

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

**GIÁO TRÌNH**

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 1150/QĐ-CDYTN ngày 18 tháng 11 năm 2021 của Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội)*

**MÔ ĐUN: KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM  
NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM Y HỌC  
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG**

**Hà Nội, năm 2020**

## **TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN**

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

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

## LỜI GIỚI THIỆU

*Kiểm tra chất lượng xét nghiệm là mô đun sau khi sinh viên đã học xong các môn cơ sở ngành, các modul chuyên môn ngành: hóa sinh, huyết học, vi sinh, kí sinh trùng. Về tính chất của mô đun: Cung cấp kiến thức cơ bản về cách tiến hành để kiểm tra, đánh giá về chất lượng của xét nghiệm thực hiện.*

*Giáo trình được biên soạn theo chương trình khung đã được phê duyệt cho sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học bao gồm 15 bài trong đó có 5 bài lý thuyết và 10 bài thực hành, mỗi bài có mục tiêu học tập và các nội dung thiết yếu. Trong đó, nội dung thể hiện được các yêu cầu: kiến thức cơ bản, chính xác khoa học, cập nhật được tiến bộ khoa học hiện tại và thực tiễn. Sách dùng để đào tạo sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học đồng thời cũng là tài liệu tham khảo tốt cho sinh viên các chuyên ngành khác quan tâm đến công tác xét nghiệm.*

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

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

*Xin trân trọng cảm ơn!*

....., ngày.....tháng.....năm.....

CÁC TÁC GIẢ

## **Tham gia biên soạn**

**1. Chủ biên: ThS. Hà Thị Nguyệt Minh**

2. TS. Bùi Huy Tùng

3. ThS. Nguyễn Thị Hà Giang

4. ThS. Nguyễn Thị Hồng Ngọc

## MỤC LỤC

|  |     |
|--|-----|
| GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN SỐ 27.....   | 6   |
| PHẦN LÝ THUYẾT.....  | 9   |
| BÀI 1: CÁC KHÁI NIỆM VỀ QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM.....                     | 9   |
| BÀI 2: ĐÁNH GIÁ MỨC CHẤT LƯỢNG PHÒNG XÉT NGHIỆM.....                           | 21  |
| BÀI 3: KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HÓA SINH.....                            | 24  |
| BÀI 4: KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM.....                                     | 34  |
| BÀI 5. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC.....                           | 36  |
| PHẦN THỰC HÀNH.....  | 45  |
| BÀI 1: THỰC HÀNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC TRONG XÉT NGHIỆM.....                   | 46  |
| BÀI 2: THỰC HÀNH KIỂM TRA ĐỘ XÁC THỰC.....                                     | 55  |
| BÀI 3. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC.....                           | 64  |
| BÀI 4. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC TẾ BÀO ....                    | 72  |
| BÀI 5. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG TRANG THIẾT BỊ MÁY MÓC.....                         | 76  |
| BÀI 6. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG HÓA CHẤT, THUỐC NHUỘM.....                          | 86  |
| BÀI 7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY.....                            | 93  |
| BÀI 8. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC THỬ, XÁC ĐỊNH TÍNH CHẤT SINH VẬT HÓA HỌC..... | 110 |
| BÀI 9. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG KỸ THUẬT KHÁNG SINH ĐỒ.....                         | 129 |
| BÀI 10. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG GIAI ĐOẠN SAU XÉT NGHIỆM.....                      | 139 |

## GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN

**Tên mô đun: KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM**

**Mã mô đun: XN 11**

**Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của môn học/mô đun:**

- Vị trí: là mô đun chuyên ngành bắt buộc trong Chương trình đào tạo ngành Kỹ thuật xét nghiệm y học trình độ cao đẳng. Sau khi sinh viên đã học xong các môn cơ sở ngành, các modul chuyên môn ngành: hóa sinh, huyết học, vi sinh, ký sinh trùng.

- Tính chất: cung cấp kiến thức cơ bản về cách tiến hành để kiểm tra, đánh giá, hành động khắc phục về kiểm tra chất lượng của xét nghiệm.

**Mục tiêu của môn học/mô đun:**

**\* Kiến thức**

- Trình bày được khái niệm độ tin cậy, độ chính xác, độ xác thực của một xét nghiệm, khái niệm về đảm bảo chất lượng xét nghiệm.

- Trình bày được các loại sai số và các cách tiến hành kiểm tra chất lượng xét nghiệm, tính toán được các thông số đánh giá chất lượng xét nghiệm, nhận định được kết quả sau kiểm tra và đưa ra các hành động khắc phục.

- Mô tả được nội dung của kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm).

**\* Kỹ năng**

- Thực hiện được các nội dung kiểm tra chất lượng xét nghiệm (nội kiểm) theo đúng quy trình

- Xây dựng được biểu đồ Levey – Jennings và Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm.

- Thực hiện được quy trình kiểm tra chất lượng bệnh phẩm, thiết bị, dụng cụ, hóa chất, môi trường nuôi cấy.

**\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

**Nội dung và phương pháp đánh giá mô đun**

**1. Nội dung mô đun**

Phân lý thuyết

| TT | Tên chương/bài | Thời gian (giờ) |           |           |    |
|----|----------------|-----------------|-----------|-----------|----|
|    |                | Tổng số         | Lý thuyết | Thực hành | KT |

|   |  |           |           |          |          |
|---|--|-----------|-----------|----------|----------|
| 1 | Các khái niệm về quản lý chất lượng xét nghiệm         | 5         | 5         | 0        | 0        |
| 2 | Đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học         | 10        | 10        | 0        | 0        |
| 3 | Kiểm tra chất lượng xét nghiệm hóa sinh                | 5         | 5         | 0        | 0        |
| 4 | Kiểm tra chất lượng xét nghiệm vi sinh – ký sinh trùng | 5         | 5         | 0        | 0        |
| 5 | Kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học               | 5         | 4         | 0        | 1        |
|   | <b>Tổng</b>  | <b>30</b> | <b>29</b> | <b>0</b> | <b>1</b> |

### Phân thực hành

| TT | Tên chương/bài   | Thời gian (giờ) |           |          |
|----|--|-----------------|-----------|----------|
|    |  | Tổng số         | Thực hành | Kiểm tra |
| 1  | Thực hành kiểm tra độ chính xác trong xét nghiệm hóa sinh          | 3               | 3         | 0        |
| 2  | Thực hành kiểm tra độ xác thực trong xét nghiệm hóa sinh           | 2               | 2         | 0        |
| 3  | Kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học đông máu – truyền máu     | 5               | 4         | 1        |
| 4  | Kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học tế bào                    | 3               | 3         | 0        |
| 5  | Kiểm tra chất lượng: trang thiết bị máy móc                        | 2               | 2         | 0        |
| 6  | Kiểm tra chất lượng hóa chất, thuốc nhuộm                          | 3               | 3         | 0        |
| 7  | Kiểm tra chất lượng môi trường nuôi cấy                            | 2               | 2         | 0        |
| 8  | Kiểm tra chất lượng thuốc thử, xác định tính chất sinh vật hóa học | 2               | 2         | 0        |
| 9  | Kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ                         | 3               | 3         | 0        |
| 10 | Kiểm tra chất lượng giai đoạn sau xét nghiệm                       | 5               | 4         | 1        |
|    | <b>Tổng</b>  | <b>30</b>       | <b>28</b> | <b>2</b> |

### 2. Phương pháp đánh giá mô đun

- Kiến thức: kiểm tra nội dung đã học bằng bộ câu hỏi trắc nghiệm.
- Kỹ năng: kiểm tra thực hành tại phòng thực hành, sử dụng thang điểm.

- Năng lực tự chủ, trách nhiệm (thái độ): đánh giá thái độ thông qua việc sinh viên thực hiện kỹ năng.

- Các kiến thức và kỹ năng trên sẽ được đánh giá qua các bài kiểm tra định kỳ dạng tích hợp và bài kiểm tra kết thúc. Điểm trung bình của các bài kiểm tra định kỳ và bài kiểm tra kết thúc phải đạt  $\geq 5,0$  theo khung điểm 10.

| <b>Nội dung</b> | <b>Điểm KT thường xuyên (hệ số 1)</b> | <b>Điểm định kì (hệ số 2)</b> | <b>Thi (60%)</b>  |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------|---|
| Hình thức       | Tự luận/ trắc nghiệm                  | Tự luận/ KT QTKT tại phòng TH | Tự luận/ Thực hành: KT quy trình kỹ thuật tại phòng thực hành |
| Số lượng        | 1                                     | 2                             | 1   |
| Trọng số        | 40%                                   |                               | 60%   |



## PHẦN LÝ THUYẾT

### BÀI 1: CÁC KHÁI NIỆM VỀ QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM MỤC TIÊU

#### \* Kiến thức

1. Trình bày được các khái niệm của kiểm tra chất lượng xét nghiệm
2. Trình bày được khái niệm, nguyên nhân và cách khắc phục của 4 loại sai số của kiểm tra chất lượng xét nghiệm.

#### \* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

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

### NỘI DUNG

#### 1. Đại cương về kiểm tra chất lượng xét nghiệm

##### 1.1. Hệ thống quản lý chất lượng

Các khái niệm về quản lý chất lượng đang được sử dụng hiện nay đã được khởi phát từ thế kỷ XX và lần đầu xuất hiện từ sự phát triển trong lĩnh vực sản xuất và quá trình mua bán.

Quản lý chất lượng được định nghĩa là "các hoạt động phối hợp để định hướng và kiểm soát một tổ chức nhằm mục đích đảm bảo chất lượng", được đưa ra sử dụng bởi Tổ chức Tiêu chuẩn Quốc tế (International Standard Organization - ISO) và Viện tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm lâm sàng (The Clinical and Laboratory Standard Institute - CLSI). Cả hai tổ chức đều được quốc tế công nhận là các tổ chức tiêu chuẩn phòng xét nghiệm và sẽ được thảo luận trong cuốn sách này.

Hệ thống quản lý chất lượng là một phần không thể thiếu của các tổ chức cung cấp dịch vụ, đặc biệt đối với lĩnh vực xét nghiệm y khoa. Vì vậy, để đảm bảo có thể phát hiện, phòng ngừa và loại bỏ các sự cố, đồng thời đảm bảo độ tin cậy và nâng cao khả năng cung cấp dịch vụ xét nghiệm, phòng xét nghiệm cần áp dụng hệ thống quản lý chất lượng mang tính triệt để và toàn diện, bao gồm tất cả các khía cạnh từ cơ cấu tổ chức, quá trình và quy trình, quản lý nhân sự, lưu kho, thiết bị... cho đến hoạt động khảo sát và đánh giá mức độ hài lòng của khách hàng.

#### \* Các tiêu chuẩn phòng xét nghiệm

ISO (International Standard Organization): Tổ chức này đưa ra nhiều bộ tiêu chuẩn và các hướng dẫn khác nhau phù hợp với nhiều lĩnh vực liên quan tới quản lý và Kỹ thuật. Trong lĩnh vực y tế, ISO 9001:2000 đưa ra những yêu cầu chung về hệ thống quản lý chất lượng và có thể được áp dụng với các phòng xét nghiệm. Tuy

nhiên, có hai bộ Tiêu chuẩn iso được sử dụng cụ thể để làm tiêu chuẩn định hướng đánh giá chất lượng phòng xét nghiệm:

– ISO 15189:2012. Các phòng xét nghiệm y học – Những yêu cầu đặc biệt về chất lượng và năng lực.

- ISO/IEC 17025:2005. Những yêu cầu chung về năng lực xét nghiệm và các phòng xét nghiệm hiệu chuẩn.

CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute): Viện tiêu chuẩn phòng xét nghiệm lâm sàng, hay được viết tắt là CLSI, trước đây được biết đến là Ủy ban Quốc gia về các tiêu chuẩn xét nghiệm lâm sàng (National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS). CLSI đã xây dựng mô hình hệ thống quản lý chất lượng dựa vào 12 thành tố thiết yếu của hệ thống chất lượng (QSE) và hoàn toàn có thể so sánh với các tiêu chuẩn xét nghiệm ISO.

CLSI đã xuất bản hai tài liệu rất quan trọng sử dụng trong phòng xét nghiệm lâm sàng:

- QMS01 Hệ thống quản lý chất lượng của CLSI: Một mô hình cho các dịch vụ xét nghiệm; Hướng dẫn đã phê duyệt – Lần tái bản thứ 4. CLSI document QMS01-A4, Wayne, PA: 2011

- Key to Quality (Chìa khóa đi đến chất lượng): CLSI The Key to Quality TM CLSI product K2Q. Wayne, PA: 2013.

Ngoài ra còn một số các tiêu chuẩn khác như: Cải tiến Phòng xét nghiệm lâm sàng (CLIA 1988), Quy định thực hành tốt phòng xét nghiệm FDA; Tiêu chuẩn phòng xét nghiệm của Ủy ban Hỗn hợp Mỹ; Các chỉ số đánh giá của Tổ chức bệnh học Hoa Kỳ (CAP); Tiêu chuẩn của Hiệp hội các tiêu chuẩn ngân hàng máu Mỹ; Ủy ban của Văn phòng Công nhận tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm Mỹ.

Nhiều quốc gia đã tự xây dựng các tiêu chuẩn chất lượng xét nghiệm dựa vào tình trạng thực tại và áp dụng một cách cụ thể vào các phòng xét nghiệm của quốc gia đó. Một số tiêu chuẩn xét nghiệm chỉ áp dụng đối với lĩnh vực xét nghiệm hoặc chỉ đối với một số xét nghiệm cụ thể.

Tại Việt Nam, Bộ Y tế cùng các chuyên gia ngành xét nghiệm đã xây dựng bộ tiêu chí đánh giá chất lượng phòng xét nghiệm. Bộ tiêu chí này dựa trên các tiêu chuẩn của ISO 15189 và 12 thành tố của mô hình quản lý chất lượng phòng xét nghiệm của CLSI. Bộ tiêu chí này được đưa ra dưới hình thức quyết định 2429/QĐ-BYT của Bộ Y tế ban hành ngày 12/6/2017.

Một phần của quản lý chất lượng là việc đánh giá, đo lường năng lực của phòng xét nghiệm so với các tiêu chuẩn. Các phòng xét nghiệm y học trên thế giới nói chung đều có nhu cầu được công nhận ISO 15189. Tuy nhiên, để đạt được mức công nhận này đòi hỏi phải đủ năng lực và nguồn lực. Trên con đường chuẩn hoá phòng xét nghiệm, phòng xét nghiệm cần từng bước tổ chức thực hiện theo các yêu cầu của ISO hoặc các thành tố chất lượng cũng như bộ tiêu chí của Bộ Y tế. Tất cả các tài liệu trên đều mang lại hiệu quả quản lý, đảm bảo và nâng cao chất lượng xét nghiệm.

Các "Thành tố thiết yếu của hệ thống chất lượng" (Quality System Essentials QSES) lần đầu tiên được giới thiệu bởi Hiệp hội Ngân hàng máu của Mỹ và sau này để hỗ trợ thông qua bởi NCCLS-CLSI. 12 thành tố này là cơ sở cho quản lý chung công việc kỹ thuật của phòng xét nghiệm. Mỗi thành tố bao gồm một tập hợp các thông tin quan trọng đặc trưng cho một hoạt động quản lý chính, cần được thực hiện đúng và phù hợp tùy thuộc công việc kỹ thuật và đặc thù của từng phòng xét nghiệm.



Sơ đồ 12 thành tố thiết yếu của hệ thống quản lý chất lượng

Nội dung trong mỗi thành tố bắt nguồn trực tiếp từ quy định về chất lượng, tiêu chuẩn công nhận và tiêu chuẩn cho các phòng xét nghiệm và các ngân hàng máu. Các tiêu chuẩn này có thể thay đổi theo thời gian, tùy thuộc vào tình hình và xu hướng của y tế toàn cầu. CLSI thường xuyên cập nhật các nội dung quản lý chất lượng bằng cách cập nhật các nội dung mới từ các quy định, chỉ tiêu công nhận, hoặc các yêu cầu tiêu chuẩn vừa được công bố vào mỗi thành tố chất lượng QSE một cách tương ứng (chẳng hạn như ISO15189:2012).

## 1.2. Đảm bảo chất lượng

### - 3 giai đoạn của xét nghiệm:

#### \*Giai đoạn trước khi XN:

+ Chỉ định XN: Đây là bước đầu tiên. Việc chỉ định XN thường do bác sĩ lâm sàng thực hiện căn cứ trên chẩn đoán tình trạng bệnh lý của bệnh nhân

+ Lấy mẫu: Việc lấy mẫu ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm.

+ Mẫu: máu, nước tiểu, dịch....

+ Mỗi loại mẫu đều có các quy định riêng nhằm đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác.

+ Ví dụ với mẫu máu bạn phải lấy đủ số lượng, đúng loại chất chống đông, mẫu không bị vỡ hồng cầu...

+ Vận chuyển mẫu: Vận chuyển mẫu ở đây có thể từ khoa phòng lấy mẫu đến phòng xét nghiệm hoặc từ phòng xét nghiệm này đến phòng xét nghiệm khác.

+ Theo quy định thì mẫu phải đảm bảo được tính nguyên vẹn

+ Nhận mẫu:

- Phải có cán bộ chuyên trách cho việc nhận mẫu.
- Khi nhận mẫu phải đánh giá xem mẫu có đạt không?
- Các thông tin có trùng khớp?
- Mẫu có đủ số lượng không?
- Có bảo quản đúng cách.

+ Trong trường hợp người nhận mẫu đánh giá thấy mẫu không đạt và có thể ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm thì có quyền từ chối nhận mẫu.

+ Xử lý mẫu: Ngay sau khi nhận mẫu, cán bộ phòng xét nghiệm sẽ tiến hành xử lý mẫu sơ bộ như ly tâm, để rã đông... Cần lưu ý là mẫu cần được bảo đảm tránh hư hại hoặc mất mát.

#### \*Giai đoạn trong khi XN

+ QT xét nghiệm:

- Phòng xét nghiệm phải xây dựng quy trình xét nghiệm và thực hiện tuân thủ đúng theo quy trình đã xây dựng.
- Quy trình xét nghiệm phải được xác định giá trị sử dụng. Các cán bộ thực hiện xét nghiệm phải được đào tạo đúng chuyên ngành. Phải hiểu, nắm chắc và thực hiện thành thạo các quy trình xét nghiệm

này.

- + QT kiểm soát chất lượng: Trong đó đặc biệt chú ý tới mẫu QC. Việc QC phải được thực hiện hàng ngày và kết quả mẫu QC không được vi phạm các quy tắc.
- + Không được trả kết quả cho bệnh nhân nếu kết quả QC không phù hợp

*\*Giai đoạn sau khi XN*

- + Báo cáo kết quả: Kết quả phải được báo cáo chính xác và rõ ràng.
  - Tuy nhiên các phòng xét nghiệm vẫn cần phải xây dựng quy trình hướng dẫn truyền dữ liệu để đảm bảo tính chính xác của việc sao chép kết quả xét nghiệm.
- + Lưu giữ hồ sơ:
  - Phòng xét nghiệm phải xây dựng một hệ thống lưu trữ hồ sơ, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân để có thể truy xuất, sử dụng trong tương lai.
  - Sử dụng trên hệ thống điện tử hoặc bằng phương pháp thủ công.
  - Nguyên tắc bảo mật nhưng cũng cần dễ dàng truy xuất.

### **1.3. Kiểm soát chất lượng**

#### **1.3.1. Nội kiểm**

\* Khái niệm mẫu nội kiểm

Mẫu nội kiểm, hay mẫu kiểm soát chất lượng, là công cụ, dung dịch hay chất đông khô được sử dụng trong quá trình kiểm soát chất lượng giúp phòng xét nghiệm giám sát chất lượng hệ thống xét nghiệm và duy trì độ tin cậy của kết quả xét nghiệm. Phòng xét nghiệm cần xây dựng quy trình kiểm soát chất lượng, trong đó các mẫu nội kiểm được lựa chọn, thiết lập, và phân tích tương tự như mẫu bệnh nhân, tại cùng hoặc ngay trước thời điểm phân tích mẫu bệnh phẩm.

**\* Đặc tính của mẫu nội kiểm và các lưu ý khi lựa chọn mẫu nội kiểm**

Lựa chọn mẫu nội kiểm nên là một phần của quá trình thiết lập kế hoạch và thiết kế chương trình kiểm soát chất lượng. Phòng xét nghiệm cần quan tâm đến nhiều yếu tố để lựa chọn mẫu nội kiểm phù hợp với mục đích sử dụng. Việc lựa chọn này cũng cần được xem xét định kỳ hàng năm.

**- Chất nền**

Theo ISO và CLSI, chất nền (matrix) là toàn bộ các thành phần của một hệ thống vật liệu, ngoại trừ chất phân tích (ISO 17511). Lựa chọn chất nền cho mẫu nội kiểm là một bước quan trọng trong quá trình thiết kế kiểm soát chất lượng.

Trong trường hợp lý tưởng, mẫu nội kiểm cần có thành phần tương tự như mẫu bệnh phẩm xét nghiệm. Ví dụ, phòng xét nghiệm lựa chọn mẫu nội kiểm có chất nền là huyết thanh/protein khi thực hiện trên máy phân tích trên mẫu bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương, tương tự đối với bệnh phẩm nước tiểu, dịch não tủy...

Phòng xét nghiệm cần đọc kỹ thông tin thành phần chất nội kiểm trong hướng dẫn sử dụng hóa chất của nhà sản xuất.

#### **\* Tính ổn định**

Theo hướng dẫn C24 – A3 của CLSI, một phòng xét nghiệm phải sở hữu mẫu n kiểm có đủ độ đồng nhất và độ ổn định trong khoảng thời gian ít nhất một năm nếu có thể, để hạn chế thực hiện thêm xét nghiệm và phân tích dữ liệu để thiết lập các đặc tính

thống kê mới của quy trình phân tích cho mỗi lọ mẫu nội kiểm mới.

Khi có thể, phòng xét nghiệm cần cân nhắc chọn mua mẫu nội kiểm có hạn sử dụng dài, đủ số lượng của một lô sử dụng trong ít nhất một năm. Nhiều loại mẫu nội kiểm có mặt trên thị trường có hạn sử dụng 2 năm. Việc này sẽ giúp phòng xét nghiệm theo dõi quá trình phân tích, theo dõi sự thực hiện của nhiều thiết bị, nhiều phương pháp trong khi giảm chi phí do không phải thay đổi lô mẫu nội kiểm nhiều. Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến tính ổn định của mẫu nội kiểm:

- Điều kiện bảo quản: nhiệt độ và độ ẩm ảnh hưởng lớn tới độ ổn định hóa chất

- Bản chất mẫu nội kiểm: mẫu nội kiểm ở dạng lỏng thường có độ ổn định ngắn hơn mẫu nội kiểm ở dạng đông lạnh hoặc đông khô.

