứng đang mắc và thuốc đang dùng trong tuần gần nhất.
10. Lời cam đoan của người hiến máu về:
- Hiểu và trả lời trung thực các câu hỏi;
 - Không hiến máu nếu tự thấy có nguy cơ lây truyền bệnh cho người khác;
 - Cảm thấy thật sự khoẻ mạnh;
 - Tình nguyện hiến máu;
 - Sau khi đã hiến máu, nếu phát hiện thấy bản thân có nguy cơ làm lây truyền bệnh cho người được truyền, tự nguyện báo ngay cho cơ sở tiếp nhận máu về sự không an toàn của đơn vị máu vừa hiến.
11. Ngày tháng năm điền bảng hỏi:
12. Chữ ký và họ tên của người hiến máu:

13. Chữ ký và họ tên của người hướng dẫn trả lời bảng hỏi:

III. Phần khám lâm sàng và xét nghiệm người hiến máu

1. Mạch:
2. Huyết áp:
3. Các biểu hiện lâm sàng:
4. Nồng độ Hemoglobin:
5. Kết quả xét nghiệm nhanh HBV:
6. Các xét nghiệm khác, nếu có:
7. Họ tên/mã số người khám lâm sàng và người thực hiện xét nghiệm:
8. Máu/thành phần máu dự kiến hiến:
9. Thể tích: ml

NGƯỜI HIẾN

NGƯỜI KHAI THÁC

41. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRUYỀN MÁU TẠI GIƯỜNG BỆNH

I. ĐẠI CƯƠNG

Truyền máu tại giường bệnh là bước cuối của quy trình truyền máu lâm sàng, Trực tiếp đưa máu của người cho vào máu của người nhận do đó đòi hỏi an toàn cao và theo dõi cẩn trọng tại giường bệnh.

II. CHỈ ĐỊNH

Mỗi loại chế phẩm máu có chỉ định riêng biệt

1. Máu toàn phần

- Thay thế hồng cầu trong mất máu cấp không kèm theo giảm thể tích toàn phần: sốc do mất máu trong, chấn thương, theo chỉ định của bác sỹ.

- Truyền thay máu.

- Người bệnh cần truyền hồng cầu mà không có sẵn khối hồng cầu đậm đặc.

2. Khối hồng cầu đậm đặc

- Thay thế hồng cầu ở người bệnh thiếu máu;

- Sử dụng cùng các dung dịch thay thế (dung dịch keo hoặc dung dịch tinh thể) trong mất máu cấp.

3. Khối tiểu cầu

Điều trị chảy máu do (giảm số lượng tiểu cầu, giảm chức năng tiểu cầu).

4. Huyết tương tươi đông lạnh

Điều trị thay thế tình trạng thiếu nhiều yếu tố đông máu;

- Bệnh gan (suy gan, xơ gan);

- Quá liều thuốc chống đông Warfarin;

- Giảm yếu tố đông máu trên người bệnh truyền máu khối lượng lớn;

- Đông máu rải rác trong lòng mạch (DIC);

- Xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối (TTP).

5. Tủa lạnh

- Thiếu yếu tố VIII (bệnh Hemophilia A);

- Thiếu yếu tố XIII;

- Bệnh Von WilLebrand;

- Thiếu hụt fibrinogen, DIC.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Điều dưỡng có kiến thức, y sỹ làm công tác điều dưỡng, nữ hộ sinh, có kỹ năng, tâm lý vững vàng và trang phục đầy đủ theo quy định.

Rửa tay thường quy hoặc sát khuẩn tay nhanh.

2. Người bệnh

- Giải thích để người bệnh và gia đình người bệnh yên tâm, thông báo thời gian truyền máu.

- Đo dấu hiệu sinh tồn.

- Kiểm tra người bệnh có dị ứng hay có tiền sử phản ứng với máu không.

3. Dụng cụ

*** Dụng cụ vô khuẩn**

- khay chữ nhật vô khuẩn: 01 khay.

- Bơm, kim tiêm vô khuẩn 5ml, 10ml, dây truyền máu có bầu lọc.

- Kim truyền máu kích cỡ 18G hoặc 20G

- Trụ cầm kim Koche.

- Gạc miếng vô khuẩn.

- Hộp đựng bông cotton.

*** Dụng cụ sạch**

- Khay quả đậu.

- Lọ cồn 70°, dung dịch sát khuẩn tay nhanh.

- Găng tay sạch.

- Bát kê để đuổi khí.

- Hộp thuốc cấp cứu, huyết áp, ống nghe, dây ga rô, gối kê tay, cốc truyền, kéo, băng dính, nẹp cố định.

- Phiếu truyền máu.

- Dụng cụ, phương tiện định nhóm máu và làm phản ứng chéo tại giường: máu người cho và người nhận, huyết thanh mẫu, bộ huyết thanh mẫu (chống A, chống B, chống AB, được bảo quản ở 4°C). Phiến đá men, bông, que thủy tinh hoặc ống nghiệm sạch.

*** Dụng cụ khác**

Hộp đựng vật sắc nhọn, túi, xô đựng đồ bẩn, xe tiêm.

* Máu/ chế phẩm từ máu và thuốc.

- Dịch truyền NaCl 0,9%: 01 chai.

- Túi máu/chế phẩm từ máu theo y lệnh: kiểm tra chất lượng, hạn sử dụng, nhóm máu, số lượng, số hiệu, ngày lưu trữ...

* **Hồ sơ bệnh án**

Phiếu truyền máu, phiếu ghi chép theo dõi thủ thuật.

3. Bảo quản chế phẩm máu trước khi truyền

1.1. Hồng cầu và máu toàn phần

- Hồng cầu và máu toàn phần phải được bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng từ 2°C đến 6°C;

- Hồng cầu và máu toàn phần phải được truyền trong vòng 30 phút sau khi bỏ ra khỏi tủ lạnh.

1.2. Khối tiểu cầu

- Khối tiểu cầu phải được đặt trong hộp cách nhiệt chuyên dụng để giữ nhiệt độ vào khoảng 20°C đến 24°C;

- Khối tiểu cầu phải được truyền ngay sau khi lĩnh.

1.3. Huyết tương tươi đông lạnh và tủa lạnh

- Huyết tương tươi đông lạnh cần được truyền trong vòng 30 phút sau khi phá đông.

- Nếu chưa cần sử dụng ngay, huyết tương tươi đông lạnh phải được bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 2°C đến 6°C và truyền trong vòng 24 giờ.

4. Kiểm tra túi máu trước khi truyền

- Bất cứ dấu hiệu nào của tan máu trong lớp huyết tương đều là dấu hiệu cho thấy máu đã bị nhiễm khuẩn, bị làm đông hoặc làm ấm ở nhiệt độ quá cao.

- Bất cứ dấu hiệu nào của nhiễm khuẩn, ví dụ như sự đổi màu sắc của hồng cầu, trông sẫm hơn hoặc chuyển màu tím/đen.

- Bất cứ cục máu đông nào cũng cho thấy có thể máu đã không được lắc đúng quy cách để chất chông đông hòa đều khi lấy máu từ người cho.

- Bất cứ dấu hiệu nào cho thấy túi máu bị thủng hoặc bị mở ra từ trước.

Nếu có bất cứ dấu hiệu bất thường nào tìm thấy trên túi máu thì không được truyền đơn vị máu đó và phải thông báo ngay cho ngân hàng máu.

5. Kiểm tra để xác định chính xác họ tên người bệnh và chế phẩm máu trước khi truyền

Việc kiểm tra lần cuối này phải được làm ngay tại giường người bệnh ngay trước khi bắt đầu truyền chế phẩm máu, do điều dưỡng hoặc bác sĩ thực hiện.

6. Kiểm tra xác định chính xác người bệnh lần cuối cùng

- Hỏi người bệnh để kiểm tra tên, họ, ngày sinh và các thông tin cần thiết khác.

Nếu người bệnh đang trong tình trạng hôn mê thì cần hỏi người nhà người bệnh hoặc một nhân viên khác để xác định chính xác người bệnh.

- Kiểm tra chính xác người bệnh trên cơ sở đối chiếu với: Hồ sơ bệnh án

- Kiểm tra các chi tiết sau trên nhãn hòa hợp dán trên túi máu xem có phù hợp chính xác với hồ sơ người bệnh của người bệnh không:

+ Họ tên người bệnh.

+ Giường bệnh, phòng bệnh hoặc phòng mổ.

+ Nhóm máu của người bệnh.

+ Túi máu.

+ Nhãn hòa hợp.

- Kiểm tra ngày hết hạn của túi máu.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Điều dưỡng đội mũ, rửa tay/sát khuẩn tay nhanh, đeo khẩu trang.

2. Thông báo, giải thích cho người bệnh và gia đình, động viên người bệnh, giúp người bệnh yên tâm.

3. Kiểm tra lại túi máu: nhóm máu, tên người cho, tên người nhận, số túi máu, số lượng máu, chất lượng, màu sắc, ngày dự trữ.

4. Mang găng vô khuẩn.

5. Định nhóm máu và làm phản ứng chéo tại đầu giường và mời bác sĩ đọc kết quả, kết quả cho thấy truyền được máu tiến hành kỹ thuật tiếp theo (từ bước 6 trở đi).

- Truyền máu toàn phần, khối hồng cầu, bạch cầu: sử dụng huyết thanh mẫu định lại nhóm máu ABO của người bệnh và đơn vị máu trước truyền.

- Truyền khối tiểu cầu, huyết tương: sử dụng huyết thanh mẫu định lại nhóm máu ABO của người bệnh và làm phản ứng chéo giữa mẫu máu người bệnh và mẫu chế phẩm máu.

6. Cắt băng dính.

7. Kiểm tra lại túi máu, lắc nhẹ và treo túi máu lên cọc truyền.

8. Bật nút chai dịch truyền NaCl 0,9% sát khuẩn nút chai.

9. Xé túi đựng dây truyền, cắm dây truyền vào chai Natriclorid 0,9%, khóa dây truyền lại, tiến hành đui khí trong dây truyền khóa và khóa dây truyền, rút dây truyền từ chai Natriclorid 0,9% và cắm dây truyền sang túi máu.

10. Để người bệnh ở tư thế thuận lợi, bộc lộ vùng truyền, đặt gối kê tay, đặt và thắt dây garô cách vị trí truyền 3-5cm.

11. Sát khuẩn vùng truyền từ trong ra ngoài 2 lần.

12. Một tay kéo căng da vị trí truyền, một tay cầm kim theo hướng mũi kim chếch lên tạo với da 1 góc 15-30⁰, đâm kim vào tĩnh mạch thấy máu trào ra (có thể dùng kim luồn cỡ 18G/20G).

13. Tháo dây garô, lắp dây truyền, mở khóa dây truyền cho dịch chảy.

14. Cố định kim vào da người bệnh bằng băng dính, phủ 1 miếng gạc vô khuẩn vào kim rồi băng lại bằng băng dính, cố định vào nẹp (nếu cần), bỏ gối kê và dây garô ra khỏi người bệnh.

15. Làm phản ứng sinh vật: Cho dịch chảy hết dịch NaCl 0,9% trong dây truyền, cho chảy theo y lệnh được 4ml máu rồi cho chảy chậm từ 8-10 giọt/phút. Sau 5 phút nếu không có triệu chứng gì cho chảy với tốc độ theo y lệnh được 20ml nữa cho chảy chậm 8-10 giọt/phút. Sau 5 phút không có triệu chứng gì xảy ra cho phép chảy tiếp theo y lệnh.

16. Cho người bệnh nằm tư thế thích hợp thoải mái.

17. Theo dõi và phát hiện tai biến, hướng dẫn người bệnh những điều cần thiết.

18. Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay/sát khuẩn.

19. Ghi phiếu theo dõi truyền máu, ghi hồ sơ bệnh án.

VI. ĐÁNH GIÁ, GHI HỒ SƠ VÀ BÁO CÁO

- Theo dõi tình trạng người bệnh, dấu hiệu sinh tồn, diễn biến trong và sau khi truyền máu 15 phút/lần, ghi phiếu theo dõi truyền máu.

- Theo dõi các tai biến, phản ứng có thể xảy ra trong quá trình truyền máu: sốt, đau đầu, nôn, nổi ban, thiếu niệu, rối loạn nhịp thở... nếu phát hiện dấu hiệu bất thường ngừng truyền và báo cáo bác sỹ để xử trí kịp thời.

VII. THEO DÕI TRUYỀN MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU

1. Đối với mỗi đơn vị máu truyền vào, cần phải theo dõi người bệnh ở từng giai đoạn của quá trình truyền máu

- Trước khi bắt đầu truyền máu;

- 15 phút sau khi bắt đầu truyền máu;

- Ít nhất mỗi giờ trong quá trình truyền máu;

- Khi truyền máu xong;

- 4 giờ sau khi truyền máu xong.

2. Tại mỗi giai đoạn nêu trên, cần ghi lại thông tin vào bảng theo dõi người bệnh

Toàn trạng của người bệnh, các chỉ số sinh tồn

3. Ghi chép lại vào phiếu truyền máu

- Thời gian bắt đầu truyền máu;
- Thời gian hoàn tất truyền máu;
- Thể tích và số lượng tất cả các chế phẩm máu được truyền vào;
- Tất cả các phản ứng phụ có hại xảy ra.

VIII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ

1. Phát hiện và xử trí các tác dụng không mong muốn trong truyền máu và ngay sau truyền máu

- Khi xuất hiện các triệu chứng bất thường ở người bệnh đang truyền máu hoặc chế phẩm máu, phải ngừng truyền ngay và báo cáo bác sĩ điều trị để xử trí kịp thời. Khi cần thiết phải mời bác sĩ hoặc người phụ trách của cơ sở cung cấp máu để phối hợp xử trí.