- Hạn sử dụng hay độ ổn định sau hoàn nguyên, mở nắp: sau khi mở nắp hoặc hoàn nguyên, độ ổn định cũng như hạn sử dụng của mẫu nội kiểm sẽ rút ngắn hơn hạn sử dụng được in trên bao bì. Thông tin về thời gian ổn định trên được nhà sản xuất cấp cùng Hướng dẫn sử dụng.

#### **\* Sự biến thiên giữa các lọ mẫu**

Mẫu nội kiểm dạng đông khô cần được hoàn nguyên và chia vào các ống nhỏ hơn trước khi sử dụng. Có nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả đo, bao gồm: Thao tác hoàn nguyên không chính xác; pipet không được hiệu chuẩn hay thao tác hút pipet không chuẩn như hút thừa hoặc thiếu dung môi hoàn nguyên làm cho nồng độ chất phân tích sau hoàn nguyên không đảm bảo; thao tác bật nắp không cẩn thận có thể làm thất thoát chất chứa bên trong cũng có thể làm thay đổi nồng độ chất

phân tích. Do đó, phòng xét nghiệm cần chuẩn hóa các bước thực hiện để giảm thiểu sự biến thiên giữa các lọ mẫu nội kiểm xảy ra trong quá trình chuẩn bị mẫu nội kiểm.

Mẫu nội kiểm dạng lỏng thường được bổ sung chất bảo quản. Đối với dạng mẫu này, phòng xét nghiệm không cần thực hiện hoàn nguyên, có thể hạn chế được sự biến thiên do quá trình hoàn nguyên. Tuy nhiên phần lớn mẫu dạng này yêu cầu cần làm đồng nhất trước khi phân tích bằng cách lắc, trộn mẫu. Thao tác lắc trộn không đảm bảo cũng ảnh hưởng tới kết quả phân tích. Ví dụ như đối với mẫu nội kiểm Huyết học, vì bản chất mẫu là tế bào, thao tác trộn không đảm bảo làm cho các tế bào bị tác động có thể bị vỡ, thay đổi hình dạng. Mẫu nội kiểm dạng này cũng cần sử dụng trong thời gian cho phép sau khi mở lọ và đảm bảo điều kiện bảo quản.

#### **\* Nguồn gốc mẫu nội kiểm**

Mẫu nội kiểm có nhiều nguồn gốc khác nhau. Ứng với mỗi nguồn gốc, mẫu nội kiểm có các đặc điểm khác nhau và phòng xét nghiệm cần thực hiện các hoạt động khác nhau để kiểm tra mẫu trước khi sử dụng.

Mẫu thương mại/mẫu đã được kiểm định (assayed) được mua từ nhà sản xuất: những mẫu loại này đã được nhà sản xuất xác định trước giá trị và thực hiện toàn bộ các hoạt động để xác nhận giá trị sử dụng (validation) để đảm bảo mẫu nội kiểm phù hợp. Phòng xét nghiệm khi nhận mẫu nội kiểm cần thực hiện kiểm tra xác nhận (Verification) để đảm bảo mẫu nội kiểm phù hợp với mục đích sử dụng trước khi dùng.

Mẫu nội kiểm có nguồn gốc từ phòng xét nghiệm khác, hoặc chưa được kiểm nghiệm (unassayed): Những mẫu nội kiểm này mặc dù đã biết trước giá trị, tuy nhiên trình đưa ra giá trị đó không hoàn toàn tuân thủ theo đúng quy trình nhà sản xuất thực hiện như mẫu nội kiểm thương mại. Do vậy trước khi sử dụng, phòng xét nghiệm bắt buộc phải thực hiện hai bước: xác nhận giá trị sử dụng mẫu nội kiểm và kiểm tra xác nhận mẫu nội kiểm.

- Mẫu nội kiểm do phòng xét nghiệm tự sản xuất (In-house control) bằng cách tự và điều chỉnh nồng độ nội kiểm. Mặc dù có thể tự sản xuất mẫu với số thu gom lượng/thể tích lớn, phòng xét nghiệm cần lưu ý các yếu tố an toàn, đảm bảo nguồn mẫu, thực hiện các thao tác kiểm tra đảm bảo độ đồng nhất và độ ổn định cũng như xác nhận giá trị sử dụng và kiểm tra xác nhận mẫu nội kiểm trước khi đưa vào sử dụng.

#### **\* Mức nồng độ**

Khi lựa chọn mẫu nội kiểm, phòng xét nghiệm cần cân nhắc đến mức nồng độ. Mỗi mẫu nội kiểm thường có từ hai mức nồng độ cho mỗi xét nghiệm trở lên. Giá trị mẫu nội kiểm được chọn cần bao phủ điểm quyết định lâm sàng và nếu được cần gần giá trị báo động. Điểm quyết định lâm sàng là các điểm mà dựa vào đó, bác sĩ lâm sàng đưa ra các thay đổi về quyết định điều trị cho bệnh nhân. Giá trị báo động là các kết quả xét nghiệm thể hiện tính mạng bệnh nhân có thể bị đe dọa nếu bác sĩ không đưa ra các xử lý ngay cho bệnh nhân.

#### \* **Nhà cung cấp**

Trên thị trường hiện có nhiều loại mẫu nội kiểm được chia làm hai nhóm: Mẫu nội kiểm phụ thuộc hệ thống phân tích hoặc độc lập với hệ thống phân tích. Hệ thống phân tích của phòng xét nghiệm bao gồm hóa chất và thiết bị mà phòng xét nghiệm đang sử dụng. Mẫu nội kiểm phụ thuộc hệ thống phân tích (First party control) là mẫu nội kiểm được cung cấp bởi nhà sản xuất hóa chất hoặc nhà sản xuất thiết bị. Do đó mà các mẫu nội kiểm này sẽ phụ thuộc hóa chất hoặc thiết bị và phù hợp với hóa chất/thiết bị cụ thể, không sử dụng được cho nhiều loại hóa chất hoặc thiết bị. Cũng bởi vì vậy mà phòng xét nghiệm sẽ khó phát hiện lỗi xảy ra trong hệ thống. Mẫu nội kiểm độc lập hệ thống phân tích (Third party control) là mẫu nội kiểm được cung cấp bởi bên thứ ba, không phụ thuộc hóa chất, thiết bị. Do đó các mẫu nội kiểm thuộc nhóm này phù hợp với nhiều hóa chất/thiết bị và là công cụ khách quan giúp phòng xét nghiệm phát hiện lỗi tốt.

#### **1.3.2. Ngoại kiểm**

##### \* Khái niệm và vai trò của ngoại kiểm trong hệ thống quản lý chất lượng

Đánh giá chất lượng từ bên ngoài (External Quality Assessment - EQA) hay ngoại kiểm là một hệ thống được thiết kế để đánh giá khách quan hiệu suất của phòng xét nghiệm bằng cách sử dụng phương tiện của một cơ quan bên ngoài (nhà cung cấp ngoại kiểm) (WHO 2009). Ngoại kiểm cho phép so sánh hiệu suất thực hiện xét nghiệm của một phòng xét nghiệm với **một nhóm các phòng xét nghiệm** hoặc phòng xét nghiệm tham chiếu. Tham gia vào chương trình ngoại kiểm là một khía cạnh cơ bản của quản lý chất lượng. Thuật ngữ ngoại kiểm thường được sử dụng linh hoạt đồng nghĩa với thuật ngữ kiểm tra độ thành thạo (PT - Proficiency Testing). Ngoại kiểm thường được thực hiện trong bối cảnh các chương trình ngoại kiểm được thiết kế để cung cấp theo chu kỳ nhằm kiểm tra các phương pháp phân tích cụ thể và các xét nghiệm cụ thể. Ngoại kiểm luôn luôn dẫn đến các hành động khắc phục khi cần thiết.



Ngoại kiểm là một phần không thể thiếu của chu trình cải tiến chất lượng và quá trình tăng cường năng lực được phát triển trên toàn ngành y tế nói chung và các phòng xét nghiệm nói riêng. Ngoại kiểm còn bao gồm đào tạo kỹ thuật và các hoạt động nâng cao năng lực.

## **2.2. Các khái niệm của kiểm tra chất lượng xét nghiệm**

- Mẫu kiểm tra chất lượng xét nghiệm: có thành phần tương tự như mẫu bệnh phẩm với giá trị được biết trước. Mẫu chứng được sử dụng để đảm bảo quy trình đang thực hiện đúng.

- Mẫu Calibrator: Mẫu Calibrator thường gọi tắt là mẫu Calib. Mẫu là một chất có thành phần không giống mẫu bệnh phẩm, có độ tinh khiết cao và giá trị đã được biết trước. Mẫu chuẩn được sử dụng để chuẩn máy tại giá trị máy được cài đặt bằng cách thiết lập biểu đồ chuẩn (như hệ số factor). Mẫu Calib được sử dụng khi xây dựng một phương pháp mới, sửa chữa thiết bị, thay đổi hóa chất hoặc khi mẫu QC không đạt.

- Độ chụm (Precision): Mức độ đồng nhất giữa kết quả xét nghiệm của các lần lặp lại xét nghiệm ở những điều kiện cụ thể, thường được biểu diễn dưới dạng độ lệch chuẩn (SD) và/hoặc hệ số biến thiên (CV).

- Cung cấp thông tin về sai số ngẫu nhiên

  - + Độ lặp lại (Repeatability): Độ chụm của kết quả đo lặp lại trong điều kiện giống nhau.

  - + Độ chụm trung gian (Intermediate precision/intra-laboratory): Độ chụm của kết quả đo lặp lại trong điều kiện thay đổi ở cùng 1 PXN.

  - + Độ tái lập (Reproducibility/inter-laboratory): Mức độ gần nhau của kết lặp lại trong điều kiện thay đổi ở các PXN khác nhau.

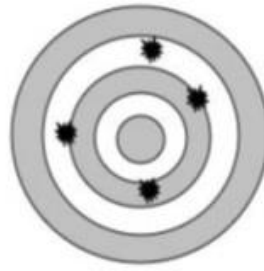
    - Sự biến thiên của tập hợp các phép đo càng ít, độ chụm càng cao.

    - Các phép đo càng chụm, thì độ rộng của đường cong càng nhỏ hơn bởi vì các phép đo đã gần hơn với giá trị trung bình.

    - Độ tin cậy của phương pháp được đánh giá theo độ chính xác và độ chụm. Một cách đơn giản để hình dung ra độ chính xác và độ chụm là nghĩ về một mục tiêu với một điểm hồng tâm (điểm giữa của bia tập bắn). Điểm hồng tâm thể hiện giá trị tham chiếu được chấp nhận là thật, giá trị không bị sai số. Nếu một tập hợp số liệu tập trung xung quanh hồng tâm, đó là độ chính xác. Các điểm càng gần nhau, độ chụm càng cao. Nếu hầu hết các điểm gần với điểm hồng tâm như ở hình vẽ bên trái, chúng vừa có độ chính xác và độ chụm.



Không chụm + Không đúng  
= Không chính xác



Không chụm + Đúng  
= Không chính xác



Chụm + Không đúng  
= Không chính xác



Chụm + Đúng =  
Chính xác

Tính chính xác = độ chụm nhưng không bị sai số

Các giá trị ở hình giữa là có chụm nhưng không chính xác bởi vì chúng tập trung với nhau nhưng không ở hồng tâm. Hình phía bên phải chỉ ra tập hợp các điểm không chụm.

Các phép đo có thể chụm nhưng không chính xác nếu các giá trị là gần nhau nhưng không gần với hồng tâm. Các giá trị này bị sai số. Hình ở giữa chứng minh tập hợp các phép đo chụm nhưng bị sai số.

Mục đích của kiểm soát chất lượng là để giám sát độ chính xác và độ chụm của các phương pháp trong phòng xét nghiệm trước khi trả kết quả cho bệnh nhân.

- Độ chính xác: Là tổng hợp của độ đúng và độ chụm

+ Độ chính xác (accuracy) = độ chụm (precision) + độ đúng (trueness)

- Độ nhạy: Bằng tổng số các kết quả dương tính/Tổng số các bệnh nhân bị bệnh

+ Độ nhạy của phương pháp xét nghiệm càng lớn thì số lượng kết quả xét nghiệm âm tính giả càng thấp.

- Độ đặc hiệu: Bằng tổng số các kết quả âm tính/Tổng số các bệnh nhân không bị bệnh

+ Độ đặc hiệu của phương pháp xét nghiệm càng lớn thì số lượng kết quả xét nghiệm dương tính giả càng thấp.

- Độ đúng: Chỉ mức độ gần nhau giữa giá trị trung bình của các kết quả xét nghiệm và giá trị thực.

## **2.3. Các sai số trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm**

### **2.3.1. Khái niệm**

Sai số là độ sai lệch giữa kết quả xét nghiệm và giá trị thực của xét nghiệm. Thực tế luôn luôn gặp phải các sai số này, vì vậy kết quả xét nghiệm nhận được chỉ là giá trị xấp xỉ với giá trị thực. Muốn kết quả xét nghiệm gần giá trị thực chúng ta cần giảm tối đa các sai số. Có những loại sai số thường gặp trong xét nghiệm.

### **2.3.2. Các loại sai số thường gặp**

#### **2.3.2.1. Sai số ngẫu nhiên (Random error)**

Sai số ngẫu nhiên là sai số xảy ra một cách ngẫu nhiên, không biết trước. quả xét nghiệm thu được sẽ nằm dao động về cả hai phía so với giá trị thực,

Đây là sai số hay gặp nhất. Khi thực hiện cùng một xét nghiệm trong cùng một điều kiện như nhau trong nhiều lần thì kết quả ở các lần này sẽ không giống nhau hoàn toàn mà sẽ có sự dao động.

Sai số ngẫu nhiên thường do yếu tố con người (ví dụ hút, trộn mẫu không đều) hoặc do thiết bị không được bảo dưỡng thường xuyên, thiết bị bị nhiễm bẩn, hóa chất thuốc thử pha không chuẩn hoặc hết hạn sử dụng, bệnh nhân không được chuẩn bị trước khi lấy bệnh phẩm, lấy bệnh phẩm không đúng, không vận chuyển bệnh phẩm trong thời gian quy định...

#### **2.3.2.2. Sai số thô bạo – Gross error**

Sai số thô bạo hay còn gọi là sai số bất thường. Nó cũng là một dạng của sai số ngẫu nhiên. Tức là sai số không biết trước nhưng do sự chủ quan của nhân viên xét nghiệm khi không tuân thủ các bước trong quy trình.

Một số nguyên nhân gây sai số thô bạo như:

- Nhầm thuốc thử, dụng cụ đo lường,
- Nhầm bước sóng khi đo màu,
- Tính toán và ghi chép kết quả sai.

Để phòng tránh sai số này phòng xét nghiệm và nhân viên phải tuân thủ đúng quy trình thao tác chuẩn (SOPs).

#### **2.3.2.3. Sai số hệ thống**

Sai số hệ thống là các sai số xảy ra một cách có hệ thống và ta có thể dự đoán được trước kết quả và khắc phục được nếu biết nguyên nhân. Làm cho các kết quả xét nghiệm lệch về một phía so với giá trị thực. Được đánh giá thông qua độ chệch

Nguyên nhân gây ra sai số hệ thống có rất nhiều như:

- Chất lượng thuốc thử không đảm bảo,
- Kỹ thuật xét nghiệm không đặc hiệu,
- Hóa chất chuẩn sai hoặc không chính xác,
- Thiết bị xét nghiệm không chính xác do không được bảo dưỡng hay hiệu chuẩn thường xuyên...

Để loại bỏ được các sai số này phòng xét nghiệm cần tìm ra nguyên nhân gây sai số ở trên và khắc phục.

#### **2.3.2.4. Sai số toàn bộ - Total error**

Một xét nghiệm có thể có sai số ngẫu nhiên và sai số toàn bộ. Sai số toàn bộ là tổng hợp của sai số ngẫu nhiên và sai số hệ thống.

Sai số toàn bộ = sai số ngẫu nhiên + sai số hệ thống. Thực tế ít khi ta gặp phải cả hai loại sai số này cùng lúc. sai số này càng lớn thì độ tin cậy của xét nghiệm càng thấp. Ngược lại nếu sai số này càng nhỏ thì độ tin cậy càng cao. Bằng việc xác định được sai số toàn bộ này ta sẽ tính toán để xác định được độ không đảm bảo đo.

### **LƯỢNG GIÁ**

1. Trình bày các khái niệm của kiểm tra chất lượng xét nghiệm?
2. Trình bày khái niệm, nguyên nhân của 4 loại sai số của kiểm tra chất lượng xét nghiệm?
3. Trình bày cách khắc phục của 4 loại sai số của kiểm tra chất lượng xét nghiệm?

## **BÀI 2: ĐÁNH GIÁ MỨC CHẤT LƯỢNG PHÒNG XÉT NGHIỆM Y HỌC MỤC TIÊU**

### **\* Kiến thức**

1 Trình bày được nội dung chính của 12 tiêu chí của hệ thống quản chất lượng xét nghiệm.

### **\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

## **NỘI DUNG**

### **1. Đại cương về hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm**

#### **- Yêu cầu**

Cung cấp công cụ đánh giá thực trạng chất lượng phòng xét nghiệm y học tại các cơ sở y tế;

Phân loại mức chất lượng phòng xét nghiệm;

Làm căn cứ bảo đảm sự tin cậy và liên thông kết quả giữa các phòng xét nghiệm;

Giúp các phòng xét nghiệm xác định thực trạng công tác quản lý chất lượng xét nghiệm và xác định các công việc ưu tiên để cải tiến chất lượng;

Cung cấp dữ liệu, căn cứ khoa học cho đầu tư, nâng cấp, phát triển phòng xét nghiệm.

#### **- Mục đích**

Đánh giá mức chất lượng của các phòng xét nghiệm y học, là công cụ để phòng xét nghiệm đánh giá việc tuân thủ theo các quy định hiện hành về quản lý chất lượng và thực hiện các hoạt động duy trì và cải tiến liên tục chất lượng phòng xét nghiệm.

### **2. Nội dung của hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm theo quyết định 2429/QĐ-BYT**

#### **2.1. Tổ chức và quản lý phòng xét nghiệm**

Phòng xét nghiệm có quyết định thành lập (Phòng xét nghiệm có giấy phép hoạt động cấp bởi cơ quan có thẩm quyền); có xây dựng mục tiêu chất lượng nhất quán với chính sách chất lượng; có lập kế hoạch chất lượng định kỳ hằng năm để đạt các mục tiêu chất lượng

#### **2.2. Tài liệu và hồ sơ**

Tất cả các tài liệu được Phòng xét nghiệm xây dựng bao gồm: tên tài liệu, mã tài liệu, ngày ban hành, số thứ tự, chữ ký xác nhận của người xem và phê duyệt, ban hành; được bảo quản hợp lý dễ dàng truy cập. Phòng xét nghiệm có quy định

thời gian lưu đối với từng loại hồ sơ và phù hợp với các quy định quốc gia hoặc các quy định có liên quan

### **2.3. Quản lý nhân sự**

Phòng xét nghiệm xây dựng yêu cầu về trình độ chuyên môn, bằng cấp, đào tạo, kinh nghiệm và các kỹ năng cần thiết cho từng vị trí trong Phòng xét nghiệm; có quy trình quản lý nhân sự và lưu hồ sơ nhân sự; có phân công/bổ nhiệm nhân viên và quản lý kỹ thuật với chức năng, nhiệm vụ rõ ràng; có thực hiện chương trình tập huấn bắt buộc cho nhân viên và đánh giá định kỳ.

### **2.4. Dịch vụ và Quản lý khách hàng**

Phòng xét nghiệm có quy trình khảo sát sự hài lòng của khách hàng; đánh giá thỏa thuận sử dụng dịch vụ với Phòng xét nghiệm chuyên gửi như xem xét khả năng cung ứng dịch vụ có đáp ứng các yêu cầu chất lượng, xem xét giải quyết khiếu nại.

### **2.5. Quản lý trang thiết bị**

Phòng xét nghiệm được trang bị đủ thiết bị phù hợp với yêu cầu công việc, danh mục kỹ thuật. Hướng dẫn sử dụng từng trang thiết bị được đặt tại nơi dễ tiếp cận, sử dụng. Trong quy trình quản lý trang thiết bị đề cập đến nội dung xử lý tránh lây nhiễm chéo và hư hỏng khi vận chuyển, bảo quản và sử dụng trang thiết bị. Phòng xét nghiệm có thực hiện bảo trì, bảo dưỡng trang thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất

### **2.6. Đánh giá nội bộ**

Phòng xét nghiệm có quy trình và kế hoạch đánh giá nội bộ. Khuyến cáo về hành động khắc phục và hành động phòng ngừa được nêu ra dựa trên kết quả đánh giá nội bộ.

### **2.7. Quản lý mua sắm vật tư, hóa chất và sinh phẩm**

Phòng xét nghiệm có áp dụng quy trình lựa chọn mua sắm trang thiết bị, vật tư, hóa chất và sinh phẩm. Phòng xét nghiệm có kế hoạch nhu cầu trang thiết bị, vật tư, hóa chất và sinh phẩm hàng năm

### **2.8. Quản lý quá trình xét nghiệm**

Phòng xét nghiệm có quy trình nhận mẫu; xây dựng và thực hiện các quy trình xét nghiệm cho các xét nghiệm đang thực hiện tại Phòng xét nghiệm. Phòng xét nghiệm thực hiện nội kiểm ở 2 mức giá trị khác nhau cho các xét nghiệm định lượng; thực hiện nội kiểm chứng âm, chứng dương đối với các xét nghiệm định tính.

### **2.9. Quản lý thông tin**

Phòng xét nghiệm có quy định, thực hiện bảo mật thông tin, kết quả xét nghiệm của khách hàng để ngăn ngừa việc truy cập trái phép; hệ thống được duy trì đảm bảo tính toàn vẹn của dữ liệu và thông tin. Phòng xét nghiệm có kế hoạch dự phòng trong trường hợp hệ thống quản lý thông tin điện tử bị hỏng hoặc khi bảo trì

#### **2.10 . Xác định sự KPH, hành động KP, HDPN**

Phòng xét nghiệm có quy định bằng văn bản việc nhận biết và kiểm soát sự không phù hợp; việc thực hiện hành động khắc phục và có quy định bằng văn bản thực hiện hành động phòng ngừa.

#### **2.11. Cải tiến liên tục**

Phòng xét nghiệm có xác định và thực hiện các hoạt động/dự án cải tiến liên tục; các chỉ số chất lượng có được theo dõi định kỳ. Kết quả quá trình xem xét và phân tích chỉ số chất lượng được sử dụng để cải tiến chất lượng Phòng xét nghiệm.

#### **2.12. Cơ sở vật chất và an toàn.**

Phòng xét nghiệm có đủ diện tích/không gian theo quy định và được phân chia thành các khu vực chức năng riêng biệt, được trang bị đầy đủ và kiểm tra chức năng định kỳ. Quá trình khử nhiễm phòng xét nghiệm được thực hiện thường xuyên và ghi chép lại; có đủ không gian riêng để lưu trữ các vật liệu: mẫu bệnh phẩm, tài liệu và hồ sơ, thiết bị, sinh phẩm, hóa chất và vật tư... Có nguồn điện dự phòng bảo đảm cung cấp điện cho các trang thiết bị có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; Quản lý chất thải; An toàn phòng xét nghiệm.

### **LUỢNG GIÁ**

1. Trình bày mục đích và yêu cầu về hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm?
2. Trình bày nội dung chính của 12 tiêu chí của hệ thống quản chất lượng xét nghiệm?

## **BÀI 3: KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HÓA SINH**

### **MỤC TIÊU**

#### **\* Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên tắc, nội dung và cách khắc phục trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm hóa sinh

#### **\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

### **NỘI DUNG**

#### **1. Vai trò của kiểm tra chất lượng trong xét nghiệm hóa sinh**

Chất lượng xét nghiệm có thể được định nghĩa là sự chính xác, độ tin cậy và đảm bảo thời gian trả các kết quả xét nghiệm đúng hạn. Các kết quả xét nghiệm phải chính xác nhất có thể, tất cả các khía cạnh của việc thực hiện xét nghiệm phải đủ độ tin cậy, và trả kết quả đúng lịch giúp ích cho các đơn vị lâm sàng hoặc y tế công cộng

Khi thực hiện đo, luôn có một số mức độ không chính xác. Thách thức là để giảm mức độ không chính xác nhiều nhất có thể, trong điều kiện hạn chế của hệ thống xét nghiệm. Mức độ chính xác ban đầu có thể chấp nhận được là 99%, nhưng chỉ 1% lỗi cũng trở thành lớn đối với một hệ thống khi có nhiều sự kiện xảy ra, ví dụ như trong phòng xét nghiệm

Phòng xét nghiệm đưa ra các kết quả xét nghiệm được dùng rộng rãi ở các cơ sở lâm sàng và y tế công cộng, và kết quả chăm sóc y tế phụ thuộc vào độ chính xác của xét nghiệm và báo cáo. Nếu các kết quả không chính xác sẽ dẫn đến một số hệ lụy như:

- Việc điều trị không cần thiết; phức tạp trong điều trị
- Sai sót khi đưa ra liệu pháp điều trị phù hợp
- Chậm trễ trong việc chẩn đoán đúng
- Xét nghiệm chẩn đoán thêm và không cần thiết

Các hệ quả này gây tổn thời gian, chi phí, nhân lực và đặc biệt gây hậu quả xấu đối với bệnh nhân.

Giảm thiểu lỗi xét nghiệm rất cần thiết để thực hiện tất cả các quá trình và quy trình trong phòng xét nghiệm theo cách tốt nhất có thể, để đạt được mức độ cao nhất về độ chính xác và độ tin cậy. Xét nghiệm là một hệ thống phức tạp bao gồm nhiều bước và có sự tham gia của nhiều người. Sự phức tạp của hệ thống cần nhiều



quá trình và thường quy được thực hiện một cách hợp lý. Do vậy mô hình hệ thống quản lý chất lượng khi nhìn vào cả hệ thống là rất quan trọng để có được việc thực hành xét nghiệm tốt.

## **2. Nội dung của kiểm tra chất lượng xét nghiệm hóa sinh**

### **2.1. Trước khi thực hiện xét nghiệm**

Các loại sai số có thể tránh được nếu các xét nghiệm viên thận trọng trong quá trình làm xét nghiệm và tổ chức tốt phòng xét nghiệm.

Ở giai đoạn này có rất nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả XN bao gồm : chuẩn bị bệnh nhân, thu thập mẫu, vận chuyển mẫu, bảo quản mẫu bệnh phẩm. Các yếu tố trên rất khó kiểm soát vì nó xảy ra bên ngoài phòng xét nghiệm. Các thầy thuốc và y tá phải nhận thức và có hiểu biết về tầm quan trọng của việc chuẩn bị bệnh nhân và nó có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm như thế nào. việc chuẩn bị bệnh nhân nhiều khi có ý nghĩa rất lớn đến kết quả XN, ví dụ : Trạng thái dinh dưỡng, bữa ăn gần nhất, uống rượu, loại thuốc đã dùng, hút thuốc la, luyện tập thể thao, các stress, giấc ngủ, và tư thế đều có thể ảnh hưởng đến kết quả XN và mức độ ảnh hưởng tùy theo loại XN. Các phòng XN thường phải đưa ra hướng dẫn việc chuẩn bị bệnh nhân và lấy mẫu đúng quy cách. Ngoài ra cũng phải dễ hiểu để có thể dùng cho cả bệnh nhân ngoại trú.

Quá trình lấy mẫu nên có hướng dẫn cụ thể cho từng loại XN, ví dụ loại ống sử dụng, chất chống đông máu cần dùng. Các phương pháp vận chuyển mẫu, tách huyết thanh-huyết tương, và bảo quản cũng có ý nghĩa quan trọng. Khoảng thời gian từ khi lấy máu đến khi tách huyết thanh hoặc huyết tương khỏi tế bào máu có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Ví dụ, BC và HC chuyển hoá glucose và có thể gây ra sự giảm nồng độ glucose máu chưa ly tâm. Ly tâm và tách huyết thanh sang ống nghiệm thứ 2 cũng cần chú ý vì có thể xảy ra nhiễm bẩn ở bước này. Ví dụ, ống nghiệm chứa huyết thanh dùng để định lượng chì phải rất sạch vì chỉ có mặt ở khắp mọi chỗ dễ gây sai số cho kết quả phân tích.

Việc bảo quản mẫu cũng có thể dẫn đến sai số trong kết quả phân tích. Mỗi một phân tích cũng cần có hướng dẫn bảo quản riêng. Việc bảo quản mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả như : bay hơi ảnh hưởng đến phân tích các chất điện giải, để ngoài ánh sáng ảnh hưởng đến phân tích bilirubin, việc để lạnh mẫu ảnh hưởng đến phân tích enzym.,v.v. Sai số do ghi chép, đánh số có thể xảy ra ở bất cứ bước nào trong quá trình phân tích. Mặc dù việc sử dụng máy tính đã làm đơn giản việc

ghi chép rất nhiều vẫn có thể mẫu này đánh nhằm thành kết quả phân tích của mẫu khác.

Bảo dưỡng và kiểm tra máy phân tích hàng ngày và định kỳ hàng tháng cũng cần được thực hiện. Các thuốc thử và kit hoá chất cần ghi rõ ngày tháng nhận và lúc mở ra sử dụng. Các lọ thuốc thử mới nên chạy song song với thuốc thử cũ trước khi sử dụng cho phân tích.

Nếu các hoá chất sử dụng khi làm chuẩn hoặc tính toán, nên sử dụng các hoá chất được tinh khiết cao nhất. Có nhiều loại chuẩn khác nhau được sử dụng: + Chuẩn loại 1: có đặc tính bền vững, không hút nước, có độ tinh khiết cao có thể làm khô ở 104 - 110°C mà không bị biến đổi thành phần hoá học, Chuẩn loại 1 có thể ở dưới dạng khô và cân pha thành các dung dịch có nồng độ lựa chọn. Khi đặt mua, chuẩn loại 1 được cung cấp với các thông số về thành phần tạp không được quá 0,05% về trọng lượng. Một vài chuẩn đã được chứng nhận bởi các cơ quan như: National Bureau of standards và College of American pathologists (CAP).

+ Chuẩn loại 2: là chuẩn mà nồng độ các chất chuẩn được xác định bằng phương pháp tin cậy đã được chấp nhận và dựa trên nồng độ chuẩn 1. Nồng độ các chất chuẩn 2 không thể xác định được trực tiếp dựa trên trọng lượng chất và thể tích dung dịch.

+ Các dung dịch có nồng độ biết trước (calibrator); được dùng để vẽ đường chuẩn trong việc tính toán xác định nồng độ các chất trong các mẫu bệnh phẩm. Các chất dùng để vẽ đường chuẩn có nồng độ phải xác định được bằng các phương pháp tin cậy và bằng các phương pháp rất đặc hiệu khác.

## **2.2. Trong khi thực hiện xét nghiệm**

- Kiểm tra độ chính xác (Precision)

- Kiểm tra độ xác thực (Accuracy)

Một kết quả xét nghiệm được coi là tin cậy có đủ hai thông số là độ chính xác và độ xác thực.

$$\text{Chính xác} + \text{Xác thực} = \text{Tin cậy}$$

### **2.2.1. Kiểm tra độ chính xác**

\* Khái niệm:

Độ chính xác là các kết quả đo được ít phân tán so với trị số trung bình. Sự phân tán các kết quả xét nghiệm càng nhỏ thì độ chính xác càng cao và đồ thị hình chuông hẹp. Ngược lại, sự phân tán của các kết quả xét nghiệm thu được càng lớn độ chính xác càng thấp và đồ thị hình chuông dẹt.

Độ chính xác thấp là do nguyên nhân sai số bất ngờ, sai số bất thường, những sai số này có thể tránh được.

Nguyên tắc kiểm tra độ chính xác là kiểm tra tính “lặp lại” các kết quả xét nghiệm (làm nhiều lần xét nghiệm với cùng một kỹ thuật trên cùng một mẫu xét nghiệm).

Huyết thanh kiểm tra (mẫu để kiểm tra).

- Tự chế tạo lấy huyết thanh kiểm tra. Nếu phòng xét nghiệm tự tạo lấy huyết thanh kiểm tra cần chú ý:

Nồng độ các thành phần trong huyết thanh kiểm tra độ chính xác không được biết nhưng không rơi vào vùng bệnh lý.

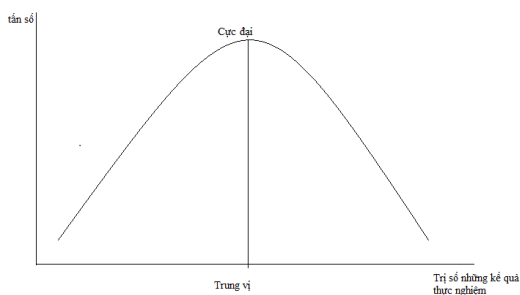
Thu thập huyết thanh dùng làm mẫu kiểm tra bằng cách: hằng ngày thu thập các mẫu huyết thanh thừa trong phòng xét nghiệm (loại các huyết thanh vỡ hồng cầu, huyết thanh đục, tăng bilirubin), huyết thanh được tập trung vào chai 2-3 lit, đặt trong tủ lạnh  $-20^{\circ}\text{C}$ , khi đủ số lượng cho nhu cầu kiểm tra, làm tan huyết thanh ở nhiệt độ thường rồi trộn đều, khuấy từ trong một giờ tránh sủi bọt sau đó lọc hoặc ly tâm  $3000\text{v}/\text{phút}/30\text{giây}$  để loại cục sợi huyết. Hỗn hợp được gọi là huyết thanh kiểm tra sẽ được chia đều thành nhiều lọ nhỏ, vô khuẩn chứa 10 – 20 ml đầy kín bảo quản ở  $-20^{\circ}\text{C}$ . Khi tiến hành kiểm tra, mỗi lần lấy ra một lọ kiểm tra độ chính xác (khi dùng huyết thanh kiểm tra cần làm tan và trộn đều trước khi làm kiểm tra). Huyết thanh kiểm tra này có thể ổn định từ 6 tháng đến 1 năm (có thể cho thêm 10 – 20 mg methiotal cho 100ml huyết thanh để chống nhiễm khuẩn).

Dùng mẫu chuẩn để làm huyết thanh kiểm tra.

\*Những thông số thống kê sử dụng trong việc kiểm tra độ chính xác

+ Sự phân phối chuẩn - Đường cong Gauss

Phân phối chuẩn là sự phân phối đối xứng qua hệ số trung bình, đường cong hình chuông hoặc đường cong phân bố chuẩn – phân bố đều



+ **Trị số trung bình (x đọc là x ngang): Là thông số được tính theo công**

thức:

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

$\bar{x}$  trùng với trung vị khi phân phối chuẩn là phân phối đều, khi số lượng kết quả là số lớn.

Trị số trung bình  $\bar{x}$  và trung vị chia cho ta thấy sự phân tán của các trị số kết quả.

Khắc phục điều này có thông số phương sai, độ lệch chuẩn và hệ số phân tán.

+ Phương sai (Variance):

Công thức tính V:

$$V = \frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{n - 1}$$

$\sum (xi - \bar{x})^2$  là tổng số bình phương các hiệu số của mỗi trị số kết quả với trị số trung bình.

n là số lượng các trị số riêng biệt.

+ Độ lệch chuẩn (SD — standard deviation)

SD được đọc là sigma -  $\delta$ : được tính bằng căn bậc hai của tổng  $\sum (xi - \bar{x})^2$  chia cho n-1

Với điều kiện  $n < 30$ .

Độ lệch chuẩn đánh giá sự phân tán của các trị số riêng biệt bằng trị số tuyệt đối. Một phân bố được gọi là chuẩn thì:

68% trị số nằm trong giới hạn  $\bar{x} \pm 3\delta$

95% trị số nằm trong giới hạn  $\bar{x} \pm 2\delta$

99,7% trị số nằm trong giới hạn  $\bar{x} \pm \delta$

Thông thường người ta lấy giới hạn  $\bar{x} \pm 2\delta$  là vùng của các giá trị trung bình thường trong phân phối chuẩn.

+ Hệ số phân tán (CV – Coefficient off variation)

CV là tỷ số biểu thị dưới dạng phần trăm của độ lệch chuẩn trên trị số trung bình.

$$CV = \frac{\delta}{\bar{x}} \cdot 100$$

Thông thường CV của các kỹ thuật xét nghiệm các thông số bình thường như: Định lượng glucose huyết thanh, cholesterol huyết thanh, acid uric huyết

thanh, bilirubin huyết thanh, creatinin huyết thanh...cho phép < 5%. Các xét nghiệm về enzym, hormon... có độ dao động sinh học lớn, CV cho phép từ 5-10%.

Để thuận lợi cho việc KTCL xét nghiệm cần lập bảng tính toán sau:

| N | Kết quả xi  | $xi - x$ | $(xi - x)^2$       |
|---|-------------|----------|--------------------|
|   | X1          |          |                    |
|   | X2          |          |                    |
|   | X3          |          |                    |
|   | ...         |          |                    |
|   | Xn          |          |                    |
|   | $\Sigma xi$ |          | $\Sigma(xi - x)^2$ |

Từ bảng trên ta tính được x,  $\delta$ , CV...

\* Qui trình thực hiện kiểm tra độ chính xác

+ Thiết lập bảng tính toán các thông số đánh giá độ chính xác

| Loại xét nghiệm kiểm tra |      |                    | Kỹ thuật xét nghiệm được dùng |              |
|--------------------------|------|--------------------|-------------------------------|--------------|
| Tháng/năm                |      | Mẫu kiểm tra số... |                               |              |
| Ngày                     | KQxi | $xi - x$           | $(xi - x)^2$                  | Người làm XN |
|                          |      |                    |                               |              |
|                          |      |                    |                               |              |
|                          |      |                    |                               |              |
|                          |      |                    |                               |              |
|                          |      |                    |                               |              |

Các thông số sẽ được tính toán x,  $\delta$ , CV% ...

Chữ ký của người phụ trách

+ Bảng kiểm tra độ chính xác

| Thành phần | Đơn vị |
|------------|--------|
|            |        |

Glucose

mmol/L

Tháng /năm

|  |                                |
|--|--------------------------------|
| <b>Giới hạn báo động trên =</b><br>- - |                                |
| <hr/>                                  |                                |
| <b>Giới hạn độ tin cậy trên</b><br>- - |                                |
| <hr/>                                  |                                |
| <b>Giới hạn độ tin cậy dưới</b><br>- - | <b>Trị số trung<br/>hình v</b> |
| <hr/>                                  |                                |
| <b>Giới hạn báo động dưới =</b><br>- - |                                |

Dùng bảng kiểm tra độ chính xác cho phép theo dõi việc kiểm tra độ chính xác trong thời kỳ kiểm tra.

Bảng kiểm tra độ chính xác được vẽ trên một tờ giấy kẻ ô ly, ở trục hoành ghi ngày làm xét nghiệm, trục tung có 5 điểm; điểm giữa tương ứng với giá trị xạ hai điểm dưới kế tiếp là tương ứng với giá trị  $x \pm 2\delta$ , hai điểm trên dưới tiếp theo tương ứng với giá trị  $x \pm 3\delta$ . Từ 5 điểm thiết lập 5 đường kẻ ngang theo hoành độ.

#### \* Các bước tiến hành kiểm tra độ chính xác

Bước tiến hành kiểm tra độ chính xác thời kỳ sơ bộ: thời kỳ này huyết thanh kiểm tra được sử dụng để sử dụng để định lượng các chất riêng biệt trong 20 ngày. Kết quả định lượng này được sử dụng để tính toán các thông số đánh giá độ chính xác, các thông số này dùng để vẽ các bảng kiểm tra độ chính xác cho từng loại xét nghiệm.

- Bước tiến hành kiểm tra độ chính xác thời kì chính thức : huyết thanh kiểm tra được làm song song cùng với lô xét nghiệm thường qui. Kết quả tính toán được sẽ sử dụng vào hai bảng.

+ Bảng tính toán số liệu hàng ngày kiểm tra độ chính xác (ghi ngày làm xét nghiệm và kết quả vào bảng).

+ Bảng kiểm đã được xác lập từ kiểm tra độ chính xác thời kì sơ bộ (đánh dấu vào bảng kiểm đúng vị trí và ngày làm xét nghiệm).

Chú ý giai đoạn này không dùng giá trị của các mẫu kiểm tra độ chính xác được làm cùng với lô xét nghiệm để điều chỉnh kết quả xét nghiệm thường qui.

### \* **Đánh giá độ chính xác**

Qua kết quả tiến hành kiểm tra độ chính xác thời kì chính thức ta có thể kiểm tra độ chính xác qua:

- Qua bảng kiểm tra: xác định các trường hợp sau:

Số trị số nằm ngoài giới hạn báo động.

Số trị số nằm trong giới hạn tin cậy.

Kết luận về kiểm tra độ chính xác về hai thông số trên. Độ chính xác tốt là mật t không hoặc dưới 5% số điểm kiểm tra rơi khỏi vùng giới hạn tin cậy.

- Qua hệ số phân tán: qua bảng tính toán số liệu hàng ngày trong một tháng ta tính được CV. Hệ số phân tán (CV) trong điều kiện làm xét nghiệm bình thường đối với các thông số nồng độ protein huyết thanh, glucose huyết thanh, ure máu, acid uric máu... chỉ cho phép CV < 5%. Nếu với các xét nghiệm đặc biệt như nồng độ creatinin, cholesterol, bilirubin, hoạt độ các enzym thì CV có thể cho phép từ 5 – 10%.

#### 2.2.2. *Kiểm tra độ xác thực*

Mỗi chất trong mẫu thử đều có trị số thực của nó, việc xác định trị số thực của mỗi thành phần trong một mẫu huyết thanh hay mẫu chuẩn hết sức khó khăn. Những kết quả có trị số gần đến thực là trị số có độ xác thực cao. Mục đích kiểm tra độ xác thực của kỹ thuật là phát hiện và loại bỏ những sai số hệ thống có thể xảy ra trong quá trình làm xét nghiệm.

Một phương pháp xét nghiệm thu được kết quả đúng khi kết quả xấp xỉ bằng trị số thực của nó.

Trị số thực là khái niệm lý tưởng rất khó thực hiện trên thực tế mà chỉ có giá trị số thực theo qui ước. Người ta phải làm lặp lại nhiều lần trên cùng mẫu và kết quả cũng lặp lại nhiều lần được coi là số thực.

### \* **Các thông số đánh giá độ xác thực:**

Thông số d biểu thị mức độ xác thực tuyệt đối, được xác định bằng hiệu số giữa trị số thực và trung bình các mẫu kiểm tra.

$$d = |x_0 - \bar{x}|$$

Thông số D biểu thị mức độ xác thực tương đối, được xác định tỷ số

$$D = \frac{|x_0 - \bar{x}|}{\bar{x}} \cdot 100$$

Tính theo tỷ lệ phần trăm:

### **\* Cách tiến hành kiểm tra độ xác thực**

Người ta xen vào lô xét nghiệm hàng ngày mẫu kiểm tra chất lượng xét nghiệm – kiểm tra độ xác thực.

Trị số thực của mẫu kiểm tra kí hiệu là  $x$ . Thông thường người ta làm xen cùng với mẫu kiểm tra độ chính xác.

Mẫu kiểm tra độ xác thực – các loại chuẩn: Có nhiều loại chuẩn.

*Chuẩn cấp một:* hoá chất tinh khiết, trọng khối được xác định bằng phương pháp cân, từ đó pha thành dung dịch chuẩn cấp 1.

*Chuẩn cấp hai:* Hoá chất tinh khiết, mà trọng khối được xác định bằng phương pháp hoá học, từ đó pha thành dung dịch chuẩn cấp 2 và đối chiếu với dung dịch chuẩn cấp 1.

*Mẫu chuẩn:* dung dịch chứa nhiều thành phần tương tự huyết thanh, thành phần trong mẫu được xác định bằng các xét nghiệm hoá học.

Ngày nay người ta pha kit để sử dụng và mỗi kit có thể có dung dịch chuẩn tiện lợi cho người sử dụng. Trên thực tế người ta có các dung dịch chuẩn và huyết thanh kiểm tra. Huyết thanh kiểm tra có hai loại:

Loại có chứa các chất nồng độ tương đương với trị số bình thường (N).

Loại có chứa các chất nồng độ tương đương bệnh lý (P).

### **\* Tiêu chuẩn đánh giá độ xác thực**

Độ xác thực của mỗi kĩ thuật xét nghiệm càng cao thì hiệu số  $d$  và  $D$  càng nhỏ, kết quả xét nghiệm chỉ được phép chênh lệch so với trị số thực trong những giới hạn sau:

- Tiêu chuẩn 3 hệ số phân tán (CV)
- Hoặc có thể so sánh  $d$  với 8 hàng ngày.
- Tiêu chuẩn 5 hoặc 10%.

Các xét nghiệm thông thường với kĩ thuật chuẩn, đặc biệt độ xác thực chấp nhận ở mức  $D\%$  có thể tới 10%.

Phiếu kiểm tra độ xác thực.

Bảng đánh giá độ xác thực của một chất qua hai tiêu chuẩn.

### **2.3. Sau khi thực hiện xét nghiệm**

Giai đoạn sau xét nghiệm gồm 2 quá trình là báo cáo kết quả và lưu giữ hồ sơ.

- Báo cáo kết quả



Kết quả phải được báo cáo chính xác và rõ ràng. Trong đó đặc biệt chú ý tới việc truyền dữ liệu từ kết quả máy chạy ra đến phiếu kết quả của bệnh nhân. Ngày nay với sự phát triển của công nghệ thông tin việc truyền dữ liệu này có thể được thực hiện tự động và chính xác. Tuy nhiên các phòng xét nghiệm vẫn cần phải xây dựng quy trình hướng dẫn truyền dữ liệu để đảm bảo tính chính xác của việc sao chép kết quả xét nghiệm.