- Trường hợp người bệnh có phản ứng nặng hoặc tử vong có liên quan đến truyền máu thì cơ sở cung cấp máu phải báo cáo ngay với lãnh đạo bệnh viện và cơ sở cung cấp máu để phối hợp tìm nguyên nhân và đề xuất ý kiến giải quyết.

- Lập báo cáo tác dụng không mong muốn liên quan đến truyền máu (theo mẫu số 6), bàn giao cho cơ sở cung cấp máu các túi máu, chế phẩm máu, dây truyền máu và các loại thuốc tiêm, dịch truyền khác sử dụng cho người bệnh vào thời điểm xảy ra tác dụng không mong muốn. Thời gian lưu giữ các bệnh phẩm trên và các mẫu máu có liên quan ít nhất là 14 ngày kể từ lúc xảy ra tác dụng không mong muốn.

- Cơ sở cung cấp máu phải xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm để xác định nguyên nhân và lập phiếu xét nghiệm tác dụng không mong muốn liên quan đến truyền máu.

2. Phát hiện và xử trí tác dụng không mong muốn xảy ra chậm sau truyền máu:

Cơ sở điều trị sử dụng máu cần phối hợp với cơ sở cung cấp máu để xác định nguyên nhân tác dụng không mong muốn xảy ra chậm và áp dụng các biện pháp theo dõi và điều trị tích cực theo quy định của Bộ Y tế.

CHƯƠNG III: DỊCH NÃO TỦY

42. QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHỌC TỦY SỐNG LẤY DỊCH NÃO TỦY XÉT NGHIỆM

I. NGUYÊN LÝ

Là phương pháp đưa kim vào khoang dưới nhện vùng thắt lưng để lấy dịch não tủy.

II. CHỈ ĐỊNH

1. Các bệnh nhiễm khuẩn

- Viêm màng não
- Viêm não
- Áp xe não

2 Các bệnh viêm không do nhiễm khuẩn

- Xơ hệ thống.
- Guillain - Barré.
- Bệnh Luput ban đỏ hệ thống.

3. Các bệnh ung thư

- Loxêmi cấp dòng Tủy, dòng Lympho và U lympho có thâm nhiễm thần kinh trung ương.
- Các bệnh ung thư có thâm nhiễm não và màng não.
- U não.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tăng áp lực nội sọ quá cao do khối u chón chỗ hoặc do tắc hệ thống dẫn lưu của não thất.
- Chấn thương tủy hoặc chèn ép tủy.
- Nhiễm trùng tại chỗ vị trí chọc dò.
- Bệnh lý giảm tiểu cầu, rối loạn đông máu.
- Suy hô hấp, suy tuần hoàn nặng.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ

- Điều dưỡng phụ (nếu bệnh nhi thì cần thêm 1 điều dưỡng)

2. Phương tiện, dụng cụ

- Kim chọc dò kích cỡ 22G hoặc 20G, với trẻ em thì sử dụng kim ngắn hơn.
- Bơm tiêm
- Thuốc gây tê.
- Dung dịch sát khuẩn Povidone Iodine 10% (Betadine)
- Khăn vô khuẩn.
- Ống nghiệm (4 ống).

3. Người bệnh

Được giải thích kỹ về mục đích làm thủ thuật, người thực hiện:, nơi và thời gian thực hiện. Người bệnh được dặn không ăn uống gì và đại tiểu tiện trước khi và sau khi thực hiện thủ thuật.

4. Phiếu xét nghiệm

- Sinh hóa nước dịch.
- Tế bào nước dịch.
- Nuôi cấy vi khuẩn.
- Các xét nghiệm đặc thù chuyên khoa khác (BK, PCR lao, tìm nấm, virus...)

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Tư thế người bệnh

Người bệnh ngồi hoặc nằm cong lưng về phía thầy thuốc, cúi gập đầu về phía ngực, co hai đùi và căng chân về phía bụng. Với trẻ em thì cần một điều dưỡng một tay giữ gáy một tay giữ khoeo chân chân để tránh phản ứng bất thường.

2. Xác định mốc

Đường nối hai mào chậu của người bệnh sẽ đi qua thân đốt sống L4, vị trí chọc thường ở giữa L3-L4 hoặc cao hơn L2-L3.

3. Sát trùng và gây tê

Bác sĩ tiến hành thủ thuật đi găng vô khuẩn, sát trùng vị trí chọc từ trong ra ngoài. Trải khăn vô khuẩn. Điều dưỡng đưa bơm tiêm có thuốc gây tê để thủ thuật viên gây tê cho người bệnh.

4. Tiến hành chọc dò.

Chọc kim chính giữa cột sống tại vị trí khe giữa hai đốt sống một góc chéo 15°, đưa kim qua da, tổ chức dưới da, các dây chằng cột sống, khoang ngoài màng

cứng, màng cứng rời vào khoang dưới nhện. Kéo nòng kim để dịch chảy ra.

Nếu không thấy dịch phải rút kim ra và điều chỉnh lại.

5. Điều dưỡng viên đưa áp kế cho thủ thuật viên đo áp lực dịch não tủy. Tiếp đó lần lượt hứng dịch não tủy vào từng ống xét nghiệm.

6. Thủ thuật viên rút kim chọc dò, điều dưỡng phụ đặt gạc lên vùng lưng vừa chọc và dán băng giữ bên ngoài.

7. Người bệnh nằm sấp hoặc nằm nghiêng sau chọc dò. Theo dõi toàn trạng người bệnh.

8. Thủ thuật viên ghi kết quả việc chọc dò vào hồ sơ bệnh án. Điều dưỡng kiểm tra họ tên người bệnh trên ống và giấy xét nghiệm, ghi chép vào phiếu chăm sóc người bệnh.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dịch não tủy bình thường

- Dịch trong không màu.
- Áp lực 50-180mmHg.
- Protein 15-40mg/100ml.
- Glucose 50-80mg/100ml.
- Tế bào: 0-4 bạch cầu/mm³.

2. Dịch não tủy bệnh lý

2.1 Thay đổi về áp lực

- Tăng áp lực dịch não tủy do khối u chèn chỗ hoặc do nhiễm trùng.
- Giảm áp lực dịch não tủy do tắc nghẽn lưu thông phía trên chỗ chọc dò.

2.2 Thay đổi màu sắc

- Dịch đục do tăng bạch cầu trong dịch não tủy thường gặp do nhiễm khuẩn.
- Màu đỏ do chảy máu khoang dưới nhện, chấn thương do chính thủ thuật.
- Màu vàng do tổn thương lao, chảy máu cũ.

2.3 Thành phần dịch não tủy

- Tăng protein: Do viêm, khối u, chảy máu vào dịch não tủy.
- Giảm protein: Dịch não tủy tiết ra nhiều hơn bình thường.
- Glucose tăng: Tăng đường máu toàn thân.
- Glucose giảm: Nhiễm trùng, lao.

- Tãng bạch cầu: Viêm màng não, áp xe não, thâm nhiễm do bệnh ác tính.
- Có hồng cầu: Do chảy máu khoang dưới nhện, chạm vào mạch máu vùng chọc dò.

VII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ

- Thoát vị não (lọt hạnh nhân tiểu não hoặc lọt cực thái dương) có thể gây tử vong. Nếu nghi ngờ có thể chụp CT trước.
- Nhức đầu sau chọc dò: Nằm nghỉ, giảm đau.
- Chảy máu ở vị trí chọc có thể gây chèn ép tủy hoặc chảy máu vào tủy sống: Theo dõi và điều chỉnh rối loạn đông cầm máu nếu có.
- Nhiễm khuẩn: Kháng sinh toàn thân.
- Rỉ dịch tại chỗ chọc: Theo dõi và vệ sinh tại chỗ.
- Choáng do đau hoặc thuốc gây tê: Xử trí theo phác đồ.

43. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Enzym UV (phương pháp hexokinase): Glucose bị phosphoryl hóa bởi ATP dưới tác dụng của enzyme hexokinase tạo glucose-6-phosphat. Glucose-6-phosphat phản ứng với NAD dưới tác dụng của glucose-6-phosphat dehydrogenase tạo gluconate-6-phosphat và $\text{NADH} + \text{H}^+$. Sự tăng mật độ quang được đo ở bước sóng 340 nm tỉ lệ với nồng độ glucose dịch não tủy trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy phân tích sinh hóa tự động: MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

Hóa chất:

- ATP
- NAD^+
- Hexokinase
- G6P-DH
- Chất bảo quản
- Hóa chất được bảo quản ở 2-8°C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy. Dịch não tủy, bảo quản ở 2-8°C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm glucose dịch não tủy.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm glucose dịch não tủy theo chương trình của máy.

- Tiến hành chuẩn glucose dịch não tủy.

- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm glucose dịch não tủy. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).

- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: 2,2 -3,9 mmol/L.

2. Glucose dịch não tủy tăng trong

- Đái tháo đường
- Viêm não, các u não, xuất huyết não
- Động kinh, co giật

3. Glucose dịch não tủy giảm trong

- Viêm màng não mủ do màng não cầu khuẩn, phế cầu khuẩn, liên cầu khuẩn.

- Viêm màng não do lao.

- Hạ đường máu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

- Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.
- Mẫu bệnh phẩm phải được phân tích sớm ngay sau khi lấy mẫu.

- Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó./.

44. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

Phức hợp pyrogallol đỏ - molybdate gắn với nhóm amino của phân tử protein dịch não tủy tạo thành phức chất màu xanh tím có mật độ quang cực đại ở bước sóng 600nm. Mật độ quang tỉ lệ với nồng độ protein dịch não tủy trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- Sodium molybdate
- Succinic acid
- Sodium benzoate
- Sodium oxalate
- Methanol

Hóa chất được bảo quản ở 2-8°C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy, dịch chọc dò. Dịch não tủy, dịch chọc dò, bảo quản ở 2-8°C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein dịch não tủy.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm protein dịch não tủy theo chương trình của máy.

- Tiến hành chuẩn protein dịch não tủy.

- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein dịch não tủy. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).

- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số bình thường: < 0.45 g/L**

- **Protein dịch não tủy tăng trong**

+ Viêm màng não, lao màng não

+ Hội chứng Guillain-Barre’.

+ Chèn ép tủy sống

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Dịch não tủy, dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không,

phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó./.

CHƯƠNG IV. NƯỚC TIỂU

45. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM NƯỚC TIỂU

I. MỤC TIÊU

- Xét nghiệm 10-11 thông số hóa sinh nước tiểu gồm PH, tỉ trọng, glucose, protein, bilirubin, urobilirubin, ceton, hồng cầu, bạch cầu, nitrit, ở mức độ bán định lượng.

- Các kết quả được ứng dụng trong chuẩn đoán và điều trị cho người bệnh.

II TRÁCH NHIỆM

1. Cán bộ kỹ thuật viên xét nghiệm

- Đảm bảo mã hóa đúng trong quy trình sao lưu và kỹ thuật thực hiện.

- Thực hiện an toàn chính xác các loại xét nghiệm.

- Đảm bảo an toàn trong quy trình thao tác

- Ghi chép thông tin và báo cáo kết quả xét nghiệm.

2. Trưởng khoa xét nghiệm

- Kiểm tra giám sát chất lượng kết quả xét nghiệm

- Báo cáo kết quả xét nghiệm

- Quản lý kết quả xét nghiệm

- Xây dựng, cập nhật, cải tiến quy trình cho phù hợp phòng xét nghiệm.

III. PHẠM VI ÁP DỤNG

Áp dụng cho tất cả phòng xét nghiệm.

IV. THUẬT NGỮ

-LEU: TB bạch cầu

-BLD: TB hồng cầu

- PRO: Protein

- BIL: Bilirubin

- GLU: Glucose.

V. NỘI DUNG

5.1. Nguyên lý xét nghiệm

Xét nghiệm nước tiểu 10 – 11 thông số là xét nghiệm quan trọng trong việc phát hiện bệnh. Các kết quả từ xét nghiệm nước tiểu giúp chẩn đoán theo dõi bệnh,

đánh giá hiệu quả của phương pháp điều trị cũng như thông tin cần thiết về sức khỏe.

5.2 trang thiết bị- Thuốc thử

5.2.1 Trang thiết bị

- Máy xét nghiệm sinh hóa nước tiểu 11 thông số UA-66.
- Máy xét nghiệm sinh hóa nước tiểu 11 thông số Combi Scan 100
- Máy xét nghiệm 10 thông số PU- 4010.

5.2.2 Hóa chất- Thuốc thử

- Thanh thử giấy 11 thông số gồm:

- + Protein
- + Glucose
- + Cetonic
- + Tỷ trọng
- + PH
- + Nitrit
- + Hồng cầu
- + Bạch cầu
- + Urobininogen
- + Bilirubil
- + Acid Ascorbic

5.2.3 Mẫu bệnh phẩm

- Mẫu nước tiểu đựng trong túyp sạch và làm ngay nếu có thể.
- Mẫu nước tiểu buổi sáng.
- Mẫu nước tiểu lúc đói.
- Mẫu lấy trong một thời gian nhất định (2 giờ hoặc 24 giờ).

5.2.4 Quy trình xét nghiệm

- Nhận bệnh phẩm tại khoa xét nghiệm, bệnh nhân ngoại trú lấy tại phòng xét nghiệm.

- Nhúng toàn bộ thanh thử nước tiểu vào ống nước tiểu đã trộn đều, nên nhúng nhanh để hóa chất không tan vào nước tiểu.

- Khi lấy thanh thử ra gạt cạnh băng giấy vào miệng ống để loại bỏ bớt lượng nước tiểu thừa.

- Đặt thanh thử vào khay đọc trên máy ngay ngắn và vận hành để máy đo và in ra kết quả.