- Lưu giữ hồ sơ

Phòng xét nghiệm phải xây dựng một hệ thống lưu trữ hồ sơ, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân để có thể truy xuất, sử dụng trong tương lai. Việc lưu giữ hồ sơ có thể sử dụng trên hệ thống điện tử hoặc bằng phương pháp thủ công. Dù quản lý trên hệ thống nào cũng cần đảm bảo nguyên tắc bảo mật nhưng cũng cần dễ dàng truy xuất. Đồng thời phải có phương án dự phòng trong các trường hợp sự cố vẫn có thể truy xuất được. Do đó các phòng xét nghiệm nên áp dụng cả 2 phương pháp điện tử và thủ công để lưu giữ hồ sơ.

#### **2.4. Đánh giá chất lượng từ ngoài (ngoại kiểm)**

Ngoại kiểm chất lượng xét nghiệm được dùng để KTCLXN giữa các phòng xét nghiệm ở các vùng khác nhau trên một quốc gia hoặc nhiều quốc gia trên thế giới. Việc tiến hành KTCLXN tuân thủ các quy định của trung tâm điều phối. Các phòng xét nghiệm tham gia KTCLXN cùng tiến hành làm kiểm tra trên cùng một mẫu huyết thanh kiểm tra, kết quả gửi về trung tâm xử lý và cho kết luận.

#### **Lượng giá**

1. Trình bày vai trò của kiểm tra chất lượng trong xét nghiệm hóa sinh?
2. Trình bày nội dung của kiểm tra chất lượng xét nghiệm hóa sinh?

## **BÀI 4: KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM VI SINH – KÝ SINH TRÙNG**

### **MỤC TIÊU:**

#### **\* Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên tắc, nội dung và cách khắc phục trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm vi sinh và ký sinh trùng.

#### **\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

### **NỘI DUNG:**

#### **1. Đảm bảo chất lượng xét nghiệm vi sinh và ký sinh trùng**

- Là một chương trình tổng thể để đảm bảo kết quả xét nghiệm cuối cùng được báo cáo là chính xác

#### **2. Các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng xét nghiệm vi sinh và ký sinh trùng**

- Cách lấy mẫu bệnh phẩm
- Vận chuyển mẫu bệnh phẩm
- Nhận mẫu bệnh phẩm
- Xử lý mẫu bệnh phẩm

#### **3. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm**

##### **3.1. Khái niệm:**

- Là việc sử dụng các biện pháp kỹ thuật để đảm bảo kết quả xét nghiệm có giá trị tương đương với giá trị thực

##### **3.2. Mục đích:**

- Phát hiện ra các sai sót chính trong quá trình thực hiện xét nghiệm, khắc phục và đưa ra kết quả chính xác cho bệnh nhân.

#### **4. Hai quy trình của Kiểm tra chất lượng xét nghiệm**

##### **4.1. Nội kiểm**

##### **- Nội kiểm giai đoạn trước khi xét nghiệm**

Giai đoạn trước xét nghiệm bao gồm các công việc sau:

+ Chỉ định xét nghiệm đây là bước đầu tiên. Việc chỉ định xét nghiệm thường do bác sĩ lâm sàng thực hiện căn cứ trên chẩn đoán tình trạng bệnh lý của bệnh nhân. Tuy nhiên chỉ định thế nào cho đúng cũng là vấn đề không hề nhỏ. Chỉ định phải sát với tình trạng của bệnh nhân mới có khả năng phát hiện và chẩn đoán đúng bệnh. Chỉ định phải đúng thời điểm.

- + Lấy mẫu
- + Vận chuyển mẫu
- + Nhận mẫu
- + Xử lý mẫu

**- Nội kiểm giai đoạn trong khi xét nghiệm:**

Giai đoạn này gồm 2 phần là xét nghiệm và kiểm soát chất lượng. 2 quá trình này luôn luôn được làm song song với nhau.

+ Quá trình xét nghiệm: Phòng xét nghiệm phải xây dựng quy trình xét nghiệm và thực hiện tuân thủ đúng theo quy trình đã xây dựng. Quy trình xét nghiệm phải được xác định giá trị sử dụng. Các cán bộ thực hiện xét nghiệm phải được đào tạo đúng chuyên ngành. Phải hiểu, nắm chắc và thực hiện thành thạo các quy trình xét nghiệm này. Cán bộ xét nghiệm phải tuyệt đối tuân thủ quy trình xét nghiệm đã được ban hành. Không được tự ý thay đổi, thêm bớt các bước. Không được thay đổi lượng hóa chất, bệnh phẩm đã được quy định trong quy trình.

+ Quá trình kiểm soát chất lượng: quá trình kiểm soát chất lượng phải làm thường xuyên và liên tục. Quá trình này được thực hiện bằng các biện pháp như sử dụng mẫu kiểm tra chất lượng (QC), thực hiện so sánh liên phòng (ngoại kiểm) hoặc so sánh với phòng xét nghiệm tham chiếu. Trong đó đặc biệt chú ý tới mẫu QC. Việc QC phải được thực hiện hàng ngày và kết quả mẫu QC không được vi phạm các quy tắc. Phải nhớ không được trả kết quả cho bệnh nhân nếu kết quả QC không phù hợp.

**- Nội kiểm giai đoạn sau khi xét nghiệm :**

Giai đoạn sau xét nghiệm gồm 2 quá trình là báo cáo kết quả và lưu giữ hồ sơ.

+ Báo cáo kết quả: Kết quả phải được báo cáo chính xác và rõ ràng. Trong đó đặc biệt chú ý tới việc truyền dữ liệu từ kết quả máy chạy ra đến phiếu kết quả của bệnh nhân. Ngày nay với sự phát triển của công nghệ thông tin việc truyền dữ liệu này có thể được thực hiện tự động và chính xác. Tuy nhiên các phòng xét nghiệm vẫn cần phải xây dựng quy trình hướng dẫn truyền dữ liệu để đảm bảo tính chính xác của việc sao chép kết quả xét nghiệm.

+ Lưu giữ hồ sơ: Phòng xét nghiệm phải xây dựng một hệ thống lưu trữ hồ sơ, kết quả xét nghiệm của bệnh nhân để có thể truy xuất, sử dụng trong tương lai. Việc lưu giữ hồ sơ có thể sử dụng trên hệ thống điện tử hoặc bằng phương pháp thủ công. Dù quản lý trên hệ thống nào cũng cần đảm bảo nguyên tắc bảo mật nhưng cũng cần dễ dàng truy xuất. Đồng thời phải có phương án dự phòng trong

các trường hợp sự cố vẫn có thể truy xuất được. Do đó các phòng xét nghiệm nên áp dụng cả 2 phương pháp điện tử và thủ công để lưu giữ hồ sơ.

#### **4.2. Ngoại kiểm tra**

Ngoại kiểm tra Là một hệ thống do một cơ quan độc lập bên ngoài triển khai để đánh giá chất lượng của các phòng xét nghiệm Là một hệ thống do một cơ quan độc lập bên ngoài triển khai để đánh giá chất lượng của các phòng xét nghiệm.

#### **Lượng giá**

1. Trình bày các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng xét nghiệm vi sinh và ký sinh trùng?
2. Trình nguyên tắc, nội dung và cách khắc phục trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm vi sinh và ký sinh trùng?

## **BÀI 5. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC**

### **MỤC TIÊU**

#### **\* Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên tắc, nội dung và cách khắc phục trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học.

#### **\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

### **NỘI DUNG**

#### **1. Vai trò của kiểm tra chất lượng trong xét nghiệm huyết học**

Mục tiêu của xét nghiệm là đáp ứng được yêu cầu lâm sàng. Do vậy công tác đảm bảo chất lượng xét nghiệm huyết học là thực hiện những việc cần thiết để đảm bảo kết quả kịp thời, có độ tin cậy cao.

#### **2. Nội dung của kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học**

Kiểm tra chất lượng nội bộ (nội kiểm tra): Là các hoạt động của labo nhằm đảm bảo xét nghiệm có độ tin cậy.

- Kiểm tra độ xác thực:

Ví dụ: sử dụng máu chuẩn (với máy đếm tế bào).

- Kiểm tra độ lặp lại:

Ví dụ:

+ 1 mẫu được kiểm tra 2-3 lần (kiểm tra tính ổn định)

+ Ngày sau xét nghiệm lại các mẫu của ngày trước

- Kiểm tra phương tiện và sinh phẩm: ví dụ máy đo pH, máy li tâm.

- Kiểm tra bằng kỹ thuật khác.

Để tiến hành nội kiểm tra, người chịu trách nhiệm chất lượng xét nghiệm của labo phải nghiên cứu kỹ quy trình kỹ thuật, đặt ra các chế độ kiểm tra thường quy có tính định kỳ, đồng thời đề ra các biện pháp giải quyết các tình huống khác nhau. Nếu sử dụng các phương tiện xét nghiệm có quản lý bằng phần mềm, cần đặt ra trong chương trình các báo động cần thiết để nhắc việc nội kiểm tra.

Với các labo thông thường nhiều khi dễ bỏ qua công tác nội kiểm tra nên cần đặt ra một nguyên tắc, ví dụ người chịu trách nhiệm chất lượng xét nghiệm tế bào máu trước khi ký trả kết quả xét nghiệm phải ký vào tờ kết quả xét nghiệm lại các mẫu ngày trước, đồng thời khi xây dựng quy trình cho một ngày làm việc cần có mục tiêu kiểm tra chất lượng nội bộ.

Các nội dung của nội kiểm được chia ra làm 3 giai đoạn

### **2.1. Trước khi thực hiện xét nghiệm**

- Các thay đổi sinh lý: Biến động giữa các cá thể: di truyền, tuổi tác, giới tính... Biến động trong một cá thể: chế độ ăn uống, vận động, uống rượu, nhịp độ sinh học, tư thế bệnh nhân...

- Thay đổi do tình trạng bệnh: Do diễn biến của bệnh, xử lý điều trị: phẫu thuật, truyền máu, truyền dịch, chạy thận, gây mê... Do dùng thuốc điều trị

- Thay đổi do lấy mẫu XN: vị trí lấy máu, thời gian garo, dung dịch chống đông,

### **2.2. Nội kiểm trong khi thực hiện xét nghiệm**

- Nhằm ông máu, trình độ tay nghề của nhân viên, trang thiết bị, dung dịch chuẩn, thuốc thử, hóa chất, điều kiện môi trường, các sai số ...

Để kiểm soát cần:

- Kiểm tra lặp lại các mẫu bệnh phẩm

- Chạy mẫu kiểm tra: xây dựng biểu đồ Levey – Jennings

- Ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm

### **2.3. Nội kiểm sau khi thực hiện xét nghiệm**

- Ghi chép sai, tính toán sai, quy trình trả kết quả, quy trình lưu mẫu xét nghiệm, lưu kết quả ...

\* Các lưu ý khi nội kiểm xét nghiệm huyết học

- Lựa chọn vật liệu nội kiểm huyết học phù hợp: là các mẫu máu giả được các nhà sản xuất tạo lên. Thông thường các mẫu này do chính nhà sản xuất thiết bị tạo ra. Nó sẽ phù hợp với công nghệ phân tích của hãng máy đó. Điều này lý giải tại sao mẫu nội kiểm của hãng thiết bị A không thể phân tích trên thiết bị của hãng B.

Tuy nhiên, cũng chính vì điều này mà các nhà sản xuất thiết bị sẽ tạo ra các mẫu QC tối ưu nhất cho máy của mình. Việc này vô tình sẽ làm kết quả nội kiểm không đánh giá được chính xác các lỗi đang xảy ra với thiết bị, nhất là khi phân tích trên nền mẫu bệnh nhân thực. Tốt nhất nên sử dụng mẫu nội kiểm của bên thứ 3 độc lập.

- Cần đủ 3 mức nồng độ của mẫu nội kiểm: mẫu nội kiểm huyết học cần đủ 3 mức nồng độ là thấp, trung bình và cao. Việc này sẽ kiểm soát được kết quả máy trả ra ở cả 3 khoảng nồng độ: bất thường thấp, bình thường và bất thường cao. Tuy nhiên, do vấn đề kinh tế nên nhiều PXN hiện nay chỉ thực hiện nội kiểm ở 1 mức hoặc 2 mức nồng độ. Khi làm như vậy sẽ không kiểm soát được toàn bộ các kết quả

máy đã trả. Ví dụ nếu chỉ QC mức trung bình, máy phân tích và cho ra kết quả rất tốt. Nhưng có thể lại không biết ở nồng độ khác máy có cho ra kết quả đúng không? Vì thế phải thực hiện QC ở đủ cả 3 mức nồng độ.



- Thời hạn sử dụng của mẫu nội kiểm huyết học

+ Thời hạn sử dụng của mẫu nội kiểm huyết học là rất quan trọng, thời hạn sử dụng của các mẫu QC huyết học khá ngắn (khoảng 3 tháng). Chỉ sử dụng các mẫu nội kiểm còn hạn sử dụng mới đảm bảo tính chính xác.

+ Tuân thủ thời hạn sau mở nắp. Ngoài thời hạn bảo quản chung thì các mẫu QC huyết học còn có thời hạn dùng sau mở nắp. Thông thường dao động từ 7-14 ngày.

Các mẫu QC huyết học hàng ngày thường bảo quản ở 2-4°C. Khi lấy ra dùng thì lại để về nhiệt độ phòng. Chính điều này làm biến đổi chất lượng của mẫu QC chứ không phải do việc mở nắp ống. Như vậy, quy tắc để sử dụng mẫu QC huyết học là dùng thêm từ 7-14 ngày (tùy từng hãng sx QC) sau lần chạy đầu tiên.

- Tuân thủ quy trình bảo quản mẫu QC huyết học: mẫu QC huyết học cần được bảo quản ở 2-4°C. Do vậy, hàng ngày ngay sau khi phân tích xong cần nhanh chóng bảo quản mẫu QC. Khi bảo quản trong tủ lạnh cũng nên chọn 1 vị trí nhất định, nơi có nhiệt độ ổn định nhất. Cần để ống QC theo tư thế thẳng đứng. Bảo quản mẫu nội kiểm trong dụng cụ tránh ánh sáng. Nếu bảo quản không tốt, mẫu sẽ bị hỏng và kết quả QC sẽ không còn kiểm soát được.

- Tuân thủ thời gian để mẫu ổn định trước khi phân tích: các mẫu huyết học được bảo quản ở 2-4°C trong tủ mát. Sau khi lấy mẫu ra ngoài cần để đủ thời gian để mẫu về nhiệt độ phòng. Thông thường sẽ mất khoảng 10-15' để mẫu về được nhiệt độ phòng. Không bao giờ được phân tích mẫu nội kiểm khi mẫu còn lạnh. Khi mẫu lạnh, các thành phần trong mẫu có thể bị co cụm hoặc kết dính, điều này sẽ làm kết quả nội kiểm không chính xác. Đặc biệt không được tăng tốc độ làm ấm mẫu bằng cách cho vào nồi cách thủy hay tủ ấm. Làm như vậy sẽ làm mẫu bị biến

tính nhanh hơn. Hãy để mẫu tự ổn định về nhiệt độ phòng bằng cách để ở môi trường PXN trong khoảng thời gian quy định (ít nhất 10-15').

- Tuân thủ việc lắc trộn mẫu trước khi phân tích: lắc trộn đều mẫu trước khi phân tích là đặc biệt quan trọng. Các mẫu để trong tủ lạnh, tế bào sẽ lắng xuống. Trước khi phân tích cần lắc trộn thật đều bằng tay. Tối thiểu cần đảo ống mẫu ít nhất 20 lần trước khi cho vào máy phân tích. Hãy đảo bằng cách lật ngược ống mẫu thật chậm. Mỗi lần dốc ngược ống mẫu và trả lại tư thế cũ được tính là 1 lần đảo ống. Một sai lầm mà nhiều PXN mắc phải là không lắc mẫu bằng tay trước khi phân tích vì cho rằng khi vào trong máy sẽ tự lắc trộn. Máy có thể tự lắc trộn nhưng chừng đó là chưa đủ cho những mẫu đã bảo quản lâu trong tủ mát. Việc lắc đủ số lần bằng tay trước khi đưa vào máy là hết sức cần thiết.

- Vệ sinh nắp ống trước và sau khi phân tích: các nắp ống thường cấu tạo bằng cao su. Sau nhiều lần kim hút mẫu chọc qua có thể làm rò rỉ mẫu QC ra ngoài. Khi đó cần vệ sinh sạch sẽ nắp ống bằng cách dùng giấy không có xơ để lau. Chú ý không dùng bông để lau vì các sợi bông bám lại trên nắp ống có thể làm tắc hoặc bán tắc kim hút mẫu.

- Xem xét kỹ kết quả nội kiểm sau phân tích: nhằm đảm bảo không có các vi phạm nội kiểm trước khi phân tích mẫu bệnh nhân. PXN cần áp dụng các quy tắc westgard với đơn và đa quy tắc trong phân tích kết quả. Tuy nhiên, do QC huyết học sử dụng 3 mức nồng độ nên việc phân tích, đánh giá quy tắc westgard là tương đối khó khăn.

#### **2.4. Giám sát quy trình**

Một phòng xét nghiệm hoạt động phải có các quy trình:

- Quy trình tổ chức, sắp xếp.
- Quy trình đào tạo nhân lực.
- Quy trình thực hiện công việc: từ sáng đến chiều, ai làm gì, ai chịu trách nhiệm.
- Quy trình tiến hành kỹ thuật.
- Quy trình lưu, ghi chép, trả kết quả.

Việc kiểm tra thường xuyên xem có theo đúng quy trình này là điều cần thiết, cần có nhân viên kiểm tra việc thực hiện quy trình.

Thường xuyên phải xem xét lại và bàn bạc khâu nào chưa thực sự tốt cần sửa chữa.

\* *Quy trình tổ chức labo* tạo một dây chuyền (hay đường đi) của một xét nghiệm sao cho hợp lý, tiết kiệm nhân lực, tiết kiệm thời gian và tránh mọi nhầm lẫn, sai



sốt, quy trình sắp xếp nhân lực để đảm bảo kết quả xét nghiệm được thực hiện khách quan và được người có trách nhiệm kiểm tra, đánh giá.

Khi xây dựng quy trình tổ chức labo cần lưu ý đến tất cả các khâu từ địa điểm, hình thức, điều kiện nhận bệnh phẩm đến trả kết quả.

\* *Quy trình đào tạo nhân lực*: Đào tạo nhân lực phải được luôn chú ý, vừa để củng cố kiến thức chuyên sâu, vừa cập nhật các hiểu biết ứng dụng mới. Thường ở một phòng xét nghiệm có nhiều loại công việc từ đơn giản đến phức tạp. Cán bộ khi về nhận công tác được bố trí công việc và sẽ được đào tạo dần trong cả quá trình để thực hiện những công việc ngày càng cao.

\* *Quy trình thực hiện công việc và quy trình tiến hành kỹ thuật* có mối liên quan rất chặt chẽ. Tuy nhiên, để thực hiện đúng kỹ thuật một khối lượng xét nghiệm lớn lại phải đáp ứng về mặt thời gian nên yêu cầu bố trí công việc khoa học để mọi lao động đều được tận dụng và có hiệu quả.

Khi xây dựng quy trình kỹ thuật xét nghiệm cần lưu ý đến các điều kiện liên quan như cách lấy bệnh phẩm, thời gian giữ bệnh phẩm tối đa, điều kiện vận chuyển, lưu giữ bệnh phẩm...

Sau khi có kết quả xét nghiệm, việc ghi chép sổ sách lưu theo mẫu thông nhất, khoa học để sao cho có thể kiểm tra đánh giá được. Người ta căn cứ kết quả từng thông số sau đó lập đồ thị. Nhiều khi dựa vào đồ thị có thể giúp nhận ra quy luật bệnh tật hay phát hiện sai sót trong xét nghiệm. Ví dụ máy đếm tế bào trong một thời gian dài cho thấy tất cả bệnh nhân đều có MCV (thể tích trung bình hồng cầu) trên 100fl, lúc này nếu vẽ đồ thị cho thấy đồ thị đi lên và duy trì mãi ở độ cao đó hoặc càng ngày càng cao. Khi đó cần xem ngay lại chất lượng của xét nghiệm, chất lượng của máy đếm.

\* *Tiêu chuẩn và chuẩn hoá*

Là đặt ra các tiêu chuẩn của cán bộ, của trang bị, của kỹ thuật để tuân thủ.

Tiêu chuẩn và chuẩn hoá không phải giống nhau cho tất cả các labo mà tùy cấp, mức độ phục vụ.

Tùy điều kiện trang bị mà đặt ra tiêu chuẩn của labo cần đạt. Chuẩn hoá đặt ra yêu cầu rất cao, nhiều thông số được kiểm tra chặt chẽ. Tuy nhiên đã là labo huyết học dù ở mức độ nào cũng phải có các tiêu chuẩn chặt chẽ để đảm bảo kết quả xét nghiệm đạt độ tin cậy cần thiết.

Chuẩn hoá là dùng các phương pháp, quy trình, vật liệu đã biết, đã được đánh giá là tốt để áp dụng trong các labo.

\* Nhiều thông số đặt ra cho việc chuẩn hoá của labo xét nghiệm:

- *Chuẩn tham chiếu*: một chất, một thiết bị, một quy trình được gọi là chuẩn khi nó đáp ứng được những yêu cầu chặt chẽ về chất lượng, về độ tin cậy khi tính đến mọi yếu tố.

- *Vật liệu tham chiếu*: vật liệu đã được nhiều trung tâm nghiên cứu đánh giá phù hợp cho một xét nghiệm đặc thù dùng để làm chuẩn.

- *Phương pháp tham chiếu*: kỹ thuật được mô tả chính xác, rõ ràng cho một xét nghiệm cụ thể được hội đồng chuyên môn xem xét và xác nhận, phương pháp này dùng để đánh giá các phương pháp labo khác. Phương pháp chuẩn quốc tế là phương pháp được thiết lập nhờ hội đồng khoa học quốc tế.

- *Lựa chọn phương pháp xét nghiệm*: dựa vào phương pháp chuẩn tham chiếu, căn cứ vào điều kiện kinh tế, trang bị, lao động để lựa chọn phương pháp sử dụng hàng ngày thích hợp vừa đảm bảo mức độ chính xác cần thiết vừa tính đến yếu tố tiết kiệm và khả thi. Ví dụ: phương pháp chuẩn để xét nghiệm thăm dò bệnh hemophilia là định lượng yếu tố VIII hay yếu tố IX bằng các kỹ thuật nhạy, trực tiếp. Một labo đông máu tuyến tỉnh có thể căn cứ vào điều kiện thực tế xét thấy xét nghiệm APTT là hợp lý, vừa kinh tế, có thể thực hiện được, lại không bỏ sót bệnh nhân dù không phải xét nghiệm khẳng định. Một labo tuyến huyện có thể phải chấp nhận sử dụng phương pháp xét nghiệm thời gian Hovvell.

Nhiều thông số được chuẩn hoá khác như kit chẩn đoán, điều kiện chuẩn... Tất cả phải được tính đến để làm căn cứ cho các thông số cụ thể của labo chọn lựa sử dụng.

### **3. Các loại sai số**

#### **3.1. Sai số thô bạo**

Thường do lỗi của nhân viên làm xét nghiệm trong quá trình sử lý mẫu, sử dụng pipet, pha hoá chất thuốc thử, không tuân thủ đúng qui trình thao tác, nhầm lẫn dung dịch thuốc thử, tính toán sai...

#### **3.2. Sai số ngẫu nhiên**

Khi ta tiến hành làm một xét nghiệm trong điều kiện như nhau và lặp lại nhiều lần thì kết quả xét nghiệm không thể cho giá trị như nhau mà có sự phân tán nhiều hoặc ít. Sai số này thường do yếu tố con người, máy móc thiếu bảo dưỡng và nhiễm bẩn..Muốn hạn chế sai số này cần trang bị máy có độ chính xác cao và hoá chất có chất lượng tốt, chú ý bảo dưỡng kiểm tra máy móc, thuốc thử.

#### **3.3. Sai số hệ thống**

Thường do dụng cụ không đảm bảo chính xác. Chất lượng hoá chất thuốc thử kém. Dòng điện không ổn định. Nhiệt độ phản ứng... dẫn đến kết quả xét nghiệm có xu hướng luôn thấp hơn hoặc luôn cao hơn so với trị số mong muốn.

Các sai số trên đặc biệt là sai số ngẫu nhiên và sai số hệ thống liên quan chặt chẽ đến độ chính xác (độ lặp lại) và độ xác thực (độ giá trị).

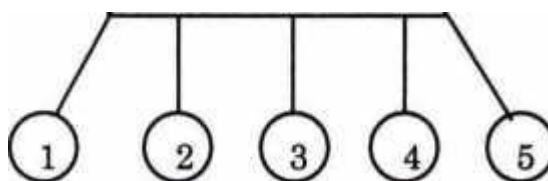
#### **4. Đánh giá chất lượng từ ngoài (ngoại kiểm)**

Có cơ quan chất lượng được thực hiện đúng quy chuẩn độc lập tổ chức kiểm tra định kỳ hoặc đột xuất bằng cách gửi mẫu xét nghiệm đến các labo trong hệ thống và thu thập, xử lý kết quả.

Tác dụng của đánh giá chất lượng từ ngoài là thống nhất được hệ thống hay nói cách khác làm cho các phòng xét nghiệm khác nhau cùng đưa ra một kết quả tương tự đối với một mẫu nghiệm.

Với hệ thống chất lượng xét nghiệm chặt chẽ, người ta yêu cầu các phòng xét nghiệm phải tham gia vào hệ thống đánh giá chất lượng.

Ví dụ:



Labo tham chiếu định kỳ gửi mẫu đến các labo 1, 2, 3, 4, 5 và sau đó thu thập kết quả, xử lý. Labo nào có kết quả tách rời xa các labo khác thì cần xem lại.

Các labo 1, 2, 3, 4, 5 chỉ được phép hoạt động nếu có giấy chứng nhận chất lượng định kỳ của labo tham chiếu.

### **5. Một số biện pháp đảm bảo chất lượng trong truyền máu**

#### **5.1. Chu trình truyền máu**

- Người cho máu: người cho khoẻ mạnh, tự nguyện
- Tuyển chọn: khám, tư vấn người cho
- Lấy máu: kỹ thuật lấy, điều kiện và dụng cụ lấy máu
- Sàng lọc bệnh nhiễm trùng: các trang bị, kít và kỹ thuật được áp dụng.
- Điều chế các thành phần máu
- Lưu trữ và phân phối
- Phát máu cho bệnh nhân và thực hành truyền máu.

#### **5.2. Yêu cầu của an toàn truyền máu**

- Không làm lây bệnh
- Không gây phản ứng (miễn dịch và không miễn dịch)

- Không làm ảnh hưởng sức khỏe của người nhận máu, người cho máu và nhân viên truyền máu.

- Có hiệu quả chữa bệnh.

### **5.3. Một số biện pháp đảm bảo chất lượng**

#### *Xây dựng và đảm bảo quy trình*

- Quy trình từ tuyển chọn người cho đến khám và lấy máu phải được xây dựng và loại trừ các yếu tố nhằm có người cho hoàn toàn mạnh khỏe, lấy máu an toàn.

- Đối tượng cho máu: quản lý được người cho máu, chú ý lấy ở nhóm ít nguy cơ lây nhiễm bệnh truyền qua đường máu nhằm an toàn cho người nhận, người cho, nhân viên.

- Quy trình và thủ tục ghi chép: nhằm kiểm tra được sức khỏe người cho, quản lý được người cho, không nhầm lẫn máu người này với người khác nhưng vẫn đảm bảo thuận tiện, tránh phiền hà.

- Quy trình nhận máu vào kho, thủ tục giao - nhận.

- Quy trình sàng lọc: từ tổ chức thực hiện kỹ thuật đến quy trình đào tạo cán bộ, quy trình chọn kít, quy trình xử lý chất thải bỏ và trả, thông báo kết quả.

- Quy trình sản xuất để không bị lây nhiễm từ ngoài, không lẫn máu người này với máu khác, thành phần này với thành phần khác. Thành phần máu phải được sản xuất kịp thời, sản phẩm có các thông tin cần thiết.

- Quy trình lưu trữ, phát máu, quy trình truyền máu lâm sàng: làm việc gì trước, việc gì sau, khi lĩnh cần chú ý gì, khi phát cần yêu cầu gì, khi truyền máu phải theo quy trình đã được xem xét và thống nhất.

#### *Áp dụng một số biện pháp tự kiểm tra*

- Tự kiểm tra phương tiện, dụng cụ: cân, dụng cụ xét nghiệm, đặt kế hoạch kiểm tra định kỳ có sổ theo dõi.

- Tự kiểm tra kít xét nghiệm và máy.

- Tự kiểm tra định nhóm bằng áp dụng định nhóm hai phương pháp, hai nhân viên độc lập. Kiểm tra hàng ngày các sinh phẩm sử dụng về tính đặc hiệu, độ nhạy, có sổ, giấy theo dõi, có người chịu trách nhiệm ký tên.

- Kiểm tra máu, sản phẩm máu.

- Khi công tác truyền máu có sử dụng hệ thống phần mềm quản lý, cần đặt các chế độ tự kiểm tra trong chương trình để làm sao khi có bất kỳ một sai sót nào sẽ có hệ thống báo động. Ví dụ, mã số của một đơn vị máu từ một người cho lại có hai

nhóm khác nhau ở hai chế phẩm (ví dụ khối hồng cầu có nhóm A, huyết tương có nhóm B) thì sẽ có báo động xuất hiện.

*Tham gia hệ thống chất lượng*

- Hệ thống kiểm tra quy trình.
- Hệ thống kiểm tra sản phẩm máu.
- Hệ thống kiểm tra chất lượng sàng lọc.

Để có máu và chế phẩm máu đạt chất lượng tốt cần có một trung tâm hoạt động độc lập, có nhiệm vụ tổ chức đánh giá chất lượng của các trung tâm truyền máu trong toàn hệ thống.

Căn cứ vào quy trình, phương pháp chuẩn đã được xây dựng, hàng năm hay hàng quý theo định kỳ, trung tâm này đến xem xét việc áp dụng quy trình, phương pháp. Đồng thời hàng quý hay hàng tháng trung tâm này gửi các mẫu xét nghiệm ví dụ định nhóm khó, mẫu huyết thanh cần sàng lọc đã biết mật độ quang cụ thể (với kỹ thuật ELISA sàng lọc virus) tới các trung tâm truyền máu.

Sau khi nhận được kết quả, trung tâm chất lượng sẽ thông báo lại và đề xuất hướng điều chỉnh. Trường hợp nhiều lần có sai số hay sai số có hệ thống không thể điều chỉnh thì trung tâm chất lượng có thể yêu cầu các cơ quan chức năng đình chỉ hoạt động của trung tâm truyền máu này.

### **Lượng giá**

1. Trình bày vai trò của kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học?
2. Trình bày nội dung của kiểm tra chất lượng xét nghiệm huyết học?

**PHẦN THỰC HÀNH**  
**BÀI 1: THỰC HÀNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC TRONG XÉT**  
**NGHIỆM HÓA SINH**

**MỤC TIÊU**

**\* Kiến thức**

1. Trình bày được các bước tiến hành đo độ chính xác và tiêu chuẩn đánh giá độ chính xác.

**\* Kỹ năng**

2. Lập được bảng đo nồng độ của chỉ số cần kiểm tra độ chính xác.

3. Vẽ được biểu đồ để đánh giá độ chính xác và nhận định được kết quả sau kiểm tra chất lượng.

**\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

4. Thể hiện được tính độc lập và tự chủ, tích cực trong quá trình làm việc.

**NỘI DUNG**

**1. Chuẩn bị**

**1.1. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất**

- Cuvet
- Ống nghiệm nhỏ
- Pipet
- Thuốc thử glucose, triglyceride
- Cốc mở
- Găng tay

**1.2. Chuẩn bị máy đo quang phổ**

- Kiểm tra máy trước khi thực hiện kỹ thuật đảm bảo máy vận hành tốt

**1.3. Chuẩn bị mẫu huyết thanh**

- Huyết thanh kiểm tra

**2. Tiến hành**

**2.1. Kiểm tra độ chính xác kỹ thuật đo nồng độ glucose bằng huyết thanh kiểm tra**

| STT                     | Các bước thực hiện                         |
|-------------------------|--|
| <b>Trước xét nghiệm</b> |  |
| 1.                      | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay |

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| 2.                             | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |
| 3.                             | Kiểm tra đôi chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |
| <b><i>Trong xét nghiệm</i></b> |  |
| 4.                             | Hút thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm  |
| 5.                             | Hút nước cất vào ống trắng   |
| 6.                             | Hút dung dịch glucose mẫu vào ống chuẩn  |
| 7.                             | Hút huyết thanh kiểm tra vào ống thử   |
| 8.                             | Lắc đều, ủ và đo mật độ quang  |
| 9.                             | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |
| 10.                            | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm   |
| <b><i>Sau xét nghiệm</i></b>   |  |
| 11.                            | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |
| 12.                            | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |

**2.2. Kiểm tra độ chính xác kỹ thuật đo nồng độ triglycecid bằng huyết thanh kiểm tra**

| STT                            | Các bước thực hiện   |
|--------------------------------|--|
| <b><i>Trước xét nghiệm</i></b> |  |
| 1.                             | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |
| 2.                             | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |
| 3.                             | Kiểm tra đôi chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |
| <b><i>Trong xét nghiệm</i></b> |  |
| 4.                             | Hút thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm  |
| 5.                             | Hút nước cất vào ống trắng   |
| 6.                             | Hút dung dịch triglycerid mẫu vào ống chuẩn  |
| 7.                             | Hút huyết thanh kiểm tra vào ống thử   |
| 8.                             | Lắc đều, ủ và đo mật độ quang  |
| 9.                             | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |

|                       |  |
|-----------------------|--|
| 10.                   | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm               |
| <b>Sau xét nghiệm</b> |  |
| 11.                   | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |
| 12.                   | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả           |

### 3. Các bước cần lưu ý

- Thực hiện đúng quy trình kỹ thuật để đảm bảo kết quả chính xác
- Tính toán các thông số để đánh giá độ chính xác

### 4. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật
- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

### 5. Lượng giá

**THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ**  
**QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT**  
**ĐO NỒNG ĐỘ GLUCOSE BẰNG HUYẾT THANH KIỂM TRA**

HỌ VÀ TÊN SV: .....

Ngày lượng giá: .....

| TT  | Các bước tiến hành   | Thang điểm |   |   | Hệ số |
|-----|--|------------|---|---|-------|
|     |  | 0          | 1 | 2 |       |
| 1   | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |            |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |            |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |            |   |   |       |
| 4   | Hút 1000µl thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm   |            |   |   |       |
| 5   | Hút 10µl nước cất vào ống trắng  |            |   |   |       |
| 6   | Hút 10µl dung dịch glucose mẫu vào ống chuẩn   |            |   |   |       |
| 7*  | Hút 10µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |            |   |   | 2     |
| 8   | Lắc đều, ủ 5 phút và đo mật độ quang   |            |   |   |       |
| 9*  | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |            |   |   | 2     |
| 10* | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm   |            |   |   | 2     |



|    |  |  |  |  |  |
|----|--|--|--|--|--|
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |  |  |  |  |
| 12 | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả           |  |  |  |  |

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 30

Quy định:

- Không làm = 0 điểm - Làm sai, làm không đầy đủ = 1 điểm

- Làm đúng, đầy đủ = 2 điểm

### THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ

#### QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT

#### ĐO NỒNG ĐỘ TRIGLYCERID TRONG HUYẾT THANH KIỂM TRA

HỌ VÀ TÊN SV: .....

Ngày lượng giá: .....

| TT  | Các bước tiến hành   | Thang điểm |   |   | Hệ số |
|-----|--|------------|---|---|-------|
|     |  | 0          | 1 | 2 |       |
| 1   | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |            |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |            |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |            |   |   |       |
| 4   | Hút 1000µl thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm   |            |   |   |       |
| 5   | Hút 10µl nước cất vào ống trắng  |            |   |   |       |
| 6   | Hút 10µl dung dịch triglycerid mẫu vào ống chuẩn                                     |            |   |   |       |
| 7*  | Hút 10µl t huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |            |   |   | 2     |
| 8   | Lắc đều, ủ 5 phút và đo mật độ quang   |            |   |   |       |
| 9*  | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |            |   |   | 2     |
| 10* | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm   |            |   |   | 2     |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |            |   |   |       |
| 12  | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |            |   |   |       |

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 30

Quy định:

- Không làm = 0 điểm - Làm sai, làm không đầy đủ = 1 điểm

- Làm đúng, đầy đủ = 2 điểm

## 6. Các phụ lục kèm theo

### 6.1. Quy trình kỹ thuật

#### QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT ĐO NỒNG ĐỘ GLUCOSE BẰNG HUYẾT THANH KIỂM TRA

| NỘI DUNG               |  | Ý nghĩa                             | Tiêu chuẩn đạt  |
|------------------------|--|-------------------------------------|---|
| Trước<br>xét<br>nghiệm | 1. Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay                        | Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc | Trang phục đầy đủ, đúng quy định                                      |
|                        | 2. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc.<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo | Bật máy, kiểm tra kênh đo           | Đúng, đầy đủ<br>Chọn đúng kênh đo                                     |
|                        | 3. Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử      | Đảm bảo không nhầm lẫn              | Đúng, đủ  |
| Trong<br>xét<br>nghiệm | 4. Hút thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm                                 | Đề thuốc thử phản ứng với cơ chất   | Hút đúng, đủ 1000µl thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm và không có bọt     |
|                        | 5. Hút nước cất vào ống trắng  | Đề thuốc thử phản ứng với cơ chất   | Hút đúng, đủ 10µl nước cất vào ống trắng                              |
|                        | 6. Hút dung dịch glucose mẫu vào ống chuẩn                           | Đề thuốc thử phản ứng với cơ chất   | Hút đúng, đủ 10µl dung dịch glucose mẫu vào ống chuẩn và không có bọt |
|                        | 7. Hút huyết thanh kiểm tra vào ống thử                              |                                     | Hút đúng, đủ 10 µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử và không có bọt   |
|                        | 8. Lắc đều, ủ và đo mật độ quang                                     | Để trộn đều hỗn dịch                | - Lắc đều, ủ 5 phút ở nhiệt độ 37 <sup>0</sup> C. Đo mật              |

|                |   |  |   |
|----------------|---|--|---|
|                |   | Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra<br>Đo mật độ quang của các mẫu                     | độ quang ở bước sóng 505nm<br>- Đủ thời gian. Đúng bước sóng, cách đo |
|                | 9. Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, | Hiểu được ý nghĩa của kỹ thuật   | Đọc, nhận định, phân tích đủ đúng.                                    |
|                | 10. Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                   | Đảm bảo chất lượng của xét nghiệm  | Đúng đủ   |
| Sau xét nghiệm | 11. Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          | - Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau<br>- Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh | Thu gom, phân loại chất thải đúng quy định                            |
|                | 12. Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                    | Trả kết quả, quản lý, theo dõi   | Đúng, đủ  |

**QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT  
ĐO NỒNG ĐỘ TRIGLYCERID TRONG HUYẾT THANH KIỂM TRA**

|                  | <b>NỘI DUNG</b>  | <b>Ý nghĩa</b>                      | <b>Tiêu chuẩn đạt</b>             |
|------------------|--|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Trước xét nghiệm | 1. Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay                        | Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc | Trang phục đầy đủ, đúng quy định  |
|                  | 2. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc.<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo | Bật máy, kiểm tra kênh đo           | Đúng, đầy đủ<br>Chọn đúng kênh đo |
|                  | 3. Kiểm tra đôi chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử      | Đảm bảo không nhầm lẫn              | Đúng, đủ                          |

|                        |   |  |  |
|------------------------|---|--|--|
| Trong<br>xét<br>nghiệm | 4. Hút thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm  | Đề thuốc thử phản ứng với cơ chất  | Hút đúng, đủ 1000 $\mu$ l thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm và không có bọt  |
|                        | 5. Hút nước cất vào ống trắng   | Đề thuốc thử phản ứng với cơ chất  | Hút đúng, đủ 10 $\mu$ l nước cất vào ống trắng   |
|                        | 6. Hút dung dịch triglycerid mẫu vào ống chuẩn  | Đề thuốc thử phản ứng với cơ chất  | Hút đúng, đủ 10 $\mu$ l dung dịch triglycerid mẫu vào ống chuẩn và không có bọt  |
|                        | 7. Hút huyết thanh kiểm tra vào ống thử   |  | Hút đúng, đủ 10 $\mu$ l huyết thanh kiểm tra vào ống thử và không có bọt   |
|                        | 8. Lắc đều, ủ và đo mật độ quang  | Đề trộn đều hỗn dịch<br>Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra<br>Đo mật độ quang của các mẫu | - Lắc đều, ủ 5 phút ở nhiệt độ 37 <sup>0</sup> C. Đo mật độ quang ở bước sóng 546nm<br>- Đủ thời gian. Đúng bước sóng, cách đo |
|                        | 9. Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, | Hiểu được ý nghĩa của kỹ thuật   | Đọc, nhận định, phân tích đủ đúng.   |
|                        | 10. Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                   | Đảm bảo chất lượng của xét nghiệm  | Đúng đủ  |
| Sau xét<br>nghiệm      | 11. Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          | - Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau<br>- Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh     | Thu gom, phân loại chất thải đúng quy định   |
|                        | 12. Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                    | Trả kết quả, quản lý, theo dõi   | Đúng, đủ   |

6.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT  
ĐO NỒNG ĐỘ GLUCOSE BẰNG HUYẾT THANH KIỂM TRA

| STT                     | NỘI DUNG   | TÊN:..... |           |
|-------------------------|--|-----------|-----------|
|                         |  | Đạt       | Không đạt |
| <b>Trước xét nghiệm</b> |  |           |           |
| 1.                      | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |           |           |
| 2.                      | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |           |           |
| 3.                      | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |           |           |
| <b>Trong xét nghiệm</b> |  |           |           |
| 4.                      | Hút 1000µl thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm   |           |           |
| 5.                      | Hút 10µl nước cất vào ống trắng  |           |           |
| 6.                      | Hút 10µl dung dịch glucose mẫu vào ống chuẩn   |           |           |
| 7.                      | Hút 10µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |           |           |
| 8.                      | Lắc đều, ủ 5 phút và đo mật độ quang   |           |           |
| 9.                      | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |           |           |
| 10.                     | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm   |           |           |
| <b>Sau xét nghiệm</b>   |  |           |           |
| 11.                     | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |           |           |
| 12.                     | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |           |           |

BẢNG KIỂM QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT  
ĐO NỒNG ĐỘ TRIGLYCERID TRONG HUYẾT THANH KIỂM TRA

| STT                     | NỘI DUNG | TÊN:..... |           |
|-------------------------|----------|-----------|-----------|
|                         |          | Đạt       | Không đạt |
| <b>Trước xét nghiệm</b> |          |           |           |

|                         |  |  |  |
|-------------------------|--|--|--|
| 1.                      | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |  |  |
| 2.                      | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |  |  |
| 3.                      | Kiểm tra đôi chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |  |  |
| <b>Trong xét nghiệm</b> |  |  |  |
| 4.                      | Hút 1000µl thuốc thử vào cả 3 ống nghiệm   |  |  |
| 5.                      | Hút 10µl nước cất vào ống trắng  |  |  |
| 6.                      | Hút 10µl dung dịch triglycerid mẫu vào ống chuẩn                                     |  |  |
| 7.                      | Hút 10µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |  |  |
| 8.                      | Lắc đều, ủ 5 phút và đo mật độ quang   |  |  |
| 9.                      | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |  |  |
| 10.                     | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm   |  |  |
| <b>Sau xét nghiệm</b>   |  |  |  |
| 11.                     | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |  |  |
| 12.                     | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |  |  |

### 6.3. Chỉ tiêu thực hành

#### CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: ..... Nhóm số:.....

| STT | Chỉ tiêu                                 | Yêu cầu đạt | Kết quả thực hiện | Xác nhận của người đánh giá |
|-----|--|-------------|-------------------|-----------------------------|
| 1   | Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật | 2           |                   |                             |
| 2   | Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV  | 1           |                   |                             |
| 3   | Số lần tự làm                            | 1           |                   |                             |

## BÀI 2: THỰC HÀNH KIỂM TRA ĐỘ XÁC THỰC TRONG XÉT NGHIỆM HÓA SINH

### MỤC TIÊU

#### \* Kiến thức

1. Trình bày được các bước tiến hành đo độ xác thực và tiêu chuẩn đánh giá độ xác thực.

#### \* Kỹ năng

2. Lập được bảng đo nồng độ của chỉ số cần kiểm tra độ xác thực.

3. Vẽ được biểu đồ để đánh giá độ xác thực và nhận định được kết quả sau kiểm tra chất lượng.

#### \* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

4. Thể hiện được tính độc lập và tự chủ, tích cực trong quá trình làm việc.

### NỘI DUNG

#### 1. Chuẩn bị

##### 1.1. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Cuvet
- Ống nghiệm nhỏ
- Pipet
- Thuốc thử AST, CK-MB
- Cốc mở
- Găng tay

##### 1.2. Chuẩn bị máy đo quang phổ

- Kiểm tra máy trước khi thực hiện kỹ thuật đảm bảo máy vận hành tốt

##### 1.3. Chuẩn bị mẫu huyết thanh

- Huyết thanh kiểm tra

#### 2. Tiến hành

##### 2.1. Kiểm tra độ xác thực kỹ thuật đo hoạt độ enzyme AST bằng huyết thanh kiểm tra

| STT                     | Các bước thực hiện   |
|-------------------------|--|
| <b>Trước xét nghiệm</b> |  |
| 1.                      | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay                     |
| 2.                      | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc. Bật máy, kiểm tra kênh đo |

|                         |  |
|-------------------------|--|
| 3.                      | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |
| <b>Trong xét nghiệm</b> |  |
| 4.                      | Pha thuốc thử làm việc 2R1: 1R2  |
| 5.                      | Hút 1000 $\mu$ l thuốc thử đã pha vào ống thử  |
| 6.                      | Hút 100 $\mu$ l huyết thanh kiểm tra vào ống thử                                     |
| 7.                      | Lắc đều và đo mật độ quang   |
| 8.                      | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |
| 9.                      | Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                    |
| <b>Sau xét nghiệm</b>   |  |
| 10.                     | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |
| 11.                     | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |

2.2. Kiểm tra độ xác thực kỹ thuật đo hoạt độ enzyme CK-MB bằng huyết thanh kiểm tra

| STT                     | Các bước thực hiện   |
|-------------------------|--|
| <b>Trước xét nghiệm</b> |  |
| 1.                      | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |
| 2.                      | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |
| 3.                      | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |
| <b>Trong xét nghiệm</b> |  |
| 4.                      | Pha thuốc thử làm việc 4R1: 1R2  |
| 5.                      | Hút 1000 $\mu$ l thuốc thử đã pha vào ống thử  |
| 6.                      | Hút 100 $\mu$ l huyết thanh kiểm tra vào ống thử                                     |
| 7.                      | Lắc đều và đo mật độ quang   |
| 8.                      | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |
| 9.                      | Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                    |
| <b>Sau xét nghiệm</b>   |  |
| 10.                     | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |



|     |  |
|-----|--|
| 11. | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả |
|-----|--|

### 3. Các bước cần lưu ý

- Thực hiện đúng quy trình kỹ thuật để đảm bảo kết quả chính xác
- Tính toán các thông số để đánh giá độ chính xác

### 4. Tổ chức thực hành

- Giảng viên làm mẫu: giảng viên thực hiện kỹ thuật
- Chia 2 sinh viên thành một nhóm, nêu yêu cầu về nội dung và chỉ tiêu thực tập. Sinh viên đánh giá chéo nhau qua bảng kiểm

### 5. Lượng giá

**THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ**  
**QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ XÁC THỰC KỸ THUẬT**  
**ĐO HOẠT ĐỘ AST TRONG HUYẾT THANH MẪU**

HỌ VÀ TÊN SV: .....