- Việc đọc kết quả trên máy bán tự động hoặc tự động cũng cho kết quả có giá trị bán định lượng.

5.2.5 Hiệu chuẩn

- Hiệu chuẩn bằng thanh thử chuẩn.

5.2.6 Kiểm tra chất lượng

- Khi nghi ngờ kết quả xét nghiệm nước tiểu cần kiểm tra lại thanh thử hoặc kiểm tra lại mẫu nước tiểu và yêu cầu bệnh nhân lấy lại bệnh phẩm để xét nghiệm lại.

VI. ĐƠN VỊ - HỆ SỐ- KHOẢNG GIÁ TRỊ BÌNH THƯỜNG

TT	Tên xét nghiệm	Ký hiệu	Đơn vị	Chỉ số thấp	Chỉ số cao
1	Tỉ trọng	SG		1.015	1.025
2	PH	PH		4.8	7.4
3	Tế bào bạch cầu	LEU	µl	0	10
4	Tế bào hồng cầu	BLD	µl	0	5
5	Nitrit	NIT		Âm tính	
6	Protein	PRO	g/l	0	0.1
7	Glucose	GLU	mmol/l	0	0.84
8	Thể ceton	KET	mmol/l	0	5
9	Bilirubin	BIL	µmmol/l	0	3.4
10	Urobilinogen	URO	µmmol/l	0	16.9
11	Ascorbic Acid	ASC	mmol/l	0	0.56

VII. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG

- Thời gian lấy nước tiểu.

- Thời gian xét nghiệm nước tiểu.

- Chất lượng thanh thử nước tiểu
- Chất lượng và số lượng bệnh phẩm nước tiểu.

VIII. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

- Trưởng khoa xét nghiệm kiểm tra giám sát và tổ chức thực hiện
- Các kỹ thuật viên xét nghiệm thực hiện đúng quy trình xét nghiệm.

46. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH TÍNH MORPHIN

I. NGUYÊN LÝ

Định tính Morphin bằng kỹ thuật sắc ký miễn dịch cạnh tranh: Morphin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với morphin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Morphin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ sau đó bởi liên hợp morphin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ morphin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng morphin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm -CDHA.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- Thanh thử morphin

Hóa chất được bảo quản ở 25-30°C.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu; bảo quản ở 2-8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30°C, ổn định trong vòng 2 ngày

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
 - + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C
 - + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị bình thường: Âm tính
- Dương tính: sử dụng các loại thuốc có chứa morphin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó./.

47. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH TÍNH METHAM PHETAMIN

I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: Metham phetamin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với amphetamin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhòe mao dẫn. mphetamin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp Metham phetamin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ amphetamin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng Metham phetamin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.
2. Phương tiện, hóa chất Hóa chất: - Thanh thử Metham phetamin - Hóa chất được bảo quản ở 25 – 300C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.
3. Người bệnh Nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8 0C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 300C, ổn định trong vòng 2 ngày.
4. Phiếu xét nghiệm Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm Nước tiểu.
2. Tiến hành kỹ thuật
 - 2.1. Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị thanh thử Metham phetamin.
 - 2.2. Tiến hành kỹ thuật - Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu - Đọc kết quả sau 5 phút: + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C 482 + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T - Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm). - Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị bình thường: Âm tính
2. Dương tính: Sử dụng các loại thuốc có chứa Metham phetamin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ. Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó./.

48. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH TÍNH AMPHETAMIN

I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: amphetamin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với amphetamin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. mphetamin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp amphetamin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ amphetamin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng amphetamin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm -CDHA.

2. Phương tiện, hóa chất Hóa chất

Thanh thử amphetamin - Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Lấy nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị thanh thử amphetamin.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu.

- Đọc kết quả sau 5 phút:

- + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C 482.
- + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị bình thường: Âm tính
2. Dương tính: Sử dụng các loại thuốc có chứa amphetamin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ. Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó./.

49. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐỊNH TÍNH MARIJUANA

I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: marijuana trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với marijuana ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Marijuana, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp marijuana bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ marijuana trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng marijuana. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm -CDHA.

2. Phương tiện, hóa chất Hóa chất

- Thanh thử marijuana.
- Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Lấy nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất Chuẩn bị thanh thử marijuana.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu.
- Đọc kết quả sau 5 phút:

- + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C.
- + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T513.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị bình thường: Âm tính
2. Dương tính: Sử dụng các loại thuốc có chứa marijuana.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ. Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó./.

CHƯƠNG V. CHUYÊN NGÀNH VI SINH
50. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TÌM KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT
(Malaria parasite Test by manual method, Phương pháp thủ công)

I. ĐẠI CƯƠNG

- Ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) kí sinh ở người, vật chủ trung gian truyền bệnh là muỗi Anopheles.
- KSTSR xuất hiện nhiều nhất ở máu ngoại vi, khi người bệnh bắt đầu lên cơn sốt hay trong khi đang sốt.
- Máu được lấy để tìm KSTSR từ tĩnh mạch, chống đông bằng EDTA hoặc lấy trực tiếp từ mao mạch (bằng cách chích đầu ngón tay, dái tai hay gót chân).
- Ký sinh trùng sốt rét được tìm thấy bằng cách soi giọt máu dày hoặc giọt máu đàn trên kính hiển vi. Giọt máu được nhuộm bằng Giemsa loãng.
- Mật độ KSTSR được tính trên mật độ bạch cầu hoặc được tính bằng thang điểm (+) trên giọt đặc.
- Phân loại KSTSR theo tiêu chuẩn quy định.

II. CHỈ ĐỊNH

- Người bệnh có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ nhiễm KSTSR;
- Người bệnh đã và đang sinh sống ở vùng có sốt rét lưu hành;
- Người bệnh mới từ vùng sốt rét trở về.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Điều dưỡng lấy máu tĩnh mạch.
- Kỹ thuật viên lấy máu mao mạch trực tiếp tại phòng xét nghiệm hay tại địa phương, kết hợp làm kỹ thuật.

2. Phương tiện - Hóa chất

2.1. Dụng cụ

- Phiếu xét nghiệm;
- Lam kính khô, sạch;
- Lam kéo có cạnh nhẵn;

- Kim chích máu vô khuẩn;
- Bông thấm nước vô khuẩn;
- Băng dính cầm máu;
- Khay men;
- Ống đong các loại: 10ml, 20ml...;
- Pipette nhỏ giọt;
- Đũa thủy tinh;
- Giá nhuộm, giá cài tiêu bản;
- Đồng hồ;
- Máy sấy tiêu bản;
- Dầu soi kính;
- Kính hiển vi;
- Bút viết;
- Bút chì kính mềm;
- Găng tay, khẩu trang, trang phục bảo hộ lao động.

2.2. Hóa chất

- Cồn sát trùng 70°;
- Cồn tuyệt đối 96°;
- Thuốc nhuộm Giemsa mẹ;
- Nước cất hoặc dung dịch đệm;
- Các dung dịch điều chỉnh pH: NaHPO_4 2%, KH_2PO_4 2%.

● Cách pha dung dịch đệm

- KH_2PO_4 : 0.7g;
- NaHPO_4 : 1.0g.

Lượng muối trên mỗi loại hòa tan trong 150ml nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy đều cho tan hết. Trộn 2 loại dung dịch trên, tiếp tục cho vừa đủ 1000ml. Khuấy đều, kiểm tra, điều chỉnh pH 7.2.

● Cách pha dung dịch Giemsa nhuộm

- Giemsa mẹ: 0.3 - 0.4ml.
- Dung dịch đệm hoặc nước cất: 9.7ml.

Trộn đều Giemsa mẹ và nước cất ta được dung dịch Giemsa 3 - 4%.

Thời gian nhuộm: 30 - 45 phút.

* Nhuộm nhanh: Pha dung dịch Giemsa 10% (1ml Giemsa mẹ + 9ml dung dịch đệm). Thời gian nhuộm: 15 - 20 phút.

3. Người bệnh

Nên làm xét nghiệm cho người bệnh trước hoặc trong khi lên cơn sốt, lúc này khả năng tìm thấy KSTSR ở máu ngoại vi cao hơn.

4. Hồ sơ bệnh án

Giấy chỉ định xét nghiệm (biểu mẫu số...) ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: Họ tên, năm sinh, địa chỉ khoa/phòng, số giường, nơi cư trú, chẩn đoán, chỉ định xét nghiệm; Ghi rõ ngày, tháng, năm chỉ định, chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Trường hợp máu được lấy từ tĩnh mạch: Khi tiếp nhận ống máu từ y tá bệnh phòng, tiến hành làm tiêu bản từ ống máu được chống đông bằng EDTA, mà không qua lấy máu mao mạch trực tiếp từ người bệnh được trình bày ở phần tiếp sau đây:

- Lấy máu làm tiêu bản trực tiếp (lấy máu mao mạch)
- + Sát khuẩn ngón tay chích máu bằng cồn 70°, chờ khô.
- + Dùng kim vô khuẩn chích vào vị trí sát khuẩn, sâu khoảng 1mm.
- + Lau bỏ giọt máu đầu bằng bông khô, sạch.
- + Vuốt nhẹ nhàng ngón tay vừa chích từ trên xuống dưới.
- + Dùng lam kính sạch áp nhẹ vào giọt máu thứ 2, giọt máu cách đầu lam 2cm.
- + Giọt máu thứ 3 cũng lấy bằng cách áp lam tương tự như giọt máu thứ 2, cách giọt máu thứ 2 khoảng 1.5cm.
- + Dùng lam kính sạch khác đặt vào trung tâm giọt máu thứ 2 đánh theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài từ 5 - 6 vòng để được giọt máu đặc có đường kính 0.9 - 1.0cm.
- + Tiếp theo, lấy lam kính kéo đặt lên phía trước giọt máu còn lại tạo thành góc 30° - 45°, lùi lam kéo về phía sau một chút để giọt máu được lan đều trên cạnh của lam kéo; đẩy từ từ lam kéo về phía trước, ta được giọt đàn.
- + Sát khuẩn tay cho người bệnh.
- + Để lam khô tự nhiên.

- + Đánh dấu tiêu bản bằng tên, mã số... theo quy định, tránh sai sót, nhầm lẫn.
- + Cố định giọt đàn bằng cồn tuyệt đối: nghiêng tiêu bản khoảng 30°, dùng pipette nhỏ giọt lấy cồn phủ lên giọt đàn, cài lên giá, để khô.
- + Giọt đặc thì không cố định. Nhưng đối với những trường hợp giọt đặc quá dày hay bản mốc thì phải dung giải bằng cách nhỏ nước cất hay Giemsa 1% trong 1- 2 phút, đổ nước, cắm lên giá, hong khô.

*** Tiến hành nhuộm:**

- Xếp tiêu bản lên giá nhuộm, nhỏ dung dịch Giemsa phủ kín lên lam (Nồng độ Giemsa và thời gian nhuộm theo quy định).
- Rửa tiêu bản bằng nước sạch. Lưu ý đổ nước nhẹ nhàng vào góc lam để nước sạch dần thay thế Giemsa, tránh rửa mạnh làm trôi bệnh phẩm.
- hong lam khô tự nhiên.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

* **Đọc kết quả:** Tìm KSTSR dưới KHV độ phóng đại 10 x 40 (để kiểm tra tiêu bản), sau đó đọc dưới độ phóng đại 10 x 100 tìm KSTSR theo chiều ngang tiêu bản, tuân tự tránh bỏ sót, hoặc theo chiều dọc, tránh trùng lên nhau. Đánh giá như sau:

- Soi 100 vi trường, thấy 1 KSTSR: (+);
- Soi 100 vi trường, thấy 10 KSTSR: (++);
- Soi 1 vi trường, thấy 1 KSTSR: (+++);
- Soi 1 vi trường, thấy 10 KSTSR: (++++).

* Xác định loại KSTSR dựa trên hình thái và tiêu chuẩn chẩn đoán theo quy định.

VII. THEO DÕI

- Theo dõi chặt chẽ người bệnh đi từ vùng có sốt rét lưu hành ra;
- Theo dõi những người bệnh nghi ngờ bị sốt rét, nên lấy máu tìm KSTSR trước hoặc trong khi người bệnh có cơn sốt;
- Cần theo dõi việc tái phát cho người có tiền sử sốt rét.

VIII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Chích đầu ngón tay không bỏ giọt máu đầu;
- Quá trình chích máu nặn bóp nhiều;
- Nhầm bệnh phẩm của người này sang người khác;

- Quá trình cố định, nhuộm không tốt gây bong tróc, trôi mất bệnh phẩm;
- Chẩn đoán sai do không bám sát tiêu chuẩn chẩn đoán./.

51. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TEST NHANH KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT (Ký sinh trùng sốt rét Ag test nhanh)

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện kháng nguyên ký sinh trùng sốt rét trong máu.

2. Nguyên lý

Kháng thể kháng ký sinh trùng sốt rét sẽ gắn đặc hiệu với kháng nguyên (ký sinh trùng sốt rét) có trong bệnh phẩm máu. Phản ứng xảy ra theo nguyên lý sắc ký miễn dịch.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Micropipette.
- Đồng hồ bấm giờ.

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Tube lấy bệnh phẩm	Cái	1,000
2	Sinh phẩm chẩn đoán	Test	1,000
3	Bông	Kg	0,001
4	Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
5	Panh	Cái	0,0001
6	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
7	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
8	Pipet nhựa	Cái	2,000

9	Mũ	Cái	0,100
10	Khẩu trang	Cái	0,100
11	Găng tay	Đôi	3,000
12	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
13	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
14	Dung dịch rửa tay	ml	8,000
15	Khăn lau tay	Cái	0,010
16	Bút viết kính	Cái	0,020
17	Bút bi	Cái	0,010
18	Bật lửa	Cái	0,010
19	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
20	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
21	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000

3. Bệnh phẩm

Máu toàn phần có chống đông.

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh.

2. Tiến hành kỹ thuật

Sinh phẩm chẩn đoán của SD BIOLINE

2.1. Lấy thanh thử ra khỏi bao, để trên mặt phẳng khô sạch.

2.2. Lấy 5µl máu đầu ngón tay bằng ống hút đến ngang vạch có sẵn hoặc máu tĩnh mạch cho vào giếng tròn S.

2.3. Nhỏ 4 giọt buffer vào giếng vuông bên cạnh.

2.4. Đọc kết quả sau 15 -30 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Âm tính

Chỉ có vạch C.

2. Dương tính

- *P. falciparum* dương tính: có 2 vạch C và *P.f*

- *P. vivax* dương tính: có 2 vạch C và *P.v*

- Nhiễm phối hợp cả *P. falciparum* và *P.vivax*: có 3 vạch : vạch C, *P. f* và *P.v*

3. Không giá trị

Không có vạch C. Phải tiến hành làm lại xét nghiệm với một thanh thử khác.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Không đọc kết quả quá 30 phút vì có thể dẫn đến kết quả sai.

52. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH HbsAg (VIÊM GAN VIRUS B)

I. NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm nhanh HBsAG là xét nghiệm sắc ký miễn dịch in vitro một bước để định tính HBsAg trong huyết tương hoặc huyết thanh.

II. CHUẨN BỊ

1. Dụng cụ:

- Micropipet.
- Đầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kit thử chẩn đoán nhanh virus HBsAg

3. Mẫu thử: Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.

III. TIẾN HÀNH

- Bước 01: Lấy dụng cụ xét nghiệm ra khỏi túi đựng và đặt lên mặt phẳng khô

- Bước 02: Nhỏ 100 µl mẫu thử theo phương thẳng đứng vào vùng nhỏ mẫu (S) của kit thử và bắt đầu tính thời gian.

- Bước 03: Sau khi nhỏ mẫu thử, sẽ thấy màu tía di chuyển đến cửa sổ đọc kết quả. Đọc vạch đỏ xuất hiện đọc kết quả trong vòng 20 phút. Không đọc kết quả sau 30 phút, vì có thể cho kết quả sai.

IV. ĐỌC KẾT QUẢ

- **Dương tính:** Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).

- **Âm tính:** Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng. Không thấy xuất hiện vạch thử.

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của kháng thể kháng HBsAg có trong mẫu bệnh phẩm.

Thời gian đọc kết quả ở trên dựa vào việc đọc kết quả xét nghiệm ở nhiệt độ phòng 15 - 30°C. Nếu nhiệt độ phòng thấp hơn nhiều so với 15°C thì thời gian đọc nên kéo dài đến 30 phút.

- Kết quả không có giá trị:

Nếu không xuất hiện vạch màu tím (C) ở cửa đọc kết quả sau khi tiến hành xong quá trình xét nghiệm thì kết quả được coi là không có giá trị.

Nguyên nhân có thể do không thực hiện đúng theo hướng dẫn, hoặc dụng cụ xét nghiệm bị hỏng do quá hạn dùng. Mẫu thử cần được xét nghiệm lại./.

53. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH HCV (VIÊM GAN VIRUS C)

I. NGUYÊN TẮC

Xét nghiệm HCV là xét nghiệm định tính, miễn dịch theo nguyên lý dòng chảy một chiều được dùng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng HCV trong huyết thanh hoặc huyết tương. Xét nghiệm HCV chẩn đoán viêm gan C.

II. CHUẨN BỊ

1. Dụng cụ

- Micropipet.
- Dầu col vàng.
- Bút viết trên kính.

2. Hóa chất: Bộ kit thử chẩn đoán nhanh virus HCV

3. Mẫu thử: Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.

III. TIẾN HÀNH

- **Bước 01:** Lấy kit thử ra khỏi túi kín đựng sản phẩm và sử dụng kit thử càng nhanh càng tốt.

Lưu ý: Để đạt kết quả tốt nhất, toàn bộ quá trình xét nghiệm phải được hoàn thành trong vòng 1 giờ kể từ khi mở túi đựng sản phẩm.

- **Bước 02:** Cầm kit thử sao cho mũi tên trên kit thử hướng chỉ xuống: nhúng kit thử theo phương thẳng đứng vào mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, hoặc huyết tương) đựng trong ống nghiệm và ngâm ít nhất 10-15 giây. Tiếp theo đặt kit thử trên mặt phẳng nằm ngang không hút nước và bắt đầu tính thời gian.

Lưu ý: Không nhúng kit thử sâu quá vạch tối đa (MAX line – đầu mũi tên) trên kit thử.

- **Bước 03:** Chờ cho đến khi các vạch đỏ xuất hiện trên kit thử. Đọc kết quả trong vòng 10 phút.

Lưu ý: Nồng độ kháng thể kháng HCV thấp có thể cho kết quả là một vạch mờ ở vùng kết quả (T) sau khi đã kéo thêm thời gian chờ kết quả. Tuy nhiên không sử dụng kết quả sau 20 phút.

IV. ĐỌC KẾT QUẢ

- **Dương tính:** Xuất hiện 02 vạch đỏ rõ rệt, 01 vạch ở vùng chứng gọi là vạch chứng (C), vạch kia ở vùng kết quả gọi là vạch thử (T).

- **Âm tính:** Chỉ xuất hiện 01 vạch chứng. Không thấy xuất hiện vạch thử.

Lưu ý: Độ đậm màu của vạch thử (T) có thể sẽ khác nhau tùy theo nồng độ của kháng thể kháng HCV có trong mẫu bệnh phẩm.

- Kết quả không có giá trị:

Nếu không xuất hiện vạch màu tím (C) ở cửa đọc kết quả sau khi tiến hành xong quá trình xét nghiệm thì kết quả được coi là không có giá trị.

Nguyên nhân có thể do không thực hiện đúng theo hướng dẫn, hoặc dụng cụ xét nghiệm bị hỏng do quá hạn dùng. Mẫu thử cần được xét nghiệm lại./.

54. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TEST NHANH SHIPHYLIS-TP (GIANG MAI)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm nhanh Shiphylis - TP dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch in vitro để xác định định tính kháng thể kháng xoắn khuẩn Giang mai có trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

II. CHỈ ĐỊNH

Người hiến máu

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ Huyết học – Truyền máu
- KTV khoa Huyết học – Truyền máu

2. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương.

- Lấy 2ml máu tĩnh mạch vào ống serum hoặc ống EDTA
- Ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 - 10 phút.

3. Trang thiết bị, dụng cụ

- Máy ly tâm
- Pipett
- Đầu côn
- Đồng hồ
- Găng tay, mũ áo bảo hộ
- Bút

4. Sinh phẩm: Trước khi xét nghiệm để sinh phẩm ổn định ở nhiệt độ phòng (18-30°C) khoảng 15 - 30 phút.

5. Phiếu xét nghiệm

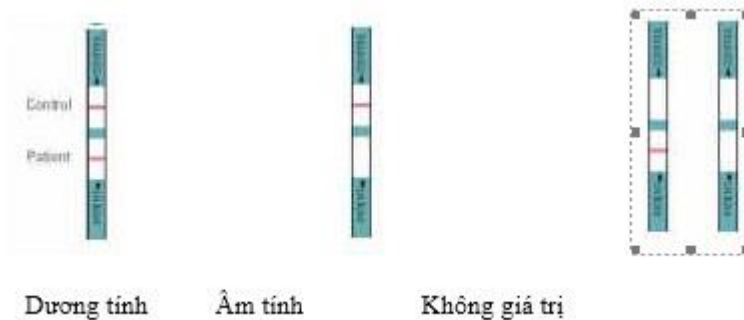
Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Lấy que thử phù hợp với số lượng mẫu cần xét nghiệm.
- Ghi tên hoặc mã bệnh nhân vào vùng viết mã
- Bóc bỏ vỏ bọc bảo vệ
- Để que thử trên mặt phẳng khô sạch
- Nhỏ mẫu thử: Cho 50 µl mẫu bệnh phẩm vào vị trí đặt mẫu.

Sau 15' đọc kết quả và không đọc kết quả quá 30 phút.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ



- Kiểm tra chất lượng mẫu thử: để đảm bảo giá trị xét nghiệm, vạch control phải xuất hiện.

- Nếu vạch control không chuyển sang màu đỏ hay hồng, test xét nghiệm này không có giá trị và cần phải thực hiện lại xét nghiệm.

- Mẫu không phản ứng : chỉ có một vạch màu hồng ở vùng control → Trả kết quả Âm tính cho người bệnh.

- Mẫu phản ứng: xuất hiện 1 vạch màu hồng ở vùng Control và 1 vạch màu hồng ở vùng patient → Trả kết quả Dương tính cho người bệnh.

55. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM TEST NHANH HIV/AIDS

1. Mục đích

- Giám sát dịch tễ HIV/AIDS xác định tỉ lệ nhiễm HIV nhằm theo dõi sự phân bố, phát triển của dịch nhằm cung cấp thông tin cho việc lập kế hoạch, dự phòng, không chế và đánh giá hiệu quả các biện pháp phòng chống HIV/AIDS.

- Xét nghiệm HIV/AIDS để đảm bảo an toàn truyền máu và các chế phẩm của máu, cấy ghép mô và nội tạng.

- Xét nghiệm HIV/AIDS xác định trình trạng nhiễm HIV của người được làm xét nghiệm.

- Dùng cho mục đích nghiên cứu.

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng cho các phòng xét nghiệm.

3. Trách nhiệm

- Cán bộ KTV xét nghiệm.

+ Tiến hành lấy mẫu, tiếp nhận mẫu, biện pháp để thực hiện kiểm tra xét nghiệm.

+ Tham gia chương trình ngoại kiểm tra xét nghiệm do bộ y tế phê duyệt.

+ Thống kê báo cáo số liệu, ghi chép lưu giữ biểu mẫu sổ sách xét nghiệm đầy đủ theo đúng quyết định

- Trưởng khoa xét nghiệm:

+ Tổ chức triển khai và quản lý đảm bảo chất lượng xét nghiệm HIV.

+ Chỉ đạo giám sát hoạt động của xét nghiệm HIV. Tham gia kiểm tra định kỳ hoạt động xét nghiệm tại các cơ sở xét nghiệm trên địa bàn phụ trách.

4. Nội dung, quy trình xét nghiệm HIV

4.1 Nguyên lý xét nghiệm

Mẫu xét nghiệm HIV/AIDS được gọi là (+) với kháng thể HIV khi mẫu đó phản ứng với một xét nghiệm bằng sinh phẩm có độ nhạy cao hoặc có phản ứng với cả 2 loại sinh phẩm có nguyên lý hoặc chuẩn bị kháng nguyên khác. Sản phẩm 1 có độ nhạy cao, sản phẩm 2 có độ đặc hiệu cao.

4.2 Trang thiết bị, thuốc thử

- Test nhanh SD-HIV^{4/2} – 3.0.

- Test nhanh Detesmine HIV

4.3 Mẫu bệnh phẩm

- Mẫu máu toàn phần có chứa chất chống đông EDTA hoặc Heparin
- Huyết thanh hoặc huyết tương được ly tâm từ máu toàn phần.

4.4 Quy trình xét nghiệm

- Lấy dụng cụ ra khỏi túi đựng đặt lên bề mặt khô phẳng.
- Dùng Pipet mao quản 20 μ l, nhỏ 20 μ l máu toàn phần hoặc 10 μ l huyết tương (huyết thanh) vào giếng mẫu.
- Nhỏ 4 giọt dung môi (khoảng 120 μ l) thẳng đứng vào giếng mẫu.
- Khi xét nghiệm bắt đầu hoạt động sẽ nhìn thấy 1 vạch màu đỏ di chuyển ngang trên cửa sổ kết quả ở phần giữa thanh thử.
- Đọc kết quả trong vòng 10-20p sau khi nhỏ dung môi mẫu.
- Nhận định kết quả:
 - + Vạch máu xuất hiện ở phần bên trái cửa sổ. Kết quả cho biết xét nghiệm hoạt động tốt đây là vạch chứng
 - + Vạch màu xuất hiện ở giữa phần bên phải của cửa sổ kết quả đây là vạch thử 2 và vạch thử 1
 - + Kết quả (-) xuất hiện 1 vạch chứng
 - + Kết quả (+) xuất hiện 2 vạch gần vạch chứng và vạch thử 1 trong cửa sổ hoặc xuất hiện 2 vạch gần vạch chứng và vạch thử 2 trong cửa sổ hoặc xuất hiện 3 vạch gần vạch chứng vạch thử 1 và vạch thử 2.

5. Kiểm tra chất lượng và hiệu chuẩn

Xây dựng quy trình thao tác chuẩn Standar phù hợp với các kỹ thuật đang thực hiện theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

6. Các yếu tố ảnh hưởng

- Chất lượng mẫu bệnh phẩm
- Chất lượng thanh thử xét nghiệm
- Quản lý sinh phẩm theo đúng quy định.

7. Tổ chức thực hiện

- Phòng xét nghiệm HIV sàng lọc
- Cán bộ chương trình HIV
- Phòng tư vấn trước xét nghiệm HIV.

56. QUY TRÌNH KỸ THUẬT HEV IGM TEST NHANH (VIÊM GAN E)

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện kháng thể IgM kháng virus viêm gan E (HEV) trong huyết thanh hoặc huyết tương.

2. Nguyên lý

Phát hiện kháng thể IgM kháng virus viêm gan E dựa trên nguyên lý của kỹ thuật sắc ký miễn dịch.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Trưởng khoa, phó khoa.