Ngày lượng giá: .....

| TT | Các bước tiến hành   | Thang điểm |   |   | Hệ số |
|----|--|------------|---|---|-------|
|    |  | 0          | 1 | 2 |       |
| 1  | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |            |   |   |       |
| 2  | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |            |   |   |       |
| 3  | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |            |   |   |       |
| 4* | Pha thuốc thử làm việc 2R1:1R2   |            |   |   | 2     |
| 5  | Hút 1000µl thuốc thử đã pha vào ống thử  |            |   |   |       |
| 6* | Hút 100µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử   |            |   |   | 2     |
| 7  | Lắc đều và đo mật độ quang   |            |   |   |       |
| 8  | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |            |   |   | 2     |
| 9* | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm   |            |   |   | 2     |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |            |   |   |       |
| 11 | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |            |   |   |       |

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 30

Quy định:

- Không làm = 0 điểm
- Làm sai, làm không đầy đủ = 1 điểm

- Làm đúng, đầy đủ = 2 điểm

**THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ**  
**QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT**  
**ĐO HOẠT ĐỘ CK-MB TRONG HUYẾT THANH KIỂM TRA**  
**HỌ VÀ TÊN SV: .....**  
**Ngày lượng giá: .....**

| TT | Các bước tiến hành  | Thang điểm |   |   | Hệ số |
|----|---|------------|---|---|-------|
|    |   | 0          | 1 | 2 |       |
| 1  | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay  |            |   |   |       |
| 2  | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                        |            |   |   |       |
| 3  | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống<br>trắng, chuẩn, thử                         |            |   |   |       |
| 4* | Pha thuốc thử làm việc 4R1:1R2  |            |   |   | 2     |
| 5  | Hút 1000µl thuốc thử đã pha vào ống thử   |            |   |   |       |
| 6* | Hút 100µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |            |   |   | 2     |
| 7  | Lắc đều và đo mật độ quang  |            |   |   |       |
| 8* | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây<br>sai lệch kết quả và cách khắc phục, |            |   |   | 2     |
| 9* | Đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm  |            |   |   | 2     |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng<br>diệt khuẩn                           |            |   |   |       |
| 11 | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả  |            |   |   |       |

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 30

Quy định:

- Không làm = 0 điểm - Làm sai, làm không đầy đủ = 1 điểm

- Làm đúng, đầy đủ = 2 điểm

6. Các phụ lục kèm theo

6.1. Quy trình kỹ thuật

**QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ XÁC THỰC KỸ THUẬT**  
**ĐO HOẠT ĐỘ AST TRONG HUYẾT THANH MẪU**

| NỘI DUNG | Ý nghĩa | Tiêu chuẩn đạt |
|----------|---------|----------------|
|----------|---------|----------------|

|                  |  |   |   |
|------------------|--|---|---|
| Trước xét nghiệm | 1. Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay  | Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc                 | Trang phục đầy đủ, đúng quy định  |
|                  | 2. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc.<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                   | Bật máy, kiểm tra kênh đo                           | Đúng, đầy đủ<br>Chọn đúng kênh đo   |
|                  | 3. Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                        | Đảm bảo không nhầm lẫn                              | Đúng, đủ  |
| Trong xét nghiệm | 4. Pha thuốc thử làm việc  | Để thuốc thử phản ứng với cơ chất                   | Pha đúng tỉ lệ :2R1:1R2   |
|                  | 5. Hút thuốc thử đã pha vào ống thử  | Để thuốc thử phản ứng với cơ chất                   | Hút đúng, đủ 1000 $\mu$ l thuốc thử đã pha vào ống thử                      |
|                  | 6. Hút huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |   | Hút đúng, đủ 100 $\mu$ l huyết thanh kiểm tra vào ống thử và không có bọt   |
|                  | 7. Lắc đều và đo mật độ quang  | Để trộn đều hỗn dịch<br>Đo mật độ quang của các mẫu | - Lắc đều và đo mật độ quang ở bước sóng 340nm<br>- Đúng bước sóng, cách đo |
|                  | 8. Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục | Hiểu được ý nghĩa của kỹ thuật                      | Đọc, nhận định, phân tích đủ đúng.  |
|                  | 9. Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                   | Đảm bảo chất lượng của xét nghiệm                   | Đúng đủ   |
| Sau xét nghiệm   | 10. Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay  | - Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau            | Thu gom, phân loại chất thải đúng quy định                                  |

|  |  |  |          |
|--|--|--|----------|
|  | bằng xà phòng diệt khuẩn                             | - Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh |          |
|  | 11. Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả | Trả kết quả, quản lý, theo dõi           | Đúng, đủ |

**QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT  
ĐO HOẠT ĐỘ CK-MB TRONG HUYẾT THANH KIỂM TRA**

|                        | <b>NỘI DUNG</b>   | <b>Ý nghĩa</b>                                      | <b>Tiêu chuẩn đạt</b>   |
|------------------------|---|---|---|
| Trước<br>xét<br>nghiệm | 1. Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay                     | Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc                 | Trang phục đầy đủ, đúng quy định  |
|                        | 2. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc. Bật máy, kiểm tra kênh đo | Bật máy, kiểm tra kênh đo                           | Đúng, đầy đủ<br>Chọn đúng kênh đo   |
|                        | 3. Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử   | Đảm bảo không nhầm lẫn                              | Đúng, đủ  |
| Trong<br>xét<br>nghiệm | 4. Pha thuốc thử làm việc   | Để thuốc thử phản ứng với cơ chất                   | Pha đúng tỉ lệ :4R1: 1R2  |
|                        | 5. Hút thuốc thử đã pha vào ống thử                               | Để thuốc thử phản ứng với cơ chất                   | Hút đúng, đủ 1000µl thuốc thử đã pha vào ống thử                            |
|                        | 6. Hút huyết thanh kiểm tra vào ống thử                           |   | Hút đúng, đủ 100 µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử và không có bọt        |
|                        | 7. Lắc đều và đo mật độ quang                                     | Để trộn đều hỗn dịch<br>Đo mật độ quang của các mẫu | - Lắc đều và đo mật độ quang ở bước sóng 340nm<br>- Đúng bước sóng, cách đo |

|                |  |  |  |
|----------------|--|--|--|
|                | 8. Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục | Hiểu được ý nghĩa của kỹ thuật   | Đọc, nhận định, phân tích đủ đúng.         |
|                | 9. Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                   | Đảm bảo chất lượng của xét nghiệm  | Đúng đủ                                    |
| Sau xét nghiệm | 10. Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                         | - Thuận tiện khi sử dụng dụng cụ lần sau<br>- Giảm sự lây nhiễm vi sinh vật gây bệnh | Thu gom, phân loại chất thải đúng quy định |
|                | 11. Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                   | Trả kết quả, quản lý, theo dõi   | Đúng, đủ                                   |

### 6.2. Bảng kiểm

#### BẢNG KIỂM QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ XÁC THỰC KỸ THUẬT ĐO HOẠT ĐỘ AST TRONG HUYẾT THANH MẪU

| STT                            | NỘI DUNG   | TÊN:..... |           |
|--------------------------------|--|-----------|-----------|
|                                |  | Đạt       | Không đạt |
| <b><i>Trước xét nghiệm</i></b> |  |           |           |
| 1.                             | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |           |           |
| 2.                             | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |           |           |
| 3.                             | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống trắng, chuẩn, thử                         |           |           |
| <b><i>Trong xét nghiệm</i></b> |  |           |           |
| 4.                             | Pha thuốc thử làm việc 2R1: 1R2  |           |           |
| 5.                             | Hút 1000µl thuốc thử đã pha vào ống thử  |           |           |
| 6.                             | Hút 100 µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử  |           |           |
| 7.                             | Lắc đều và đo mật độ quang   |           |           |
| 8.                             | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |           |           |

|                       |  |  |  |
|-----------------------|--|--|--|
| 9.                    | Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm          |  |  |
| <b>Sau xét nghiệm</b> |  |  |  |
| 10.                   | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |  |  |
| 11.                   | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả           |  |  |

**BẢNG KIỂM QUY TRÌNH KIỂM TRA ĐỘ CHÍNH XÁC KỸ THUẬT  
ĐO HOẠT ĐỘ CK-MB TRONG HUYẾT THANH KIỂM TRA**

| STT                     | NỘI DUNG   | TÊN:..... |           |
|-------------------------|--|-----------|-----------|
|                         |  | Đạt       | Không đạt |
| <b>Trước xét nghiệm</b> |  |           |           |
| 1.                      | Mặc áo blouse, đeo khẩu trang, đi găng tay   |           |           |
| 2.                      | Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, máy móc<br>Bật máy, kiểm tra kênh đo                     |           |           |
| 3.                      | Kiểm tra đối chiếu mẫu kiểm tra. Ghi 3 ống thử, chuẩn, thử                           |           |           |
| <b>Trong xét nghiệm</b> |  |           |           |
| 4.                      | Pha thuốc thử làm việc 4R1: 1R2  |           |           |
| 5.                      | Hút 1000µl thuốc thử đã pha vào ống thử  |           |           |
| 6.                      | Hút 100µl huyết thanh kiểm tra vào ống thử   |           |           |
| 7.                      | Lắc đều và đo mật độ quang   |           |           |
| 8.                      | Đọc, nhận định kết quả, phân tích các yếu tố gây sai lệch kết quả và cách khắc phục, |           |           |
| 9.                      | Cách đánh giá độ chính xác của kết quả xét nghiệm                                    |           |           |
| <b>Sau xét nghiệm</b>   |  |           |           |
| 10.                     | Thu dọn và xử lý dụng cụ, rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                           |           |           |
| 11.                     | Ghi kết quả vào sổ lưu. Sao kết quả, trả kết quả                                     |           |           |

**6.3. Chỉ tiêu thực hành**

**CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH**

Tên sinh viên: ..... Nhóm số:.....

| STT | Chỉ tiêu                                 | Yêu cầu đạt | Kết quả thực hiện | Xác nhận của người đánh giá |
|-----|--|-------------|-------------------|-----------------------------|
| 1   | Số lần quan sát GV/SV thực hiện kỹ thuật | 2           |                   |                             |
| 2   | Số lần thực hiện có hướng dẫn của GV/NV  | 1           |                   |                             |
| 3   | Số lần tự làm                            | 1           |                   |                             |

## **BÀI 3. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC ĐÔNG MÁU- TRUYỀN MÁU**

### **MỤC TIÊU**

#### **\* Kỹ năng**

1. Thực hiện được cách tính các chỉ số kiểm tra độ chính xác xét nghiệm đông máu- truyền máu.
2. Nhận định được kết quả kiểm tra độ chính xác xét nghiệm đông máu- truyền máu...

#### **\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

### **NỘI DUNG**

#### **1. Kiểm tra chất lượng và vai trò trong xét nghiệm đông máu.**

Nội kiểm tra được thực hiện bởi chính labo/ khoa xét nghiệm để theo dõi trực tiếp và liên tục hoạt động của labo, nhằm đưa ra biện pháp sửa chữa kịp thời, đáp ứng mọi yêu cầu của lâm sàng.

#### **2. Xây dựng quy trình và kiểm tra thực hiện qui trình**

##### **2.1. Nội kiểm trước khi thực hiện xét nghiệm**

- Kiểm tra sinh phẩm hoá chất.
- Kiểm tra phương tiện

##### **2.2. Nội kiểm trong khi thực hiện xét nghiệm**

- Kiểm tra lặp lại 1-2 mẫu bệnh phẩm (Mẫu chuẩn 3 mức độ)
- Chạy mẫu kiểm tra: xây dựng biểu đồ Levey – Jennings
- Ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm

##### **2.3. Nội kiểm sau khi thực hiện xét nghiệm**

#### **3. Kiểm tra chất lượng trong huyết học tế bào**

Ví dụ minh họa: xây dựng được biểu đồ Levey – Jennings và ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm

Bước 1: Phân tích lô nội kiểm mới khi lô cũ gần hết hạn

Khi lô nội kiểm cũ gần hết hạn (còn khoảng 5 ngày) bạn sẽ tiến hành chạy lô nội kiểm mới song song. Để làm được điều này cần yêu cầu nhà cung cấp chuyển lô nội kiểm mới về trước khi lô cũ hết hạn. Thông thường 1 lô nội kiểm huyết học sẽ có thời gian từ 2-3 tháng. Khi lô nội kiểm cũ còn khoảng 5 ngày ta sẽ lấy lô nội



kiểm mới chạy song song, mỗi ngày chạy lặp lại 4 lần (CLSI C24-A3) cho từng mức QC. Hết 5 ngày bạn sẽ thu được 20 dữ liệu cho từng mức QC.

Với 20 dữ liệu này ta sẽ tính toán được giá trị Mean, SD và CV. Lưu ý loại bỏ các điểm vi phạm 1-3s (so sánh với dải của NSX) nếu có. Trên Excel bạn tính Mean bằng hàm Average, SD bằng hàm STDEV,  $CV = SD/Mean \times 100$ . Sau khi tính toán xong bạn không dùng SD này để làm dải mới vì giá trị SD của 20 điểm này rất nhỏ. Bạn sẽ không thể duy trì dải theo giá trị này mà cần tính lại SD bằng cách sử dụng CV cộng dồn.

|                  |            |                         |
|------------------|------------|-------------------------|
| Tên QC 1: MEK 5D | Số lô: 212 | Hạn sử dụng: 05/05/2021 |
| Tên QC 2: MEK 5D | Số lô: 212 | Hạn sử dụng: 05/05/2021 |
| Tên QC 3: MEK 5D | Số lô: 212 | Hạn sử dụng: 05/05/2021 |

| Khoảng chấp nhận của NSX | <i>QC mức 1</i> | <i>QC mức 2</i> | <i>QC mức 3</i> | <i>Người thực hiện</i> |
|--------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|
|                          | 2.94 ± 0.6      | 7.90 ± 0.8      | 24.70 ± 2.2     |                        |
| Lần 1                    | 2.93            | 8.05            | 24.9            |                        |
| Lần 2                    | 2.96            | 7.97            | 25.28           |                        |
| Lần 3                    | 2.95            | 8.07            | 25.09           |                        |
| Lần 4                    | 2.96            | 8.09            | 25.27           |                        |
| Lần 5                    | 2.95            | 8.21            | 25.06           |                        |
| Lần 6                    | 2.95            | 8.03            | 25.17           |                        |
| Lần 7                    | 2.95            | 8.08            | 25.44           |                        |
| Lần 8                    | 2.92            | 8.01            | 25.11           |                        |
| Lần 9                    | 3.11            | 8.04            | 24.67           |                        |
| Lần 10                   | 2.91            | 7.96            | 24.77           |                        |
| Lần 11                   | 2.99            | 8.2             | 25.25           |                        |
| Lần 12                   | 2.91            | 8.08            | 25.18           |                        |
| Lần 13                   | 3.03            | 8.06            | 25.23           |                        |
| Lần 14                   | 3.09            | 8.08            | 25.17           |                        |
| Lần 15                   | 2.91            | 8.07            | 24.63           |                        |
| Lần 16                   | 2.95            | 8.1             | 25.33           |                        |
| Lần 17                   | 2.98            | 8.09            | 24.93           |                        |
| Lần 18                   | 2.84            | 8.05            | 25.08           |                        |
| Lần 19                   | 2.93            | 8.18            | 25.3            |                        |
| Lần 20                   | 2.88            | 7.92            | 24.88           |                        |
| <b>Trung bình</b>        | <b>2.96</b>     | <b>8.07</b>     | <b>25.09</b>    |                        |
| <b>CV</b>                | 2.16            | 0.91            | 0.89            |                        |
| <b>CV (cộng dồn)</b>     | 2.61            | 1.34            | 0.94            |                        |
| <b>SD mới</b>            | 0.08            | 0.11            | 0.24            |                        |
| <b>Range</b>             | 2.81-3.11       | 7.85-8.29       | 24.62-25.56     |                        |

Bước 2: Tính giá trị CV cộng dồn

CV cộng dồn là giá trị CV của các lô nội kiểm trước đó. Bạn sẽ dùng CV cộng dồn của khoảng 3 lô nội kiểm trước đó (CLSI H26-A2). Nếu không đủ dữ liệu CV của 3 lô bạn có thể dùng CV cộng dồn của 3-6 tháng trước đó.

Để tính CV cộng dồn bạn sử dụng công thức:

$$\% \text{ CV cộng dồn} = ((\text{CV lot A} \times \text{số điểm chạy lot A}) + (\text{CV lot B} \times \text{số điểm chạy lot B}) + (\text{CV lot C} \times \text{số điểm chạy lot C})) / (\text{tổng số điểm chạy})$$

Ví dụ minh họa (theo CLSI H26-A2):

| WBC $\times 10^9/L$ |      |                |     |
|---------------------|------|----------------|-----|
| Lot Number          | Mean | Number of Runs | %CV |
| 123                 | 7.8  | 30             | 2.3 |
| 124                 | 8.0  | 22             | 4.6 |
| 125                 | 8.1  | 41             | 2.1 |

$$\text{AverageWeighted}\%CV = \frac{(30)(2.3) + (22)(4.6) + (41)(2.1)}{30 + 22 + 41} = 2.76$$

Như vậy bạn đã có giá trị CV cộng dồn. Giờ ta sẽ dùng giá trị CV cộng dồn này để tính SD mới.

Bước 3: Tính lại giá trị SD cho lô QC mới

Ở bước 1 bạn đã tính được CV của 20 điểm bằng cách lấy SD của 20 điểm / Mean x 100. Giờ ta sẽ thay CV của 20 điểm này bằng CV cộng dồn để tính lại SD. Khi đó SD mới sẽ bằng:  $SD \text{ mới} = CV \text{ cộng dồn} \times \text{Mean} / 100$ .

Ví dụ minh họa:

Vẫn theo ví dụ trên, sau khi có CV cộng dồn ta tính lại SD mới như sau:

$$SD = \frac{(\text{AverageWeighted}\%CV)(\text{Mean})}{100} = \frac{(2.76)(7.5)}{100} = 0.20$$

Như vậy sau bước này bạn sẽ có được SD mới. SD này cần đảm bảo 2 điều kiện là nhỏ hơn SD của NSX và lớn hơn SD của 20 điểm. SD này sẽ đảm bảo dải mới hẹp hơn dải của NSX nhưng không quá nhỏ để gây khó khăn khi duy trì dải.

Sau khi có SD mới này bạn sẽ có dải QC mới cho PXN là Mean (20 điểm)  $\pm$  2SD mới. Tuy nhiên bạn cần kiểm tra lại dải QC này xem có phù hợp không? Tức là dải QC này phải nhỏ hơn và nằm trong dải QC của NSX. Nếu dải QC này nằm ngoài dải QC của NSX (đôi khi gặp) thì có thể do Mean của bạn quá khác so với Mean của NSX. Khi đó bạn không được dùng dải mới này và cần chuẩn lại máy sau đó chạy lại 20 điểm để tính lại Mean. Để tránh trường hợp này ngay khi chạy những lần QC đầu của lô mới bạn cần so sánh Mean của PXN với Mean của NSX. Đảm bảo Bias không quá giới hạn cho phép.

#### Bước 4: Áp dụng dải QC mới

Sau khi đã tính lại dải và chấp nhận dải mới bạn có thể sử dụng dải này cho lô nội kiểm mới. Bạn có thể dùng dải này để cài đặt lại trên máy XN thay thế cho dải QC của NSX trên máy. Tuy nhiên qua thực tế giá trị của QC huyết học sẽ bị thay đổi theo thời gian. Có những xét nghiệm có xu hướng tăng dần, có những xét nghiệm lại có xu hướng giảm dần. Đặc biệt là khi thay lọ hóa chất nội kiểm mới (dù đang cùng lô) sẽ càng dao động mạnh. Như vậy các vi phạm westgard sẽ xảy ra, thậm chí rất nhiều loại vi phạm cùng xảy ra.

Bước 5: Duy trì dải QC để duy trì được dải QC mới này là vô cùng khó khăn. Để duy trì được dải đầu tiên cần thực hiện phân tích mẫu nội kiểm hết sức cẩn trọng.

Giải pháp quan trọng hơn là phải thường xuyên xây dựng lại dải trong khi duy trì lô nội kiểm. Tức là dải QC xây dựng ban đầu ở trên chỉ coi là dải QC tạm thời. Trong quá duy trì lô đó phải thường xuyên tính lại Mean và SD.

Thông thường sau khoảng 30 điểm QC, 60 điểm QC...ta sẽ tính lại Mean (gọi là Mean cộng dồn) và SD để cho ra dải mới (CLSI C24-A3). Tức là sau 30 điểm QC, 60 điểm QC bạn sẽ tính lại Mean rồi kết hợp CV cộng dồn để tính lại SD. Khi đó bạn lại có dải mới.