- Cán bộ quản lý chất lượng, tổ trưởng chuyên môn chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1 Trang thiết bị

- Micropipette 50 µl -100 µl.

- Máy ly tâm thường.

- Đồng hồ bấm giây.

2.2 Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao

Thực hiện xét nghiệm 01 mẫu/lần.

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị
1	Bông	Kg
2	Dây garô	Cái
3	Tube đựng bệnh phẩm	Cái

4	Sinh phẩm chẩn đoán	Test
5	Khẩu hao sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng	Test
6	Ngoại kiểm chứng (nếu có)*	
7	Đầu côn 200 µl	Cái
8	Giấy thấm	Cuộn
9	Giấy xét nghiệm	Tờ
10	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Tờ
11	Bút viết kính	Cái
12	Bút bi	Cái
13	Mũ	Cái
14	Khẩu trang	Cái
15	Găng tay	Đôi
16	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi
17	Quần áo bảo hộ	Bộ
18	Dung dịch nước rửa tay	ml
19	Cồn sát trùng tay nhanh	ml
20	Dung dịch khử trùng	ml
21	Khăn lau tay	Cái

3. Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh:

Từ chối những bệnh phẩm không đạt yêu cầu:

2. Tiến hành kỹ thuật

Bộ sinh phẩm HEV IgM Rapid test (VD).

Các bước	Xét nghiệm phát hiện HEV IgM nhanh
1	Lấy số lượng thanh thử cần thiết.
2	Nhỏ huyết thanh hoặc huyết tương vào vùng nhỏ bệnh phẩm theo hướng dẫn.
3	Nhỏ dung dịch đệm phản ứng vào giếng (2) theo hướng dẫn.
4	Nhỏ dung dịch đệm vào giếng (3) theo hướng dẫn.
5	Chờ 15 phút đọc kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Dương tính: Xuất hiện 2 vạch đỏ ở phần chứng và phần bệnh phẩm.
- Âm tính: Chỉ có 1 vạch đỏ ở phần chứng.
- Không xác định:
 - + Chỉ có 1 vạch đỏ ở phần bệnh phẩm.
 - + Không có vạch đỏ nào xuất hiện ở phần chứng và phần bệnh phẩm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Thời gian đọc KQ [◇] ghi lại thời gian làm xét nghiệm và thời gian đọc kết quả để tránh dương tính giả và âm tính giả.
- Chất lượng bệnh phẩm: những mẫu bệnh phẩm tan huyết sẽ ảnh hưởng đến chất lượng và kết quả xét nghiệm.

57. HAV IGM TEST NHANH (VIÊM GAN A)

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện kháng thể virus viêm gan A trong máu bằng huyết thanh, huyết tương.

2. Nguyên lý

Trong quá trình xét nghiệm, mẫu bệnh phẩm được nhỏ vào vùng nhận mẫu của test thử nhờ mao dẫn, IgM kháng HAV, nếu có trong mẫu phẩm sẽ gặp và phản ứng với cộng hợp kháng thể chuột kháng IgM người tại vùng cộng hợp. Hòa hợp tạo thành tiếp tục di chuyển gặp và phản ứng với kháng nguyên HAV tái tổ hợp tại vùng kết quả làm xuất hiện một vạch màu đỏ tại đây – gọi là vạch kết quả - thông báo kết quả là HAV dương tính. Nếu không xuất hiện vạch đỏ này, kết quả là âm tính.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Trưởng khoa, phó khoa.

- Cán bộ quản lý chất lượng, tổ trưởng chuyên môn chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1 Trang thiết bị

- Micropipette 50 µl -100 µl.

- Máy ly tâm thường.

- Đồng hồ bấm giây.

2.2 Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao

Thực hiện xét nghiệm 01 mẫu/lần.

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị
1	Bông	Kg

2	Dây garô	Cái
3	Tube đựng bệnh phẩm	Cái
4	Sinh phẩm chẩn đoán	Test
5	Khẩu hao sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng	Test
6	Ngoại kiểm chứng (nếu có)*	
7	Đầu côn 200 µl	Cái
8	Giấy thấm	Cuộn
9	Giấy xét nghiệm	Tờ
10	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Tờ
11	Bút viết kính	Cái
12	Bút bi	Cái
13	Mũ	Cái
14	Khẩu trang	Cái
15	Găng tay	Đôi
16	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi
17	Quần áo bảo hộ	Bộ
18	Dung dịch nước rửa tay	ml
19	Cồn sát trùng tay nhanh	ml
20	Dung dịch khử trùng	ml

3. Bệnh phẩm

Huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh:

Từ chối những bệnh phẩm không đạt yêu cầu:

2. Tiến hành kỹ thuật

Bộ sinh phẩm HAV IgM Rapid test.

Các bước	Xét nghiệm phát hiện HAV test nhanh
1	Lấy số lượng thanh thử cần thiết.
2	Nhỏ huyết thanh hoặc huyết tương vào vùng nhỏ bệnh phẩm theo hướng dẫn.
3	Nhỏ dung dịch đệm phản ứng vào giếng (2) theo hướng dẫn.
4	Chờ 15 phút đọc kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Dương tính: Xuất hiện 2 vạch đỏ ở phần chứng và phần bệnh phẩm.
- Âm tính: Chỉ có 1 vạch đỏ ở phần chứng.
- Không xác định:
 - + Chỉ có 1 vạch đỏ ở phần bệnh phẩm.
 - + Không có vạch đỏ nào xuất hiện ở phần chứng và phần bệnh phẩm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Thời gian đọc KQ [◇] ghi lại thời gian làm xét nghiệm và thời gian đọc kết quả để tránh dương tính giả và âm tính giả.
- Chất lượng bệnh phẩm: những mẫu bệnh phẩm tan huyết sẽ ảnh hưởng đến chất lượng và kết quả xét nghiệm.

58. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM NHUỘM GRAM

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên sự khác nhau về cấu trúc của vách, nên trong quá trình nhuộm Gram, vi khuẩn Gram dương sẽ giữ được phức hợp tím gentians-iod không bị tẩy màu bởi alcohol, trong khi vi khuẩn Gram âm không giữ được phức hợp này. Do vậy, kết quả sau khi nhuộm là vi khuẩn Gram dương vẫn giữ được màu tím của gentians, còn vi khuẩn Gram âm bắt màu hồng của fucshin.

II. CHUẨN BỊ

1. Dụng cụ: Kính hiển vi, que cấy đầu tròn, đèn cồn, diêm, lam kính, chậu rửa, bình xịt nước cất.

2. Hoá chất:

- Dung dịch tím gentians
- Dung dịch Lugol
- Dung dịch cồn 95%
- Dung dịch fucshin kiềm

3. Mẫu thử: dịch cơ thể hoặc mẫu sinh thiết bị nghi ngờ nhiễm khuẩn. Bệnh phẩm cần xác định vi khuẩn Gram âm (*E.coli*, *Salmonella*,.. Gram dương (*S. aureus*, *Bacillus cereus*)

III. TIẾN HÀNH

- **Bước 1:** Dàn tiêu bản và cố định tiêu bản:

Dùng que cấy vô trùng lấy một ít bệnh phẩm vào 1 giọt nước muối sinh lý ở giữa phiến kính, để khô trong phòng thí nghiệm. Cố định tiêu bản bằng cách hơi nhanh trên ngọn lửa đèn cồn 2-3 lần để gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính. Việc cố định nhằm 3 mục đích: giết chết vi khuẩn, gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính và làm vết bôi bắt màu tốt hơn vì các tế bào chết bắt màu tốt hơn các tế bào sống.

- **Bước 2:** Nhuộm màu:

- Nhỏ dd tím Gentian lên tiêu bản đã cố định, để 01 phút, nghiêng tiêu bản đổ dd tím Gentian, rửa nước nhẹ .

- Nhỏ dd Lugol lên tiêu bản, để 30 giây, nghiêng tiêu bản đổ dd Lugol, rửa nước nhẹ .

- **Bước 3:** Khử màu:

- Nhỏ vài giọt cồn 95⁰ lên tiêu bản, nghiêng phiến kính qua lại để cho cồn chảy từ cạnh phiến kính bên này sang cạnh phiến kính bên kia giữ khoảng 30 giây (cho đến khi vừa thấy mất màu), mắt quan sát màu tím, khi nào thấy màu tím trên đồ phiến vừa phai hết thì rửa nước ngay.

- Nhuộm tiếp dd Fuchsin bằng cách nhỏ dd Fuchsin lên tiêu bản, để 01 phút, nghiêng tiêu bản đổ thuốc nhuộm, rửa nước kỹ .

- Để khô tiêu bản, soi kính hiển vi với vật kính dầu X 100.

IV. ĐỌC KẾT QUẢ

- Các vi khuẩn bắt màu tím là Gram dương,

- Các vi khuẩn bắt màu hồng là Gram âm .

IV. NGUYÊN NHÂN SAI LẦM

- Có những sai lầm trong phương pháp nhuộm Gram làm cho vi khuẩn Gram dương nhuộm thành màu hồng của vi khuẩn Gram âm, đó là:

+ Phết vi khuẩn ở lứa cây quá già (trên 24h), cấu trúc vách vi khuẩn gram dương không còn bền chặt như ở lứa cây trẻ, do vậy mất khả năng ngăn cản sự tẩy màu của cồn.

+ Dung dịch lugol không còn tốt, do đã pha quá lâu và mất đi iod. Trường hợp này có thể nhận biết khi dung dịch lugol không còn sậm màu.

+ Tẩy màu bằng cồn quá lâu đã làm cho vi khuẩn Gram dương cũng bị tẩy màu.

- Có những sai lầm trong phương pháp nhuộm Gram làm cho vi khuẩn Gram âm nhuộm thành màu tím của vi khuẩn Gram dương, đó là:

+ Phết vi khuẩn quá dày làm cho cồn không thể tẩy màu toàn bộ vi khuẩn trong phết nhuộm.

+ Tẩy màu bằng alcohol quá ngắn hay dung dịch alcohol bị pha quá loãng làm cho màu Gram không được tẩy khỏi tế bào vi khuẩn./.

59. QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM AFB TRỰC TIẾP NHUỘM ZIEHL-NEELSEN

1. Mục tiêu

- Kỹ thuật viên xét nghiệm soi trực tiếp tìm AFB bằng phương pháp nhuộm Ziehl-Meelsen
- Các chỉ tiêu chuẩn và đánh giá được chất lượng tiêu bản.

2. Trách nhiệm

2.1 Các bộ kỹ thuật viên xét nghiệm

- Đảm bảo mã hóa đúng trong quy trình sao lưu và thực hiện kỹ thuật
- Thực hiện an toàn chính xác
- Đảm bảo an toàn trong quy trình thao tác.

2.2 Trưởng khoa xét nghiệm

- Kiểm tra giám sát chất lượng xét nghiệm
- Báo cáo kết quả xét nghiệm
- Quản lý dữ liệu xét nghiệm
- Xây dựng, cập nhật các quy trình cho phù hợp với điều kiện phòng xét nghiệm.

3. Phạm vi áp dụng

Áp dụng cho tất cả các phòng xét nghiệm

4. Thuật ngữ

AFB: Trục khuẩn lao.

5. Nội dung

5.1. Nguyên lý xét nghiệm

Mycobacteria(trong đó có vi khuẩn lao) có lớp sáp dày nên khó bắt màu với thuốc nhuộm thông thường và có tính kháng cồn acid, phương pháp nhuộm ZN do thuốc nhuộm có chứa phenol và hơi nóng khi nhuộm nên Fuchsin ngấm qua lớp vách của vi khuẩn, khi tẩy màu bằng dung dịch cồn acid 3% AFB vẫn giữ được màu đỏ Fuchsin trong khi các tế bào vi khuẩn khác bị tẩy mất màu đỏ, khi nhuộm nền tạo sự tương phản giữa AFB màu đỏ trên nền đỏ xanh sang.

5.2. Trang thiết bị và thuốc thử

5.2.1. Trang thiết bị

- Hút vô trùng MINI(HOTE-LAMINAR) Ký hiệu HLM-39912
- Kính hiển vi
- Nồi hấp ướ
- Đèn cồn
- Đồng hồ
- Thùng đ

5.2.2. Hóa chất thuốc nhuộm

- Dung dịch Fuchsin carbon
- Dung dịch tẩy màu (có hai loại)
- + Cồn tẩy(cồn acid HCL)
- + Acid tẩy(dung dịch H₂SO₄25%)
- Dung dịch nhuộm nền(Xanh Methylene).

5.2.3. Mẫu bệnh phẩm

Bệnh phẩm đạt chất lượng: có nhầy mủ, thể tích mẫu ít nhất 2ml.

5.2.4. Quy trình xét nghiệm

- Nhận bệnh phẩm tại khoa xét nghiệm.
- Mẫu phải đựng trong cốc/Tube theo quy định.
- Mẫu phải đầy đủ thông tin trên thân dụng cụ chứa mẫu.
- Phiếu xét nghiệm phải ghi đầy đủ thông tin người bệnh.
- Thông tin trên mẫu và phiếu xét nghiệm phải phù hợp.

*** Hướng dẫn bệnh nhân lấy đờm**

- Xét nghiệm trực tiếp: Cốc nhựa sạch miệng rộng, nắp xoay, nhựa trong dẻo, cứng, khó vỡ, dễ tiêu hủy.

- Phải ghi rõ họ tên người bệnh, số buồng, khoa vào thành bên lọ đờm, Tube đựng bệnh phẩm.

- Nơi lấy bệnh phẩm: Có khu vực riêng cho người bệnh lấy đờm

- Thời điểm lấy các mẫu đờm: Mẫu 01 lấy tại chỗ, mẫu số 02 cách mẫu số 01 là 2 giờ.

- Lấy mẫu đờm vào buổi sáng, trước khi khạc đờm xúc miệng bằng nước lọc.

*** Dàn và nhuộm tiêu bản**

- Đánh số tiêu bản lên lam kính.
- Đánh số tiêu bản và số mẫu lên phần đầu mờ của lam kính bằng bút chì đen HB.
- Số xét nghiệm tử số/ mẫu số.
- + Tử số: Số thứ tự từ đầu năm đến cuối năm.
- + Mẫu số: Số mẫu đờm.
- Dàn tiêu bản.
- Chọn mẫu đờm đặc nhất bằng que phết đờm.
- + Đặt lên lam kính dàn đều, mịn, không quá dày, quá mỏng, hình ovan, kích thước 1x2 cm.
- + Để khô tự nhiên
- + Cố định tiêu bản bằng nhiệt.

*** Quy trình nhuộm**

- Xếp tiêu bản lên giá nhuộm theo trình tự, mặt tiêu bản hướng lên trên, mỗi mẻ 10-12 tiêu bản
- Mỗi tiêu bản xếp cách nhau khoảng 1cm.
- Phủ giấy tiêu bản với dung dịch fuchsin 0.3%.
- Hơ nóng cho đến khi hơi bay lên.
- Để trong vòng 5 phút.
- Rửa nhẹ nhàng dưới vòi nước chảy, nghiêng tiêu bản để ráo nước.
- Phủ đầy dung dịch cồn tẩy HCL 3% để 3 phút.
- Rửa nước dưới vòi nước chảy nhẹ (Nếu còn màu đỏ hoặc màu hồng tẩy lần 2 thời gian 1,3 phút.
- Nhuộm nền bằng xanh methylen, 30 giây đến 1 phút.
- Rửa nước, nghiêng để ráo nước trên bề mặt.
- Để tiêu bản khô tự nhiên.

*** Quy định đọc kết quả xét nghiệm trực tiếp**

- Nhập thông tin của bệnh nhân tên mã bệnh, ngày/ tháng, Bác sỹ chỉ định xét nghiệm, người làm kỹ thuật xét nghiệm.
- Phiếu xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin nội dung

5.2.5. Hiệu chuẩn, tiêu chuẩn đánh giá chất lượng tiêu bản

1. Chất lượng tiêu bản

Có trên 25 bạch cầu đa nhân/ VT có độ phóng đại x 100 (Vật kính x 10, thị kính x 10 hay 3-4 bạch cầu đa nhân/ 2VT với vật kính dầu.

2. Kỹ thuật làm tiêu bản

- Kích cỡ
- Độ mịn
- Độ dày
- Nhuộm và tẩy màu
- Độ sạch.

5.2.6. Kiểm tra chất lượng

Kiểm tra tất cả các quy trình đã thực hiện.

5.2.7. Các yếu tố ảnh hưởng

- Mẫu bệnh phẩm:
 - + Chất lượng màu
 - + Thời gian lấy mẫu.
- Thời gian lấy mẫu:
 - + Chất lượng thuốc nhuộm
 - + Thuốc nhuộm có nhiều căn.
- Kỹ thuật nhuộm

5.2.8. Tổ chức thực hiện

- Trưởng khoa xét nghiệm kiểm tra giám sát và tổ chức thực hiện
- Các kỹ thuật viên xét nghiệm thực hiện đúng quy trình xét nghiệm.

60. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ROTAVIRUS TEST NHANH

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện kháng nguyên rota virus trong bệnh phẩm phân.

2. Nguyên lý

Phát hiện kháng nguyên rota virus dựa trên nguyên lý của kỹ thuật sắc ký miễn dịch.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Trưởng khoa, phó khoa; Cán bộ có trình độ đại học trở lên

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Que tăm bông lấy bệnh phẩm.
- Ống nghiệm (được cung cấp sẵn trong bộ kit).
- Nước muối sinh lý.
- Đồng hồ bấm giây.

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao

TT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị
1	Tăm bông vô trùng	Cái
2	Lọ vô trùng	Cái
3	Khay đựng bệnh phẩm	Cái
4	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái
5	Sinh phẩm chẩn đoán	Test

TT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị
6	Khẩu hao sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng	Test
7	Giấy thấm	Cuộn
8	Giấy xét nghiệm	Tờ
9	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Tờ
10	Bút viết kính	Cái
11	Bút bi	Cái
12	Mũ	Cái
13	Khẩu trang	Cái
14	Găng tay	Đôi
15	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi
16	Quần áo bảo hộ	Bộ
17	Dung dịch nước rửa tay	ml
18	Cồn sát trùng tay nhanh	ml
19	Dung dịch khử trùng	ml
20	Khăn lau tay	Cái

3. Bệnh phẩm: Phân của người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy phân với lượng tối thiểu 100 ml (hạt đậu), trẻ em có thể lấy tăm bông quệt hậu môn

2. Tiến hành kỹ thuật

Bộ sinh phẩm chẩn đoán SD Bioline Rotavirus (VD).

Các bước	Xét nghiệm phát hiện Rota virus
1.	- Đưa test cần làm để ổn định ở nhiệt độ phòng trước khi làm. Lấy thanh xét nghiệm cần thiết.
2.	- Hút hút dung dịch pha loãng bệnh phẩm theo hướng dẫn
3.	- Lấy khoảng 50 mg phân bằng que tăm bông vô trùng nhúng vào ống nghiệm có chứa dung dịch pha loãng.
4.	- Xoay tròn que tăm bông để bệnh phẩm hoà vào dung dịch pha loãng theo hướng dẫn. Đậy nắp ống nghiệm đã có bệnh phẩm lại.
5.	- Nhỏ dung dịch bệnh phẩm đã pha loãng vào giếng nhỏ bệnh phẩm (có chữ S).
6.	- Đọc kết quả sau 10-20 phút. Quá 20 phút, kết quả không có giá trị.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Âm tính: Chỉ 1 một đường màu xuất hiện ở vùng chứng C.
- Dương tính: 2 đường màu xuất hiện ở vùng chứng (C) và vùng thử nghiệm (T).
- Không có giá trị: Không thấy xuất hiện đường màu nào hoặc chỉ có một đường màu tại vùng thử nghiệm (T). Khi đó phải tiến hành làm lại xét nghiệm với một thanh thử khác.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Âm tính giả: Lượng virus đào thải ra ngoài quá thấp, hoặc do sai sót trong quá trình lấy và xử lý mẫu.

61. QUY TRÌNH KỸ THUẬT HỒNG CẦU, BẠCH CẦU TRONG PHÂN SOI TƯƠI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện hồng cầu, bạch cầu trong phân.

2. Nguyên lý

Nhận định hồng cầu, bạch cầu trong phân khi làm tiêu bản soi tươi dưới kính hiển vi quang học dựa trên hình thể, kích thước, và cấu tạo.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Kính hiển vi quang học
- Tủ an toàn sinh học cấp 2

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Que cấy	Cái	2,000
3	Lam kính	Cái	1,000
4	Lá kính	Cái	2,000
5	Bông	Kg	0,001
6	Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000

7	Panh	Cái	0,0001
8	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
9	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
10	Nước muối sinh lý	ml	5,000
11	Lugol	ml	2,000
12	Pipet nhựa	Cái	2,000
13	Axit ngậm lam	ml	10,000
14	Mũ	Cái	0,020
15	Khẩu trang	Cái	0,020
16	Găng tay	Đôi	3,000
17	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
18	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
19	Bút viết kính	Cái	0,020
20	Bút bi	Cái	0,010
21	Bật lửa	Cái	0,010
22	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
23	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
24	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
25	Khăn lau tay	Cái	0,010
26	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
27	QC (nếu thực hiện) *		0,1
28	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số

lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Nhỏ dung dịch NaCl 9‰ và dung dịch Lugol 1% lên trên một lam kính.

2.2. Dùng que lấy một lượng phân (bao kín đầu que) hòa đều với giọt NaCl 9‰ đến khi có màu đục, làm tương tự đối với giọt Lugol 1%.

2.3. Đặt lá kính lên trên giọt dung dịch.

2.4. Quan sát kính hiển vi ở vật kính 40X.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

- Hồng cầu: hình tròn kích thước 7-8 μ m màu hồng nhạt, trung tâm nhạt màu.
- Hồng cầu thoái hóa: bờ răng cưa không đều.
- Bạch cầu đa nhân hình tròn kích thước lớn 10 - 15 μ m.
- Bạch cầu đơn nhân hình tròn, bầu dục, đa giác kích thước 20 - 25 μ m.

2. Âm tính

Không tìm thấy hồng cầu, bạch cầu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

- Nhỏ quá nhiều dung dịch lên lam kính.
- Làm tiêu bản quá dày hoặc quá mỏng.

2. Xử trí

Đặt tiêu bản trên tờ báo vẫn đọc được chữ là đạt. Nếu làm tiêu bản quá dày sẽ khó soi, làm mỏng quá sẽ bỏ sót không phát hiện được hồng cầu, bạch cầu.

62. QUY TRÌNH KỸ THUẬT HỒNG CẦU TRONG PHÂN TEST NHANH

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện hồng cầu trong phân.

2. Nguyên lý

Phát hiện hemoglobin trong phân dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Đồng hồ bấm giờ (nếu có)
- Tủ an toàn sinh học cấp 2

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Que cấy	Cái	2,000
3	Bông	Kg	0,001
4	Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
5	Panh	Cái	0,0001
6	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
7	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001

9	Sinh phẩm chẩn đoán	Test	1,000
10	Pipet nhựa	Cái	2,000
11	Ống nghiệm thủy tinh	Ống	1,000
12	Mũ	Cái	0,020
13	Khẩu trang	Cái	0,020
14	Găng tay	Đôi	3,000
15	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
16	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
17	Bút viết kính	Cái	0,020
18	Bút bi	Cái	0,010
19	Bật lửa	Cái	0,010
20	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
21	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
22	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
23	Khăn lau tay	Cái	0,010
24	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
25	QC (nếu thực hiện) *		0,1
26	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (xem Phụ lục 4).

2. Tiến hành kỹ thuật

Bộ sinh phẩm chẩn đoán Hemosure iFOB Test.

2.1. Lấy thanh thử ra khỏi bao để ở nhiệt độ phòng .

2.2. Dùng que lấy bệnh phẩm (bao kín đầu que) nhúng que vào lọ dung dịch trong test thử, lắc đều.

2.3. Nhỏ 3 giọt dung dịch trên vào thanh thử.

2.4. Đọc kết quả trong vòng 5- 10 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

Xuất hiện 2 vạch trên thanh thử ở vị trí C và T.

2. Âm tính

Xuất hiện 1 vạch trên thanh thử ở vị trí C.

3. Không có giá trị

Không thấy xuất hiện vạch nào trên thanh thử. Phải tiến hành làm lại xét nghiệm với một thanh thử khác.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Đọc kết quả sau quá 10 phút dễ gây phản ứng dương tính giả. Nên có đồng hồ đặt giờ để đọc kết quả đúng giờ qui định.

63. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐƠN BÀO ĐƯỜNG RUỘT SOI TƯƠI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện đơn bào đường ruột gây bệnh (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Isospora belli*, *Trichomonas intestinalis*...) trong phân.

2. Nguyên lý

Đơn bào đường ruột gây bệnh được phát hiện qua hình thể, kích thước, tính chất di động và bắt màu trong môi trường có NaCl 9‰ và Lugol 1% soi dưới kính hiển vi quang học.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Kính hiển vi quang học
- Tủ an toàn sinh học cấp 2

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Que cấy	Cái	2,000
3	Lam kính	Cái	2,000
4	Lá kính	Cái	2,000
5	Bông	Kg	0,001
6	Cồn 900 (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000

7	Panh	Cái	0,0001
8	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
9	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
10	Nước muối sinh lý	ml	5,000
11	Lugol	ml	2,000
12	Pipet nhựa	Cái	2,000
13	Axit ngậm lam	ml	10,000
14	Mũ	Cái	0,020
15	Khẩu trang	Cái	0,020
16	Găng tay	Đôi	3,000
17	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
18	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
19	Bút viết kính	Cái	0,020
20	Bút bi	Cái	0,010
21	Bật lửa	Cái	0,010
22	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
23	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
24	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
25	Khăn lau tay	Cái	0,010
26	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
27	QC (nếu thực hiện) *		0,1
28	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao

(với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (xem Phụ lục 4).

Lưu ý: - Không lấy phân làm XN khi uống thuốc Bismuth hoặc Barium.

- Mẫu phân làm xét nghiệm tránh lẫn nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Nhỏ giọt dung dịch NaCl 9 % và giọt dung dịch Lugol 1% lên trên một lam kính.

2.2. Dùng que lấy một lượng phân (bao kín đầu que) hòa đều vào dung dịch NaCl 9 % đến khi có màu đục, làm tương tự đối với dung dịch Lugol.

2.3. Đặt lá kính lên trên dung dịch.

2.4. Quan sát kính hiển vi ở vật kính 40X.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

Quan sát ở vật kính 40X tìm thể hoạt động và bào nang của đơn bào. Thể hoạt động của Amip kích thước 13-30 μ m chuyển động bằng chân giả.

- Thể hoạt động của *Giardia* hình thìa kích thước 9-21 x 5-15 μ m chuyển động bằng roi.

- *Trichomonas* hình quả lê kích thước 5-12 x 5-6 μ m chuyển động được nhờ các roi.

- Bào nang *Amip* hình tròn có vỏ dày bất màu vàng, kích thước trung bình 12 μ m bên trong có từ 2-4 nhân.

- Bào nang *Giardia* hình bầu dục kích thước 10-14 x 7-9 μ m, bên trong có từ 2-4 nhân có thể thấy vết roi cuộn lại trong bào nang.