*Tóm lại để xây dựng lại và duy trì dải cho QC huyết học bạn cần thực hiện như sau*

- Chạy 20 điểm ban đầu để có giá trị Mean
- Kết hợp CV cộng dồn để tính SD mới. Khi đó sẽ có dải mới tạm thời là  $\text{Mean} \pm 2\text{SD}$ .
- Định kỳ tính lại Mean và SD để hình thành các dải mới trong suốt quá trình duy trì lô QC.

#### **4. Thực hành xây dựng biểu đồ Levey – Jennings và ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm prothrombin time (PT)**

##### **4.1. Chuẩn bị**

- \* Dụng cụ, hóa chất
  - Bình cách thủy 37<sup>0</sup>
  - CaCl<sub>2</sub> M/40.
  - Ống nghiệm thủy tinh khô và sạch.
  - Pipet
  - Đồng hồ bấm dây.
  - Thromboplastin Calci
- \* Mẫu nội kiểm 3 mức độ: thấp, trung bình, cao

\* Địa điểm: Phòng thực hành Huyết học

#### 4.2. Tiến hành

### QUY TRÌNH NỘI KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN PT

| STT | NỘI DUNG  | Ý NGHĨA   | TIÊU CHUẨN   |
|-----|---|---|--|
| 1   | Chuẩn bị nhân viên y tế                         | Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm<br>Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc | - Trang phục đúng quy định, gọn gàng, đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng<br>- Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn   |
|     | Chuẩn bị dụng cụ                                | Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi  | Dụng cụ chích máu, thùng rác thải y tế, đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm. Đầy đủ, sạch - vô khuẩn sắp xếp theo thứ tự<br>Còn sát khuẩn, CaCl <sub>2</sub> M/40, Thromboplastin Calci |
|     | Chuẩn bị hóa chất                               |   |  |
| 2   | Chuẩn bị người bệnh                             | Người bệnh hợp tác  | Nghi ngại trước khi thực hiện kỹ thuật 15 phút, kiểm tra đối chiếu thông tin của người bệnh với chỉ định xét nghiệm, giải thích để người bệnh hợp tác  |
| 3   | Chuẩn bị mẫu nội kiểm                           | KQ chính xác  | 50 µl của mỗi mức độ   |
| 4   | Đánh dấu ống nghiệm 3 mức độ                    | Tránh nhầm lẫn  | Ghi đủ thông tin : mức độ, số lô sản xuất  |
| 5   | Cho huyết tương vào 2 ống nghiệm thủy tinh      | Huyết tương nghèo tiểu cầu  | Mỗi ống 0,2 ml huyết tương. , ủ 37°C x 5 phút.   |
| 6   | Cho thromboplastin calci. Bấm đồng hồ tính giờ. | Quá trình đông máu sẽ tiếp tục sau khi có thromboplastin calci                  | Cho 0,2 ml thromboplastin calci, bấm đồng hồ tính giờ.<br>Trộn đều trong bình cách thủy 37°C   |

|    |                                      |   |  |
|----|--------------------------------------|---|--|
| 7  | Quan sát màng đông                   | Theo dõi quá trình đông.                  | Sau 9 giây đảo nhẹ và quan sát nhanh thấy màng đông bám đồng hồ dừng lại                               |
| 8  | Đọc kết quả và tính kết quả theo INR | Nhận định đúng kết quả,                   | Ghi lại kết quả của 3 mức độ   |
| 9  | Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải  | Đảm bảo an toàn sinh học                  | Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn, xử lý rác thải theo quy định |
| 10 | Rửa tay                              | Đảm bảo ATSH                              | Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy  |
| 11 | Ghi kết quả vào sổ lưu               | Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi | Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi  |

\*. Kết quả

Tính theo chỉ số hiệu chỉnh quốc tế INR.

$INR = (PT \text{ bệnh} / PT \text{ chứng})^{ISI}$

#### 4.3. Các bước cần lưu ý

#### 4.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật
- Sau khi có đủ ít nhất 20 dữ liệu kết quả PT theo INR, cá sinh viên tính kết quả mean, SD, 2SD và vẽ biểu đồ Levey – Jennings và ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm soát kết quả xét nghiệm PT.

#### 4.5. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM QUY TRÌNH NỘI KIỂM KỸ THUẬT ĐO THỜI GIAN PT

| STT | NỘI DUNG                | TIÊU CHUẨN  | Đánh giá |           |
|-----|-------------------------|---|----------|-----------|
|     |                         |   | Đạt      | Không đạt |
|     | Chuẩn bị nhân viên y tế | - Trang phục đúng quy định, gọn gàng, đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng |          |           |

|   |   |   |  |  |
|---|---|---|--|--|
| 1 |   | - Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn   |  |  |
|   | Chuẩn bị dụng cụ                                | Dụng cụ chích máu, thùng rác thải y tế, đồng hồ bấm giây, bình cách thủy, ống nghiệm. Đầy đủ, sạch - vô khuẩn sắp xếp theo thứ tự                     |  |  |
|   | Chuẩn bị hóa chất                               | Cồn sát khuẩn, CaCl <sub>2</sub> M/40, Thromboplastin Calci   |  |  |
| 2 | Chuẩn bị người bệnh                             | Nghỉ ngơi trước khi thực hiện kỹ thuật 15 phút, kiểm tra đối chiếu thông tin của người bệnh với chỉ định xét nghiệm, giải thích để người bệnh hợp tác |  |  |
| 3 | Chuẩn bị mẫu nội kiểm                           | 50 µl của mỗi mức độ  |  |  |
| 4 | Đánh dấu ống nghiệm 3 mức độ                    | Ghi đủ thông tin : mức độ, số lô sản xuất   |  |  |
| 5 | Cho huyết tương vào 2 ống nghiệm thủy tinh      | Mỗi ống 0,2 ml huyết tương, ủ 37°C x 5 phút.  |  |  |
| 6 | Cho thromboplastin calci. Bấm đồng hồ tính giờ. | Cho 0,2 ml thromboplastin calci, bấm đồng hồ tính giờ. Trộn đều trong bình cách thủy 37°C   |  |  |
| 7 | Quan sát màng đông                              | Sau 9 giây đảo nhẹ và quan sát nhanh thấy màng đông bấm đồng hồ dừng lại  |  |  |
| 8 | Đọc kết quả và tính kết quả theo INR            | Ghi lại kết quả của 3 mức độ  |  |  |

|    |                                     |  |  |  |
|----|-------------------------------------|--|--|--|
| 9  | Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải | Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn, xử lý rác thải theo quy định |  |  |
| 10 | Rửa tay                             | Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy  |  |  |
| 11 | Ghi kết quả vào sổ lưu              | Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi  |  |  |

## **BÀI 4. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC TẾ BÀO MỤC TIÊU**

### **\* Kỹ năng**

1. Thực hiện được cách tính các chỉ số kiểm tra độ chính xác xét nghiệm tế bào.
2. Nhận định được kết quả kiểm tra độ chính xác xét nghiệm tế bào.

### **\* Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

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

## **NỘI DUNG**

### **1. Xây dựng quy trình và kiểm tra thực hiện quy trình**

#### 1.1. Nội kiểm trước khi thực hiện xét nghiệm

- Kiểm tra sinh phẩm hoá chất.
- Kiểm tra phương tiện

#### 1.2. Nội kiểm trong khi thực hiện xét nghiệm

- Kiểm tra lặp lại 1-2 mẫu bệnh phẩm (Mẫu chuẩn 3 mức độ)
- Chạy mẫu kiểm tra: xây dựng biểu đồ Levey – Jennings
- Ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm

#### 1.3. Nội kiểm sau khi thực hiện xét nghiệm

### **2. Kiểm tra chất lượng trong huyết học tế bào**

Thực hành xây dựng biểu đồ Levey – Jennings và ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm đo thể tích khối hồng cầu bằng phương pháp vi lượng (microhematocrit)

#### 2.1. Chuẩn bị

##### **\* Dụng cụ**

- Dụng cụ lấy máu mao quản hay tĩnh mạch.
- Ống vi thể tích loại có tráng heparin hay loại thường.
- Máy ly tâm vi thể tích.
- Đất sét hay chất matis.
- Thước đo kết quả kèm theo máy.

\* *Hóa chất*: Chất chống đông EDTA nếu bệnh phẩm là máu tĩnh mạch.

\* *Bệnh phẩm*: mẫu nội kiểm 3 mức độ

#### 2.2. Tiến hành



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT NỘI KIỂM  
ĐO THỂ TÍCH KHỐI HỒNG CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI LƯỢNG**

| <b>STT</b> | <b>NỘI DUNG</b>  | <b>Ý NGHĨA</b>  | <b>TIÊU CHUẨN</b>   |
|------------|--|---|---|
| 1          | Chuẩn bị nhân viên y tế<br>Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng     | Đảm bảo an toàn cho người làm xét nghiệm<br>Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc | - Trang phục đúng quy định, gọn gàng<br>- Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn   |
| 2          | Chuẩn bị dụng cụ:<br>Chuẩn bị hóa chất:<br>Chuẩn bị bệnh phẩm: | Giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi  | - Thùng rác thải y tế, bông thấm nước. Bảng vi thể tích, ống vi thể tích.<br>- Cồn sát khuẩn, đất sét hoặc matis.<br>- Mẫu nội kiểm |
| 3          | Kiểm tra đối chiếu mẫu mẫu nội kiểm với phiếu xét nghiệm       | Tránh nhầm lẫn  | Đúng thông tin của mẫu nội kiểm   |
| 4          | Ghi mã số mẫu nội kiểm   | Tránh nhầm lẫn  | Ghi đầy đủ thông tin của các mẫu QC ở 3 mức độ  |
| 5          | Lắc trộn đều ống mẫu   | Lấy đủ lượng máu  | Nhẹ nhàng và trộn đều   |
| 6          | Lấy mẫu vào ống vi thể tích                                    | Mẫu lắc trộn đều  | Dùng 1 đầu ống máu mao dẫn mẫu vào $\frac{3}{4}$ ống.<br>+ Mẫu TM có chống đông dùng ống thường                                     |
| 7          | Lau mẫu ở ống vi thể tích                                      | Lượng mẫu đủ và đúng  | Lau sạch mẫu ở đầu ống vi thể tích bằng gạc sạch.   |
| 8          | Bịt 1 đầu của ống vi thể tích                                  | Mẫu không bị văng ra máy ly tâm   | Bịt kín 1 đầu bằng matis hay đất sét, đầu không lấy mẫu   |
| 9          | Ly tâm   | Lắng các tế bào mẫu bằng lực ly tâm   | 10.000v/phút x 5 phút   |

|    |                                     |   |  |
|----|-------------------------------------|---|--|
| 10 | Đọc và nhận định kết quả            | Kết quả XN chính xác                      | 10.000v/phút x 5 phút  |
| 11 | Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải | Đảm bảo an toàn sinh học                  | Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn, xử lý rác thải theo quy định |
| 12 | Rửa tay                             | Đảm bảo ATSH                              | Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy  |
| 13 | Ghi kết quả vào sổ lưu              | Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi | Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi  |

### 2.3. Các bước cần lưu ý

### 2.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật
- Sau khi có đủ ít nhất 20 dữ liệu kết quả Hematocrit, các sinh viên tính kết quả mean, SD, 2SD và vẽ biểu đồ Levey – Jennings và ứng dụng quy tắc Westgard trong kiểm soát kết quả xét nghiệm Hematocrit.

### 2.5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

#### BẢNG KIỂM KỸ THUẬT NỘI KIỂM ĐO THỂ TÍCH KHỐI HỒNG CẦU BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI LƯỢNG

| STT | NỘI DUNG   | TIÊU CHUẨN  | ĐÁNH GIÁ |           |
|-----|--|---|----------|-----------|
|     |  |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị nhân viên y tế<br>Đội mũ, đeo khẩu trang, đi găng     | - Trang phục đúng quy định, gọn gàng<br>- Tóc gọn gàng, móng tay cắt ngắn   |          |           |
| 2   | Chuẩn bị dụng cụ:<br>Chuẩn bị hóa chất:<br>Chuẩn bị bệnh phẩm: | - Thùng rác thải y tế, bông thấm nước. Bảng vi thể tích, ống vi thể tích.<br>- Cồn sát khuẩn, đất sét hoặc matis. |          |           |

|    |  |  |  |  |
|----|--|--|--|--|
|    |  | - Mẫu nội kiểm   |  |  |
| 3  | Kiểm tra đối chiếu mẫu mẫu nội kiểm với phiếu xét nghiệm | Đúng thông tin của mẫu nội kiểm  |  |  |
| 4  | Ghi mã số mẫu nội kiểm                                   | Ghi đầy đủ thông tin của các mẫu QC ở 3 mức độ   |  |  |
| 5  | Lắc trộn đều ống mẫu                                     | Nhẹ nhàng và trộn đều  |  |  |
| 6  | Lấy mẫu vào ống vi thể tích                              | Dùng 1 đầu ống máu mao dẫn mẫu vào $\frac{3}{4}$ ống.<br>+ Mẫu TM có chống đông dùng ống thường        |  |  |
| 7  | Lau mẫu ở ống vi thể tích                                | Lau sạch mẫu ở đầu ống vi thể tích bằng gạc sạch.  |  |  |
| 8  | Bịt 1 đầu của ống vi thể tích                            | Bịt kín 1 đầu bằng matis hay đất sét, đầu không lấy mẫu  |  |  |
| 9  | Ly tâm   | 10.000v/phút x 5 phút  |  |  |
| 10 | Đọc và nhận định kết quả                                 | 10.000v/phút x 5 phút  |  |  |
| 11 | Thu dọn dụng cụ, hóa chất, rác thải                      | Phân loại đúng rác thải, lau bàn làm xét nghiệm bằng dung dịch sát khuẩn, xử lý rác thải theo quy định |  |  |
| 12 | Rửa tay  | Thực hiện 6 bước rửa tay thường quy  |  |  |
| 13 | Ghi kết quả vào sổ lưu                                   | Trả kết quả xét nghiệm, quản lý, theo dõi  |  |  |

## BÀI 5. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG TRANG THIẾT BỊ MÁY MÓC

### MỤC TIÊU:

#### \* Kỹ năng

- Thực hiện được nội dung kiểm tra chất lượng (sử dụng, bảo dưỡng) trang thiết bị máy móc của xét nghiệm vi ký sinh.
- Nhận định được kết quả kiểm tra chất lượng của trang thiết bị máy móc sử dụng.

#### \* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

- Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.

### NỘI DUNG:

#### 1. Nguyên tắc

- Nguyên tắc kiểm tra chất lượng giai đoạn trước xét nghiệm vi sinh – ký sinh trùng (Trang thiết bị máy móc)

#### 2. Chuẩn bị

- Thiết bị, dụng cụ:
  - Tủ an toàn sinh học, tủ ấm, tủ sấy, tủ lạnh âm, máy đo độ đục
  - Mũ, găng tay, khẩu trang
  - Dung dịch sát khuẩn
  - Tủ Tủ an toàn sinh học, tủ ấm, tủ sấy, tủ lạnh âm, máy đo độ đục
  - Đèn cồn, que cấy, panh, ống nghiệm, đĩa peptri
  - Tấm bông vô trùng
  - Bút viết kính
- Hóa chất và môi trường
  - Nước muối sinh lý 0.9%
  - Độ đục chuẩn McFarland 0.5
  - Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn thuần 18-24 giờ

#### 3. Tiến hành

##### 3.1. Sử dụng tủ ấm

| STT | Các bước tiến hành                            |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng                     |
| 2   | Cắm điện                                      |
| 3   | Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng |
| 4   | Đặt chủng/môi trường hay hóa chất vào tủ      |
| 5   | Đóng cửa tủ                                   |

|   |                                  |
|---|----------------------------------|
| 6 | Theo dõi nhiệt độ                |
| 7 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         |
| 8 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |

### 3.2. Sử dụng tủ sấy

| STT | Các bước tiến hành   |
|-----|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng   |
| 2   | Xếp dụng cụ vào các ngăn   |
| 3   | Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ  |
| 4   | Đóng cửa tủ  |
| 5   | Cắm điện   |
| 6   | Điều chỉnh nhiệt độ ở 180°C  |
| 7   | Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt 180°C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy. |
| 8   | Sau khi sấy xong, tắt điện (rút phích điện)  |
| 9   | Khi nhiệt độ xuống 40°C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra.   |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ   |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn   |

### 3.3. Sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

| STT | Các bước tiến hành                                |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                        |
| 2   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   |
| 3   | Đóng cửa tủ. Bật đèn UV 30 phút, rồi tắt          |
| 4   | Bật đèn và tiến hành các kỹ thuật trong khoang tủ |
| 5   | Sau khi sử dụng, lấy hết dụng cụ ra ngoài         |
| 6   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   |
| 7   | Đóng cửa tủ, bật đèn UV trong 30 phút             |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                          |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.                 |

#### 4. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả kỹ thuật
- Các sai số và cách khắc phục
- Bệnh phẩm có nguy cơ lây nhiễm nên thao tác chuẩn bị cần được chú ý để đảm bảo an toàn cho người thực hiện và môi trường.
- Thao tác vô trùng cần được thực hiện đúng để đảm bảo không lây nhiễm chéo và hạn chế khả năng phơi nhiễm
- Phải ghi chép, báo cáo sự cố với yêu cầu kịp thời, đúng và đủ thông tin

#### 5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Vi sinh – ký sinh trùng
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sử dụng kết quả nuôi cấy thực tế để dạy học
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật
- Sinh viên tự học từ các kết quả nuôi cấy thực tế khác nhau
- Sử dụng thang điểm để đánh giá

### LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

#### 1. Thang điểm sử dụng tủ ấm

| STT | Nội dung                                      | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng                     |          |   |   |       |
| 2   | Cắm điện                                      |          |   |   |       |
| 3   | Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng |          |   |   |       |
| 4   | Đặt chủng/môi trường hay hóa chất vào tủ      |          |   |   |       |
| 5   | Đóng cửa tủ                                   |          |   |   |       |
| 6   | Theo dõi nhiệt độ                             |          |   |   |       |
| 7   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                      |          |   |   |       |
| 8   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn              |          |   |   |       |

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

## 2. Thang điểm sử dụng tủ sấy

| STT | Nội dung   | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|--|----------|---|---|-------|
|     |  | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng   |          |   |   |       |
| 2   | Xếp dụng cụ vào các ngăn   |          |   |   |       |
| 3   | Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ  |          |   |   |       |
| 4   | Đóng cửa tủ  |          |   |   |       |
| 5   | Cắm điện   |          |   |   |       |
| 6   | Điều chỉnh nhiệt độ ở 180°C  |          |   |   | 2     |
| 7   | Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt 180°C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy. |          |   |   |       |
| 8   | Sau khi sấy xong, tắt điện (rút phích điện)  |          |   |   |       |
| 9   | Khi nhiệt độ xuống 40°C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra.   |          |   |   | 2     |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ   |          |   |   |       |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn   |          |   |   |       |

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

## 3. Thang điểm sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                        |          |   |   |       |
| 2   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   |          |   |   | 2     |
| 3   | Đóng cửa tủ. Bật đèn UV 30 phút, rồi tắt          |          |   |   |       |
| 4   | Bật đèn và tiến hành các kỹ thuật trong khoang tủ |          |   |   | 2     |
| 5   | Sau khi sử dụng, lấy hết dụng cụ ra ngoài         |          |   |   | 2     |
| 6   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   |          |   |   | 2     |

|   |                                       |  |  |  |  |
|---|---------------------------------------|--|--|--|--|
| 7 | Đóng cửa tủ. Bật đèn UV trong 30 phút |  |  |  |  |
| 8 | Thu dọn và xử lý dụng cụ              |  |  |  |  |
| 9 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.     |  |  |  |  |

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

## CÁC PHỤ LỤC

### 1. Quy trình

#### Phụ lục 1. Quy trình sử dụng tủ âm

| STT | Các bước thực hiện                            | Ý nghĩa  | Tiêu chuẩn phải đạt  |
|-----|---|--|--|
| 1   | Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng                     | Thiết bị đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dụng cụ</li> <li>- Hóa chất</li> <li>- Bệnh phẩm</li> </ul> |
| 2   | Cắm điện                                      | Cung cấp nguồn điện cho tủ vận hành                            | Đèn tủ sáng, báo vào điện  |
| 3   | Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng | Tạo ra môi trường ổn định để nuôi cấy vi khuẩn                 | Nhiệt độ được điều chỉnh ở 37°C hoặc mức nhiệt theo yêu cầu nuôi cấy   |
| 4   | Đặt chủng/môi trường hay hóa chất vào tủ      | Chủng/ môi trường hay hóa chất được đặt vào tủ                 | Chủng/ môi trường hay hóa chất được sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng bên trong tủ  |
| 5   | Đóng cửa tủ                                   | Giúp quá trình cung cấp nhiệt được diễn ra                     | Đóng đủ chặt   |
| 6   | Theo dõi nhiệt độ                             | Giúp giữ được nhiệt độ ổn định                                 | Đảm bảo nhiệt độ được duy trì đúng, nếu có sai lệch thì điều chỉnh kịp thời  |
| 7   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                      | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                                  | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn  |



|   |                                  |                                    |                       |
|---|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| 8 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ | Sạch và đúng quy định |
|---|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|

Phụ lục 2. Quy trình sử dụng tủ sấy

| STT | Các bước thực hiện                                      | Ý nghĩa   | Tiêu chuẩn phải đạt  |
|-----|---|---|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                              | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác kĩ thuật thuận lợi   | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp và gói ngăn nắp các dụng cụ cần phải sấy |
| 2   | Xếp dụng cụ vào các ngăn                                | Khí nóng khô dễ dàng tiếp xúc các mặt của dụng cụ   | Các dụng cụ khi xếp không được xếp sát đáy hoặc sát thành tủ và quá chặt     |
| 3   | Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ | Giúp kiểm tra nhiệt độ thực tế trong quá trình vận hành tủ  | Thực hiện đúng   |
| 4   | Đóng cửa tủ   | Tránh trường hợp nhiệt độ thoát ra ngoài làm dụng cụ không đủ lượng nhiệt để sấy và nhiệt độ cao ảnh hưởng đến môi trường bên ngoài | Cửa tủ được đóng chặt  |
| 5   | Cắm điện  | Đảm bảo nguồn điện cho quá trình tủ hoạt động   | Tủ có điện   |
| 6   | Điều chỉnh nhiệt độ ở 180°C                             | Tạo môi trường phù hợp cho quá trình tiệt trùng dụng cụ   | Nhiệt độ đạt 180°C   |
| 7   | Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt   | Duy trì môi trường để quá trình tiệt trùng diễn ra  | Phải đủ nhiệt độ trong quá trình máy vận hành, Đủ thời gian                  |

|    |  |  |  |
|----|--|--|--|
|    | 180°C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy.               |  |  |
| 8  | Sau khi sấy xong, tắt điện (rút phích điện)                            | Tủ sấy được ngắt điện khi kết thúc quá trình vận hành  | Tủ sấy được ngắt điện                                      |
| 9  | Khi nhiệt độ xuống 40°C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra. | Làm cho dụng cụ nguội tránh gây nguy hiểm khi lấy ra, tránh để dụng cụ bị hấp hơi nước và có dụng cụ sạch để sử dụng | Tủ sấy được ngắt điện<br>Chờ đến khi nguội mới lấy dụng cụ |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ   | Dụng cụ được thu dọn và xử lý, sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng  | An toàn, đúng quy định                                     |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                       | Bàn tay sạch sau khi kết thúc nhiệm vụ   | Sạch và đúng quy định                                      |