2. Âm tính

Không thấy thể hoạt động, bào nang của đơn bào đường ruột.

Lưu ý

Trong trường hợp xét nghiệm lần đầu âm tính, để phát hiện KST gây bệnh có thể xét nghiệm 2 mẫu phân tiếp theo trong vòng từ 7-10 ngày.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

- Nhỏ quá nhiều dung dịch lên lam kính .
- Tiêu bản quá dày hoặc quá mỏng.

2. Xử trí

Đặt tiêu bản trên tờ báo vẫn đọc được chữ là đạt. Nếu làm tiêu bản quá dày sẽ khó soi, làm mỏng sẽ bỏ sót không phát hiện được đơn bào đường ruột.

64. QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐƠN BÀO ĐƯỜNG RUỘT NHUỘM SOI

I. Mục đích

Phát hiện đơn bào đường ruột gây bệnh (*Isospora belli*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora*) trong phân.

II. Nguyên lý

Một số đơn bào đường ruột có đặc điểm kháng cồn/acid nên có thể được phát hiện bằng kỹ thuật nhuộm Ziehl-Neelsen.

III. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Kính hiển vi quang học.
- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Đồng hồ bấm giờ.

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Lam kính	Cái	2,000
3	Dầu soi kính	ml	1,000
4	Xylen lau kính	ml	1,000
5	Thuốc nhuộm đỏ Fucsin	ml	5,000
6	Axit H ₂ SO ₄	ml	10,000
7	Que cấy	Cái	1,000

8	Cồn tẩy 96 độ	ml	10,000
9	Thuốc nhuộm Xanh methylen	ml	5,000
10	Bông	Kg	0,001
11	Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
12	Đèn cồn	Cái	0,0001
13	Panh	Cái	0,0001
14	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
15	Hộp vận chuyên bệnh phẩm	Cái	0,0001
16	Mũ	Cái	0,020
17	Khẩu trang	Cái	0,020
18	Găng tay	Đôi	3,000
19	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
20	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
21	Axit ngậm lam	ml	10,000
22	Ống nghiệm thủy tinh	Ống	1,000
23	Bút viết kính	Cái	0,020
24	Bút bi	Cái	0,010
25	Bật lửa	Cái	0,010
26	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Tờ	0,001
27	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
28	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
29	Khăn lau tay	Cái	0,030
30	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
31	QC (nếu thực hiện) *		0,1
32	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

IV. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (xem Phụ lục 4).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Dùng que gỗ lấy phân phết lên lam kính, để khô.

2.2. Nhỏ dung dịch đỏ Fucsin phủ kín lên trên bệnh phẩm.

2.3. Rửa nước.

2.4. Tẩy màu bằng H_2SO_4 5% đến khi hết màu đỏ.

2.5. Rửa nước

2.6. Nhỏ dung dịch xanh methylen.

2.7. Rửa nước.

2.8. Quan sát dưới kính hiển vi vật kính 10X- 100X.

V. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

- Nang trứng của *Cryptosporidium* hình tròn bắt màu đỏ kích thước từ 4-6 μ m.

- Nang trứng của *Cyclospora* hình tròn bắt màu đỏ kích thước từ 8-10 μ m.

- Nang trứng của *Isospora* hình bầu dục bắt màu đỏ kích thước 20- 30 x 10-19 μ m.

2. Âm tính

Không tìm thấy đơn bào đường ruột.

Lưu ý: Trong trường hợp xét nghiệm lần đầu âm tính, để phát hiện KST gây bệnh có thể xét nghiệm 2 mẫu phân tiếp theo trong vòng từ 7-10 ngày.

VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

Tẩy chưa hết màu đỏ Fucsin.

2. Xử trí

Nếu bệnh phẩm dày để đủ thời gian nhưng vẫn còn màu đỏ Fucsin cần phải tẩy lại lần 2 bằng H₂SO₄ 5% đến khi bệnh phẩm phai hết màu đỏ.

65. QUY TRÌNH KỸ THUẬT TRÙNG GIUN, SÁN SOI TƯƠI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện trùng giun, sán trong phân.

2. Nguyên lý

Nhận định trùng giun, sán dựa vào hình thể, kích thước, cấu tạo và tính chất bắt màu khi soi tươi.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

3. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

Kính hiển vi quang học

Tủ an toàn sinh học cấp 2

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Que cấy	Cái	2,000
3	Lam kính	Cái	2,000
4	Lá kính	Cái	2,000
5	Bông	Kg	0,001
6	Cồn 900 (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
7	Panh	Cái	0,0001

8	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
9	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
10	Nước muối sinh lý	ml	5,000
11	Lugol	ml	2,000
13	Pipet nhựa	Cái	2,000
14	Axit ngậm lam	ml	10,000
15	Mũ	Cái	0,020
16	Khẩu trang	Cái	0,020
17	Găng tay	Đôi	3,000
18	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
19	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
20	Bút viết kính	Cái	0,020
21	Bút bi	Cái	0,010
22	Bật lửa	Cái	0,010
23	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
24	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
25	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
26	Khăn lau tay	Cái	0,010
27	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
28	QC (nếu thực hiện) *		0,1
29	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (xem Phụ lục 4).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Nhỏ dung dịch NaCL 9 ‰ và dung dịch Lugol 1% lên trên 1 lam kính.

2.2. Dùng que lấy một lượng phân (bao kín đầu que) hòa đều vào giọt dung dịch NaCL 9 ‰ đến khi có màu đục, làm tương tự đối với giọt dung dịch Lugol 1%.

2.3. Đặt lá kính lên trên giọt dung dịch.

2.4. Quan sát kính hiển vi ở vật kính 10X- 40X.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

- Trứng giun đũa hình tròn hoặc bầu dục kích thước 35-50 x 45-75 μm , ngoài cùng là lớp albumin xù xì bắt màu vàng, vỏ dày, trong là khối nhân sẫm màu. Ngoài ra có thể còn gặp trứng giun đũa mất tầng albumin.

- Trứng giun đũa không thụ tinh hình bầu dục kích thước 43- 47 x 85-95 μm . Vỏ mỏng ít xù xì bên trong có những tế bào hoàng thể.

- Trứng giun móc hình bầu dục kích thước 40-60 μm màu trong vỏ mỏng, trong là khối nhân phân chia từ 2-4 phần .

- Trứng giun tóc hình bầu dục, kích thước 22-50 μm giống hình quả cau, màu vàng vỏ dày, 2 cực có 2 nắp.

- Trứng sán lá gan nhỏ bắt màu vàng hình bầu dục một đầu có nắp một đầu có gai, kích thước 27-35 x 12-19 μm .

- Trứng sán lá gan lớn hình bầu dục kích thước lớn từ 130-150 x 63-90 μm , màu vàng nhạt vỏ mỏng, một đầu có nắp.

- Trứng sán lá phổi hình bầu dục màu vàng nâu sẫm kích thước lớn từ 80-120 x 50- 70 μm , ở đầu có nắp trong trứng thấy có 1 đám tế bào.

- Trứng sán dây hình tròn vỏ dày màu nâu sẫm kích thước từ 36-51 μm .

2. Âm tính

Không thấy trứng giun, sán.

Lưu ý

Trong trường hợp xét nghiệm lần đầu âm tính, để phát hiện KST gây bệnh có thể xét nghiệm 2 mẫu phân tiếp theo trong vòng từ 7-10 ngày.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

- Nhỏ quá nhiều dung dịch lên lam kính.
- Làm tiêu bản quá dày hoặc quá mỏng.

2. Xử trí

Đặt tiêu bản trên tờ báo vẫn đọc được chữ là đạt. Nếu làm tiêu bản quá dày sẽ khó soi, làm mỏng quá sẽ bỏ sót trứng giun sán.

66. QUY TRÌNH KỸ THUẬT SOI TRỨNG GIUN SOI TẬP TRUNG

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện trứng giun đũa, tóc, móc trong phân.

2. Nguyên lý

Nước muối bão hòa có tỷ trọng lớn hơn tỷ trọng của trứng giun đũa, tóc, móc vì vậy sẽ làm cho trứng giun nổi lên trên bề mặt của dung dịch và bám vào bề mặt của lá kính.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Kính hiển vi
- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Đồng hồ bấm giờ

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
Que cấy	Cái	2,000
Lam kính	Cái	1,000
Lá kính	Cái	1,000
Bông	Kg	0,001
Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000

Panh	Cái	0,0001
Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
Nước muối bão hòa	ml	15,000
Sinh phẩm chẩn đoán	Test	1,000
Pipet nhựa	Cái	2,000
Axit ngậm lam	ml	10,000
Mũ	Cái	0,020
Khẩu trang	Cái	0,020
Găng tay	Đôi	3,000
Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
Bút viết kính	Cái	0,020
Bút bi	Cái	0,010
Bật lửa	Cái	0,010
Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
Khăn lau tay	Cái	0,010
Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
QC (nếu thực hiện) *		0,1
EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương

trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

3. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (xem Phụ lục 4).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Cho nước muối bão hòa vào lọ đựng bệnh phẩm (1/3 lọ), dùng que đánh tan bệnh phẩm.

2.2. Nhỏ nước muối bão hòa vào gần đầy lọ gạt bỏ bệnh phẩm nổi trên bề mặt sau đó nhỏ tiếp dung dịch vào đầy miệng lọ.

2.3. Đậy lá kính lên trên lọ bệnh phẩm để thời gian 15 phút.

2.4. Nhấc lá kính đặt trên lam kính.

2.5. Quan sát kính hiển vi ở vật kính 10X.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

Quan sát tất cả các vi trường ở vật kính 10X tìm trứng giun, chọn vi trường có số trứng giun cao nhất để đánh giá kết quả:

- Trứng giun dũa hình tròn hoặc bầu dục kích thước 35-50 x 45-75 μ m, ngoài cùng là lớp Albumin xù xì bắt màu vàng, vỏ dày, trong là khối nhân sẫm màu. Ngoài ra có thể còn gặp trứng giun dũa mất tầng Albumin.

- Trứng giun móc hình bầu dục kích thước 40-60 μ m màu trong vỏ mỏng, trong là khối nhân phân chia từ 2-4.

- Trứng giun tóc hình bầu dục, kích thước 22-50 μ m giống hình quả cau, màu vàng vỏ dày, 2 cực có 2 nắp.

Ghi tên trứng giun và mức độ nhiễm:

- 1 trứng giun / vi trường: (+)

- 2 - 5 trứng giun / vi trường: (++)

- 6 - 20 trứng giun / vi trường: (+++)

- > 20 trứng giun / vi trường: (++++)

2. Âm tính

Không thấy trứng giun

Lưu ý

Trong trường hợp xét nghiệm lần đầu âm tính, để phát hiện KST gây bệnh có thể xét nghiệm 2 mẫu phân tiếp theo trong vòng từ 7-10 ngày.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

- Không gạt bỏ bệnh phẩm nổi trên miệng lọ, kết quả có thể bị sai.
- Để thời gian quá ngắn trứng giun chưa kịp nổi trên bề mặt dung dịch.

2. Xử trí

- Gạt bỏ sạch bệnh phẩm nổi trên mặt dung dịch.
- Để đủ thời gian quy định.

67. QUY TRÌNH KỸ THUẬT STRONGYLOIDES SETRCORALIS (GIUN LƯỜN) ẤU TRÙNG SOI TƯƠI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện ấu trùng *S. stercoralis* trong phân.

2. Nguyên lý

Ấu trùng *S. stercoralis* được phát hiện dựa vào hình thể, kích thước và chuyển động khi soi tươi phân.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Kính hiển vi quang học
- Tủ an toàn sinh học cấp 2

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Que cấy	Cái	2,000
3	Lam kính	Cái	1,000
4	Lá kính	Cái	1,000
5	Bông	Kg	0,001
6	Cồn 900 (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
7	Panh	Cái	0,0001

8	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
9	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
10	Nước muối sinh lý	ml	5,000
11	Pipet nhựa	Cái	2,000
12	Axit ngậm lam	ml	10,000
13	Mũ	Cái	0,020
14	Khẩu trang	Cái	0,020
15	Găng tay	Đôi	3,000
16	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
17	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
18	Bút viết kính	Cái	0,020
19	Bút bi	Cái	0,010
20	Bật lửa	Cái	0,010
21	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
22	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
23	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
24	Khăn lau tay	Cái	0,010
25	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
26	QC (nếu thực hiện) *		0,1
27	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật)

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Phân

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dùng que sạch lấy phân ở nhiều vị trí, cho vào lọ sạch có dán nhãn ghi đủ các thông tin tên, tuổi người bệnh, khoa phòng gửi xét nghiệm, ngày giờ lấy bệnh phẩm.

Thời gian để mẫu làm xét nghiệm không quá 1 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Nhỏ dung dịch NaCL 9 ‰ lên lam kính.

2.2. Dùng que lấy bệnh phẩm hòa lên trên dung dịch NaCL 9 ‰ đến khi đục.

2.3. Đặt lá kính lên trên giọt dung dịch.

2.4. Quan sát kính hiển vi ở vật kính 10X- 40X.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

- Ấu trùng giun lươn có kích thước 16 x 220µm, chuyển động.

- Phân biệt ấu trùng giun lươn và ấu trùng giun móc, mỏ: hình thể 2 loại ấu trùng khó có thể phân biệt, nhưng ấu trùng giun lươn xuất hiện ngay sau khi phân mới bài xuất còn ấu trùng giun móc, mỏ xuất hiện muộn (18- 24 giờ).

2. Âm tính

Không thấy ấu trùng giun lươn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Sai sót

- Nhỏ quá nhiều dung dịch lên lam kính.

- Làm tiêu bản quá dày hoặc quá mỏng.

2. Xử trí

Nhỏ dung dịch vừa phải.

68. QUY TRÌNH KỸ THUẬT NẤM SOI TƯƠI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Nhận định sơ bộ vi nấm.

2. Nguyên lý

Nhận định sơ bộ vi nấm dựa vào hình thể, kích thước, cấu tạo và tính chất bắt màu.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh - Ký sinh trùng

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Kính hiển vi.
- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Máy li tâm

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Lọ lấy bệnh phẩm	Lọ	1,000
2	Lam kính	Cái	2,000
3	Lá kính	Cái	2,000
4	Bông	Kg	0,001
5	Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
6	Panh	Cái	0,0001
7	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
8	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001

9	Hóa chất (KOH, mực tàu, nước muối sinh lý)	ml	5,000
10	Pipet nhựa	Cái	2,000
11	Axit ngậm lam	ml	10,000
12	Ống nghiệm thủy tinh	Ống	1,000
13	Mũ	Cái	0,020
14	Khẩu trang	Cái	0,020
15	Găng tay	Đôi	3,000
16	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
17	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
18	Bút viết kính	Cái	0,020
19	Bút bi	Cái	0,010
20	Bật lửa	Cái	0,010
21	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
22	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
23	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
24	Khăn lau tay	Cái	0,010
25	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000
26	QC (nếu thực hiện) *		0,1
27	EQAS (nếu thực hiện) *		0,005

* Ghi chú:

- Chi phí nội kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình nội kiểm (QC) là 1/10 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lượng ≥ 10 mẫu cho 1 lần tiến hành kỹ thuật).

- Chi phí ngoại kiểm cho quy trình kỹ thuật được tính cụ thể theo Chương trình ngoại kiểm (EQAS) là 1/200 tổng chi phí dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao (với số lần ngoại kiểm trung bình 2 lần/1 năm).

3. Bệnh phẩm

Máu, dịch, mủ, đờm, phân, nước tiểu, da, tóc, móng.

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (xem Phụ lục 5).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Lấy bệnh phẩm cho lên lam kính: tùy từng loại bệnh phẩm sử dụng hóa chất khác nhau.

- Bệnh phẩm da, tóc, móng: Lấy bệnh phẩm lên lam kính, nhỏ dung dịch KOH 20% lên trên bệnh phẩm.

- Bệnh phẩm dịch tiết(lấy bằng que tăm bông), phân, đờm: Nhỏ NaCl 9‰ lên trên lam kính, lấy bệnh phẩm hòa lên trên giọt dung dịch đến khi đục.

- Bệnh phẩm là dịch não tủy nghi ngờ nhiễm *Cryptococcus spp* làm tiêu bản bằng mực tàu.

- Đối với bệnh phẩm là các chất dịch lỏng lấy trực tiếp bệnh phẩm lên lam kính.

2.2. Lấy lá kính đặt lên trên giọt dung dịch.

2.3. Quan sát kính hiển vi vật kính 10X - 40X.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dương tính

- Tế bào nấm men hình tròn hoặc bầu dục kích thước 3- 5µm nảy chồi hoặc không.

- Tế bào nấm men có quầng sáng bao quanh khi làm tiêu bản mực tàu.

- Sợi nấm giả (Sợi nhánh được tạo thành từ các chỗ thắt).

- Nấm sợi có vách ngăn (sợi nhánh được tách ra cách vách ngăn).

2. Âm tính

Không thấy vi nấm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Đối với bệnh phẩm da, tóc, móng để thời gian ngắn chưa tan hết phải để thêm thời gian.

- Tiêu bản mực tàu làm quá đen phải pha thêm nước muối sinh lý.

69. QUY TRÌNH KỸ THUẬT INFLUENZA VIRUS A, B TEST NHANH

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện virus cúm typ A và typ B trong bệnh phẩm đường hô hấp.

2. Nguyên lý

Phát hiện và phân biệt kháng nguyên của virus cúm typ A và typ B dựa trên nguyên lý của kỹ thuật sắc ký miễn dịch.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ xét nghiệm có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Tủ an toàn sinh học cấp 2

- Đồng hồ bấm giây

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

Thực hiện xét nghiệm 01 mẫu/lần.

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị	Số lượng
1	Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)	ml	10,000
2	Panh	Cái	0,0001
3	Khay đựng bệnh phẩm	Cái	0,0001
4	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái	0,0001
5	Sinh phẩm chẩn đoán	Test	1,000
6	Khẩu hao sinh phẩm cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng	Test	0,200

7	Axit ngâm rửa	ml	10,000
8	Ống nghiệm thủy tinh	Ống	1,000
9	Mũ	Cái	0,020
10	Khẩu trang	Cái	0,020
11	Găng tay	Đôi	2,000
12	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi	0,020
13	Quần áo bảo hộ	Bộ	0,001
14	Bút viết kính	Cái	0,020
15	Bút bi	Cái	0,010
16	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Quyển	0,001
17	Cồn sát trùng tay nhanh	ml	1,000
18	Dung dịch nước rửa tay	ml	8,000
19	Khăn lau tay	Cái	0,010
20	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ	2,000

3. Bệnh phẩm

Dịch ty hầu, dịch họng của người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu phiếu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

- Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh: xem chi tiết phụ lục 2.
- Từ chối những bệnh phẩm không đạt yêu cầu: xem chi tiết phụ lục 6.

2. Tiến hành kỹ thuật

Bộ sinh phẩm SD Bioline Influenza Antigen (VD)

2.1. Dùng que tăm bông lấy dịch ty hầu hoặc dịch họng

2.2. Đặt que lấy mẫu vào ống đựng mẫu, ghi mã bệnh phẩm tương ứng

2.2. Nhỏ dung dịch pha loãng vào ống đựng mẫu, trộn đều với bệnh phẩm

2.3. Đặt thanh xét nghiệm vào ống đựng mẫu theo đúng vạch quy định

2.4. Đọc kết quả sau 10 - 15 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Kết quả được chấp nhận khi xuất hiện màu rõ ràng, sắc nét ở vạch chứng C

+ Dương tính cúm A: khi xuất hiện màu ở vạch C và vạch A

+ Dương tính cúm B: khi xuất hiện màu ở vạch C và vạch B

+ Âm tính: khi xuất hiện màu ở vạch chứng C và không xuất hiện màu ở các vạch còn lại.

+ Không có giá trị: vạch chứng C không xuất hiện sau 15-10 phút thì cần kiểm tra lại hóa chất, các bước thực hiện, làm lại test khác

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Đọc kết quả trước hoặc sau thời gian qui định có thể làm sai lệch kết quả.

- Test xét nghiệm cắm quá sâu, quá vạch qui định có thể làm kết quả sai lệch

- Tham khảo thêm hướng dẫn của nhà sản xuất

70. QUY TRÌNH KỸ THUẬT VIBRIO CHOLERAЕ (TẢ) NHUỘM SOI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Nhận định sơ bộ hình ảnh vi khuẩn vi khuẩn thuộc chi Vibrio trực tiếp từ bệnh phẩm.

2. Nguyên lý

Đánh giá hình thể, kích thước, tính chất bắt màu bằng kỹ thuật nhuộm và soi dưới kính hiển vi quang học.

II. CHUẨN BỊ

Phương tiện, hóa chất như ví dụ dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Người thực hiện

Người thực hiện Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ xét nghiệm có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh.

2.2. Trang thiết bị

Tủ an toàn sinh học cấp 2

Kính hiển vi quang học

Dụng cụ sấy lam (nếu có)

2.3. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao

- Lọ lấy bệnh phẩm.
- Que lấy bệnh phẩm.
- Lam kính.
- Dầu soi kính.
- Xylen lau kính.
- Nước muối sinh lý.
- Thuốc nhuộm đỏ fuchsin.
- Thuốc nhuộm tím gentian.
- Cồn tẩy 95 độ.
- Lugol.
- Bông.
- Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ).
- Đèn cồn.
- Panh.
- khay đựng bệnh phẩm.

- Hộp vận chuyển bệnh phẩm.
- Mũ.
- Khẩu trang.
- Găng tay.
- Găng tay xử lý dụng cụ.
- Quần áo bảo hộ.
- Acid ngâm lam.
- Ống nghiệm thủy tinh.
- Bút viết kính.
- Bút bi.
- Bật lửa.
- Sổ lưu kết quả xét nghiệm.
- Cồn sát trùng tay nhanh.
- Dung dịch nước rửa tay.
- Giấy trả kết quả xét nghiệm.
- Bệnh phẩm: Phân của người bệnh.
- Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin theo mẫu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.
- Lấy bệnh phẩm: Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh
- Tiến hành kỹ thuật: Chuẩn bị tiêu bản
- Nhuộm:
 - + Nhuộm tím gentian trong vòng 60 giây
 - + Đổ toàn bộ phần thuốc nhuộm thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
 - + Hỗ trợ bắt màu tím bằng lugol trong vòng 30 giây
 - + Đổ toàn bộ phần lugol thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
 - + Tẩy màu bằng cồn 95% cho đến khi vừa hết màu tím phai ra
 - + Đổ toàn bộ phần cồn thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
 - + Nhuộm tương phản bằng fuchsin trong vòng 60 giây
 - + Đổ toàn bộ phần thuốc nhuộm thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
 - + Để tiêu bản khô và soi.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- *Vibrio cholerae* có hình ảnh phẩy khuẩn, bắt màu Gram âm (màu đỏ).
- Khi có hình ảnh nghi ngờ trên tiêu bản nhuộm soi, cần đề nghị nuôi cấy để chẩn đoán xác định.

V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Sai sót: *Vibrio cholerae* có thể bắt màu không đúng do tẩy còn chưa đủ hoặc làm lam quá dày; thuốc nhuộm không đảm bảo chất lượng.

Một số trường hợp trực khuẩn do cố định quá lâu tạo hình ảnh gần giống phẩy khuẩn.

- Xử trí:

+ Tuân thủ đúng các bước của quy trình nhuộm Gram.

+ Kiểm tra chất lượng thuốc nhuộm hàng tuần với chủng chuẩn

71. QUY TRÌNH KỸ THUẬT EISSERIA GONORRHOEAE (LẬU) NHUỘM SOI

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Nhận định sơ bộ hình ảnh vi khuẩn và các hình ảnh tế bào (nếu có) trực tiếp từ bệnh phẩm.

2. Nguyên lý

Đánh giá hình thể, kích thước, tính chất bắt màu, cách sắp xếp đặc trưng của vi khuẩn *N. gonorrhoeae* và các hình ảnh tế bào (nếu có) bằng kỹ thuật nhuộm và soi dưới kính hiển vi quang học.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Trưởng khoa, phó khoa; Cán bộ có trình độ đại học trở lên

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện, hóa chất dưới đây hoặc tương đương.

2.1. Trang thiết bị

- Bàn phụ khoa
- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Kính hiển vi quang học
- Đèn phụ khoa

2.2. Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm)

STT	Chi phí hóa chất, vật tư tiêu hao	Đơn vị
1	Lam kính	Cái
2	Dầu soi kính	ml
3	Xylen lau kính	ml

4	Dung dịch tím Gentian 1%	ml
5	Dung dịch Lugol 2%	ml
6	Dung dịch cồn tẩy Aceton 25%	ml
7	Dung dịch Fuchsin 1%	ml
8	Bông	kg
9	Cồn 90°(vệ sinh dụng cụ)	ml
10	Đèn cồn	Cái
11	Panh	Cái
12	Khay đựng bệnh phẩm	Cái
13	Hộp vận chuyển bệnh phẩm	Cái
14	Mũ	Cái
15	Mỏ vịt (to, vừa và nhỏ)	Cái
16	Thùng đựng dung dịch khử khuẩn ngâm mỏ vịt	
17	Khẩu trang	Cái
18	Găng tay	Đôi
19	Găng tay xử lý dụng cụ	Đôi
20	Quần áo bảo hộ	Bộ
21	Bút viết kính	Cái
22	Bút bi	Cái
23	Bật lửa	Cái
24	Sổ lưu kết quả xét nghiệm	Tờ
25	Cồn sát trùng tay nhanh	ml
26	Dung dịch nước rửa tay	ml
27	Khăn lau tay	Cái
28	Giấy trả kết quả xét nghiệm	Tờ

3. Bệnh phẩm

Mủ hoặc dịch tiết đường sinh dục, hậu môn, họng...

4. Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu yêu cầu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất ở trên.

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch niệu đạo, dịch âm đạo, dịch họng, dịch gỉ mắt nghi nhiễm lậu cầu...

2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị tiêu bản nhuộm
- Nhuộm tím Gentian trong vòng 60 giây
- Đổ toàn bộ phần thuốc nhuộm thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
- Hỗ trợ bắt màu tím bằng Lugol trong vòng 30 giây
- Đổ toàn bộ phần Lugol thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
- Tẩy màu bằng cồn Aceton 25% cho đến khi vừa hết màu tím phai ra
- Đổ toàn bộ phần cồn thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
- Nhuộm tương phản bằng Fuchsin trong vòng 60 giây
- Đổ toàn bộ phần thuốc nhuộm thừa rồi rửa nhẹ tiêu bản dưới vòi nước chảy
- Để tiêu bản khô và soi.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Nghĩ đến *Neisseria gonorrhoeae* khi quan sát thấy hình ảnh cầu khuẩn Gram âm xếp đôi, hình hạt cà phê nằm trong và ngoài bạch cầu đa nhân trung tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Vi khuẩn nhạt màu có thể do tẩy quá lâu hoặc nhuộm chưa đủ (thời gian).
- Nếu vi khuẩn tối màu có thể do tẩy chưa đủ thời gian.
- Mỗi mẻ nhuộm không nên quá nhiều tiêu bản, các tiêu bản để cách nhau ít nhất 1 cm.