### Phụ lục 3. Quy trình sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

| STT | Các bước thực hiện                              | Ý nghĩa  | Tiêu chuẩn phải đạt                                    |
|-----|---|--|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      | Thiết bị đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác dễ dàng, thuận lợi                                 | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng |
| 2   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm | khử trùng sạch tủ để chuẩn bị làm nhiệm vụ   | Sạch và đúng quy định                                  |
| 3   | Đóng cửa tủ. Bật đèn UV 30 phút, rồi tắt        | Tia UV diệt trùng ở bước sóng chính xác, chiếu xạ vào môi trường làm việc giúp khoang sạch hơn | Đủ thời gian và đúng quy trình                         |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| 4 | Bật đèn và tiến hành các kỹ thuật trong khoang tủ | Chiếu sáng và thực hiện kỹ thuật bên trong tủ                      | Đèn được bật<br>Thực hiện được các kỹ thuật trong tủ |
| 5 | Sau khi sử dụng, lấy hết dụng cụ ra ngoài         | Lấy dụng cụ mang đi xử lý và chuẩn bị cho phiên làm việc tiếp theo | Không còn dụng cụ trong khoang tủ                    |
| 6 | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   | Khử trùng sạch tủ để chuẩn bị cho phiên làm việc tiếp theo         | Sạch và đúng quy trình                               |
| 7 | Đóng cửa tủ, bật đèn UV trong 30 phút             | Khử trùng bằng tia UV  | Đủ thời gian và đúng quy trình                       |
| 8 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                          | Dụng cụ ngăn nắp, gọn gàng.  | An toàn, đúng quy định                               |
| 9 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.                 | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                                 | Sạch và đúng quy định                                |

## 2. Bảng kiểm

### Phụ lục 4. Bảng kiểm sử dụng tủ âm

| STT | NỘI DUNG                                      | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng                     |          |           |
| 2   | Cắm điện                                      |          |           |
| 3   | Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng |          |           |
| 4   | Đặt chủng/môi trường hay hóa chất vào tủ      |          |           |
| 5   | Đóng cửa tủ                                   |          |           |
| 6   | Theo dõi nhiệt độ                             |          |           |
| 7   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                      |          |           |
| 8   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn              |          |           |

### Phụ lục 5. Bảng kiểm sử dụng tủ sấy

| STT | NỘI DUNG   | Đánh giá |           |
|-----|--|----------|-----------|
|     |  | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng   |          |           |
| 2   | Xếp dụng cụ vào các ngăn   |          |           |
| 3   | Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ  |          |           |
| 4   | Đóng cửa tủ  |          |           |
| 5   | Cắm điện   |          |           |
| 6   | Điều chỉnh nhiệt độ ở 180°C  |          |           |
| 7   | Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt 180°C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy. |          |           |
| 8   | Sau khi sấy xong, tắt điện (rút phích điện)  |          |           |
| 9   | Khi nhiệt độ xuống 40°C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra.   |          |           |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ   |          |           |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn   |          |           |

Phụ lục 6. Bảng kiểm sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                        |          |           |
| 2   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   |          |           |
| 3   | Đóng cửa tủ. Bật đèn UV 30 phút, rồi tắt          |          |           |
| 4   | Bật đèn và tiến hành các kỹ thuật trong khoang tủ |          |           |
| 5   | Sau khi sử dụng, lấy hết dụng cụ ra ngoài         |          |           |
| 6   | Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm   |          |           |

|   |                                       |  |  |
|---|---------------------------------------|--|--|
| 7 | Đóng cửa tủ, bật đèn UV trong 30 phút |  |  |
| 8 | Thu dọn và xử lý dụng cụ              |  |  |
| 9 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.     |  |  |

## **BÀI 6. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG HÓA CHẤT, THUỐC NHUỘM**

### **MỤC TIÊU:**

#### **\* Kỹ năng**

1. Thực hiện được các quy trình kiểm tra chất lượng hóa chất, thuốc nhuộm tại phòng thực hành của trường.
2. Nhận định được kết quả kiểm tra chất lượng của hóa chất, thuốc nhuộm.

#### **\* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm**

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.

### **NỘI DUNG:**

#### **1. Nguyên tắc**

Phương pháp này dựa trên sự khác nhau về cấu tạo vách tế bào vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Trong quá trình nhuộm, vi khuẩn Gram dương vẫn giữ được màu tím của thuốc nhuộm tím gentian, còn vi khuẩn Gram âm không giữ được màu tím của gentian và sẽ bắt màu hồng fuchsin. Khi soi trên kính hiển vi với vật kính lớn giúp nhận định về hình thái và tính chất bắt màu của vi khuẩn.

#### **2. Chuẩn bị**

- Thiết bị, dụng cụ:
  - + Găng tay, khẩu trang
  - + Dung dịch sát khuẩn
  - + Tủ ATSH,
  - + Đèn cồn, que cấy,
  - + Lam kính khô sạch
  - + Bút viết kính
- Hóa chất và môi trường
  - + Thuốc nhuộm tím Gentian
  - + Dung dịch lugol
  - + Cồn tuyệt đối
  - + Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn
  - + Thuốc nhuộm đỏ Fuchsin

### 3. Tiến hành

#### Kiểm tra chất lượng kỹ thuật nhuộm gram

| STT | Các bước tiến hành                            |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                    |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm |
| 3   | Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm        |
| 4   | Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm  |
| 5   | Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm                   |
| 6   | Khử trùng que cấy                             |
| 7   | Dàn bệnh phẩm                                 |
| 8   | Để khô tự nhiên                               |
| 9   | Cố định tiêu bản bằng nhiệt                   |
| 10  | Nhuộm tím gentian                             |
| 11  | Nhuộm lugol                                   |
| 12  | Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối                    |
| 13  | Nhuộm đỏ fucsin                               |
| 14  | Để khô tiêu bản                               |
| 15  | Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn            |
| 16  | Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm             |
| 17  | Thu dọn và xử lý dụng cụ                      |
| 18  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn              |

#### 4. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả kỹ thuật.
- Các sai số và cách khắc phục.
- Cố định tiêu bản bằng nhiệt giúp cho vi khuẩn gắn chặt vào lam kính, bắt màu thuốc nhuộm tốt hơn và không bị bong trong quá trình rửa tiêu bản.
- Bệnh phẩm có khả năng lây nhiễm nên thao tác vô trùng cần được thực hiện đúng để đảm bảo không lây nhiễm chéo và hạn chế khả năng phơi nhiễm cho người thực hiện và môi trường.

- Dàn bệnh phẩm: nên thực hiện trong tủ an toàn sinh học, khi dàn cần vô khuẩn tránh nhiễm vi khuẩn từ bên ngoài vào, ảnh hưởng đến kết quả.

### 5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Vi sinh – ký sinh trùng.
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm.
- Sử dụng kết quả nuôi cấy thực tế để dạy học.
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật.
- Sinh viên tự học từ các kết quả nuôi cấy thực tế khác nhau.
- Sử dụng thang điểm để đánh giá.

### LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

Thang điểm kiểm tra chất lượng kỹ thuật nhuộm Gram

| STT | Nội dung                                      | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                    |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm        |          |   |   |       |
| 4   | Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm  |          |   |   |       |
| 5   | Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm                   |          |   |   |       |
| 6   | Khử trùng que cấy                             |          |   |   | 2     |
| 7   | Dàn bệnh phẩm                                 |          |   |   | 2     |
| 8   | Để khô tự nhiên                               |          |   |   |       |
| 9   | Cố định tiêu bản bằng nhiệt                   |          |   |   |       |
| 10  | Nhuộm tím gentian                             |          |   |   |       |
| 11  | Nhuộm lugol                                   |          |   |   |       |
| 12  | Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối                    |          |   |   | 2     |
| 13  | Nhuộm đỏ fucsin                               |          |   |   | 2     |



|    |                                    |  |  |  |   |
|----|------------------------------------|--|--|--|---|
| 14 | Đề khô tiêu bản                    |  |  |  | 2 |
| 15 | Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn |  |  |  |   |
| 16 | Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm  |  |  |  |   |
| 17 | Thu dọn và xử lý dụng cụ           |  |  |  |   |
| 18 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn   |  |  |  |   |

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

## CÁC PHỤ LỤC

### 1. Quy trình

#### Phụ lục 1. Quy trình kiểm tra chất lượng kỹ thuật nhuộm Gram

| STT | Các bước thực hiện                            | Ý nghĩa   | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|---|---|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                    | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi                    | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH,<br>- Đèn cồn, que cấy,<br>- Lam kính khô sạch<br>- Bút viết kính |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:<br>- Thuốc nhuộm tím<br>Gentian<br>- Dung dịch lugol<br>- Cồn tuyệt đối<br>- Thuốc nhuộm đỏ<br>Fucsin<br>- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn      |
| 3   | Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm        | Khớp thông tin bệnh phẩm, phiếu xét nghiệm,   | Đối chiếu và kiểm tra đúng thông tin trên bệnh phẩm, phiếu xét nghiệm   |

|    |  |   |  |
|----|--|---|--|
|    |  |   |  |
| 4  | Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm | Lam kính được ghi số hiệu đúng với phiếu xét nghiệm | Ghi đúng số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm        |
| 5  | Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm                  | Vùng dàn bệnh phẩm được đánh dấu                    | Vùng dàn bệnh phẩm được khoanh, kích thước khoảng 1,5 cm |
| 6  | Khử trùng que cấy                            | Que cấy được khử trùng                              | Đốt que cấy nóng đỏ trên ngọn lửa đèn cồn                |
| 7  | Dàn bệnh phẩm                                | Bệnh phẩm được dàn trên tiêu bản                    | Bệnh phẩm được dàn đều, kín vùng,                        |
| 8  | Để khô tự nhiên                              | Tiêu bản để khô tự nhiên, chuẩn bị cho bước cố định | Tiêu bản để khô tự nhiên, không đốt nóng                 |
| 9  | Cố định tiêu bản bằng nhiệt                  | Tiêu bản được cố định bằng nhiệt                    | Đúng kỹ thuật  |
| 10 | Nhuộm tím gentian                            | Vi khuẩn bắt màu tím                                | Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 45 giây rồi rửa sạch |
| 11 | Nhuộm lugol                                  | Giữ thuốc nhuộm tím                                 | Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 45 giây rồi rửa sạch |
| 12 | Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối                   | Tẩy màu tím   | Màu tím được tẩy vừa hết thì rửa nước                    |
| 13 | Nhuộm đỏ fucsin                              | Vi khuẩn bắt màu đỏ                                 | Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 45 giây rồi rửa sạch |
| 14 | Để khô tiêu bản                              | Tiêu bản được để khô                                | Để khô tự nhiên hoặc dùng tủ ấm                          |
| 15 | Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn           | Quan sát hình thể vi khuẩn                          | Nhận định đúng kết quả                                   |

|    |                                   |                                    |   |
|----|-----------------------------------|------------------------------------|---|
| 16 | Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm | Đưa ra kết quả và lưu trữ          | Đúng, ghi đủ vào phiếu xét nghiệm và sổ lưu.              |
| 17 | Thu dọn và xử lý dụng cụ          | Dụng cụ được thu dọn và xử lý      | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn |
| 18 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ | Sạch và đúng quy định                                     |

## 2. Bảng kiểm

### Phụ lục 2. Bảng kiểm nhuộm Gram

| STT | NỘI DUNG                                      | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                    |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm |          |           |
| 3   | Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm        |          |           |
| 4   | Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm  |          |           |
| 5   | Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm                   |          |           |
| 6   | Khử trùng que cấy                             |          |           |
| 7   | Dàn bệnh phẩm                                 |          |           |
| 8   | Để khô tự nhiên                               |          |           |
| 9   | Cố định tiêu bản bằng nhiệt                   |          |           |
| 10  | Nhuộm tím gentian                             |          |           |
| 11  | Nhuộm lugol                                   |          |           |
| 12  | Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối                    |          |           |
| 13  | Nhuộm đỏ fucsin                               |          |           |
| 14  | Để khô tiêu bản                               |          |           |
| 15  | Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn            |          |           |

|    |                                   |  |  |
|----|-----------------------------------|--|--|
| 16 | Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm |  |  |
| 17 | Thu dọn và xử lý dụng cụ          |  |  |
| 18 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |  |  |

## **BÀI 7. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY**

### **MỤC TIÊU:**

#### **\* Kỹ năng**

1. Thực hiện được các quy trình kiểm tra chất lượng môi trường nuôi cấy tại phòng thực hành của trường.
2. Nhận định được kết quả kiểm tra chất lượng của môi trường nuôi cấy vi khuẩn.

#### **\* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm**

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.

### **NỘI DUNG:**

#### **1. Nguyên tắc**

Môi trường nuôi cấy đóng vai trò quan trọng trong nuôi cấy phân lập và định danh vi sinh vật gây bệnh. Chất lượng môi trường nuôi cấy được đảm bảo giúp vi sinh vật gây bệnh phát triển tốt, tạo khuẩn lạc thuần riêng rẽ hoặc thể hiện những tính chất sinh vật hóa học giúp phân biệt và định danh về giống, loài. Việc kiểm tra chất lượng môi trường nuôi cấy là một hoạt động nội kiểm quan trọng cần được thực hiện thường xuyên cũng như là đánh giá ngoại kiểm đối với phòng xét nghiệm vi sinh, ký sinh trùng.

#### **2. Chuẩn bị**

##### **\* Thiết bị, dụng cụ:**

- Mũ, găng tay, khẩu trang
- Dung dịch sát khuẩn
- Tủ ATSH, tủ ấm
- Đèn cồn, que cấy
- Bút viết kính

##### **\* Hóa chất và môi trường**

- Môi trường thạch Macconkey/ thạch máu/ Citrat simmons/ Urê – Indol đang hoặc chuẩn bị sử dụng
- Bệnh phẩm: chủng chuẩn 18-24 giờ
  - *P. mirabilis Escherichia coli ATCC 25922*
  - *Streptococcus pyogenes; Streptococcus pneumoniae*
  - *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*
  - *K. pneumonia ATCC 27853*

#### **3. Thực hiện kỹ thuật**

### 3.1. Kiểm tra chất lượng môi trường thạch Maconkey

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  |
| 6   | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |
| 7   | Đề ủ ấm 37°C/24h  |
| 8   | Đọc kết quả   |
| 9   | Đánh giá  |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |

### 3.2. Kiểm tra chất lượng môi trường thạch Máu

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  |
| 6   | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |
| 7   | Đề ủ ấm 37°C/24h có CO <sub>2</sub>                             |
| 8   | Đọc kết quả   |
| 9   | Đánh giá  |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |

### 3.3. Kiểm tra chất lượng môi trường Citrat Simmons

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |

|    |   |
|----|---|
| 4  | Lấy 2 ống môi trường citrats simons ra khỏi tủ lạnh |
| 5  | Khử khuẩn que cấy                                   |
| 6  | Cấy vi khuẩn vào môi trường                         |
| 7  | Khử khuẩn que cấy                                   |
| 8  | Đề tủ ấm 37 <sup>0</sup> C x 24h                    |
| 9  | Đọc kết quả   |
| 10 | Đánh giá môi trường                                 |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                            |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                    |

### 3.4. Kiểm tra chất lượng môi trường Ure – Indol

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |
| 4   | Lấy 2 ống môi trường Ure – Indol ra khỏi tủ lạnh                |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |
| 6   | Cấy vi khuẩn vào môi trường                                     |
| 7   | Khử khuẩn que cấy   |
| 8   | Đề tủ ấm 37 <sup>0</sup> C x 24h                                |
| 9   | Đọc kết quả   |
| 10  | Đánh giá môi trường   |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |
| 12  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |

### 4. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả kỹ thuật.
- Các sai số và cách khắc phục.

### 5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Vi sinh – ký sinh trùng.
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm.
- Sử dụng kết quả nuôi cấy thực tế để dạy học.
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật.
- Sinh viên tự học từ các kết quả nuôi cấy thực tế khác nhau.
- Sử dụng thang điểm để đánh giá.

Lượng giá

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm kiểm tra chất lượng môi trường thạch Maconkey

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |          |   |   | 2     |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |          |   |   |       |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  |          |   |   |       |
| 6   | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |          |   |   | 2     |
| 7   | Đề ủ ấm 37°C/24h  |          |   |   |       |
| 8   | Đọc kết quả   |          |   |   |       |
| 9   | Đánh giá  |          |   |   |       |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |   |   |       |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |          |   |   |       |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 50

Quy đổi sang thang điểm 10

| 1   | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
|-----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 0-5 | 6-10 | 11-15 | 16-20 | 21-25 | 26-30 | 31-35 | 36-40 | 41-45 | 46-50 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.



## 2. Thang điểm kiểm tra chất lượng môi trường thạch Máu

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |          |   |   | 2     |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |          |   |   |       |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  |          |   |   |       |
| 6   | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |          |   |   | 2     |
| 7   | Đề ủ ấm 37°C/24h  |          |   |   |       |
| 8   | Đọc kết quả   |          |   |   |       |
| 9   | Đánh giá  |          |   |   |       |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |   |   |       |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |          |   |   |       |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 30

Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

## 3. Thang điểm kiểm tra chất lượng môi trường Citrat Simmons

| STT | Nội dung | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|----------|----------|---|---|-------|
|     |          | 0        | 1 | 2 |       |

|    |   |  |  |  |   |
|----|---|--|--|--|---|
| 1  | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |  |  |  |   |
| 2  | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |  |  |  |   |
| 3  | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |  |  |  |   |
| 4  | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |  |  |  |   |
| 5  | Kiểm tra độ vô khuẩn  |  |  |  |   |
| 6  | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |  |  |  |   |
| 7  | Đề ủ ấm 37°C/24h  |  |  |  |   |
| 8  | Đọc kết quả   |  |  |  |   |
| 9  | Đánh giá  |  |  |  | 2 |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |  |  |  |   |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |  |  |  |   |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |  |  |  |   |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 30

Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10

#### 4.Thang điểm kiểm tra chất lượng môi trường Ure – Indol

| STT | Nội dung                   | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|----------------------------|----------|---|---|-------|
|     |                            | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng |          |   |   |       |

|    |   |  |  |  |   |
|----|---|--|--|--|---|
| 2  | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |  |  |  |   |
| 3  | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |  |  |  |   |
| 4  | Lấy 2 ống môi trường Ure – Indol ra khỏi tủ lạnh                |  |  |  |   |
| 5  | Khử khuẩn que cấy   |  |  |  |   |
| 6  | Cấy vi khuẩn vào môi trường                                     |  |  |  |   |
| 7  | Khử khuẩn que cấy   |  |  |  |   |
| 8  | Đề ủ ấm 37 <sup>0</sup> C x 24h                                 |  |  |  |   |
| 9  | Đọc kết quả   |  |  |  | 2 |
| 10 | Đánh giá môi trường   |  |  |  |   |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |  |  |  |   |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |  |  |  |   |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 30

Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

## CÁC PHỤ LỤC

### 1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình kiểm tra chất lượng môi trường thạch Maconkey

| STT | Các bước thực hiện  | Ý nghĩa   | Tiêu chuẩn phải đạt  |
|-----|---|---|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi                    | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mũ, găng tay, khẩu trang</li> <li>- Dung dịch sát khuẩn</li> <li>- Tủ ATSH</li> <li>- Đèn cồn, que cấy</li> <li>- Bút viết kính</li> </ul>                          |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Môi trường thạch Macconkey đang hoặc chuẩn bị sử dụng</li> <li>- Bệnh phẩm: chủng chuẩn P. mirabilis</li> <li>Escherichia coli ATCC 25922</li> </ul>                        |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu                                  | Chính xác, đúng quy định   |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   | Môi trường được kiểm tra độ pH  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Các môi trường được pha chế theo hướng dẫn của nhà sản xuất thì kiểm tra 1 lần/tháng.</li> <li>- Trước khi đổ môi trường đo pH khi nhiệt độ ở 50-60°C. Sai số là 0,2 đơn vị, nếu chưa đúng thì điều chỉnh lại.</li> </ul> |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  | Kiểm tra độ vô khuẩn của môi trường   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kiểm tra 3 - 5% số lượng môi trường nuôi cấy pha chế, ủ ấm 35°C trong 48 giờ. Số hộp môi trường nuôi cấy còn lại sẽ lưu giữ trong tủ lạnh 2 - 8°C. Nếu</li> </ul>   |

|    |                                  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|
|    |                                  |  | có trên 2 CFU/hộp petri thì phải loại bỏ lô môi trường nuôi cấy pha chế đó   |
| 6  | Kiểm tra chất lượng môi trường:  | Môi trường được kiểm tra chất lượng                | Dùng chủng chuẩn: P. mirabilis và Escherichia coli ATCC 25922 để kiểm tra chất lượng môi trường ria cấy phân vùng trên thạch Macconkey |
| 7  | Đề ủ âm 37°C/24h                 | Tạo môi trường thuận lợi cho môi trường phát triển | Đúng, đủ thời gian, nhiệt độ   |
| 8  | Đọc kết quả                      | Đọc kết quả. So sánh đối chứng giữa các chủng      | Quan sát hình thể khuẩn lạc:<br>- P. mirabilis không màu, không mọc tràn và Escherichia coli ATCC 25922 có màu hồng/đỏ                 |
| 9  | Đánh giá                         | Đưa ra đánh giá chất lượng môi trường              | Môi trường và các điều kiện có đạt tiêu chuẩn về chất lượng hay không  |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                      | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn  |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                 | Sạch và đúng quy định  |

#### Phụ lục 2. Quy trình kiểm tra chất lượng môi trường thạch Máu

| STT | Các bước thực hiện         | Ý nghĩa  | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|----------------------------|--|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH |

|   |   |   |   |
|---|---|---|---|
|   |   |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Đèn cồn, que cấy</li> <li>- Bút viết kính</li> </ul>   |
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | <p>Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Môi trường thạch máu đang hoặc chuẩn bị sử dụng</li> <li>- Bệnh phẩm: chủng chuẩn <i>Streptococcus pyogenes</i>;<br/><i>Streptococcus pneumoniae</i></li> </ul>                         |
| 3 | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu                                  | Chính xác, đúng quy định  |
| 4 | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   | Môi trường được kiểm tra độ pH  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Các môi trường được pha chế theo hướng dẫn của nhà sản xuất thì kiểm tra 1 lần/tháng.</li> <li>- Trước khi đổ môi trường đo pH khi nhiệt độ ở 50-60°C. Sai số là 0,2 đơn vị, nếu chưa đúng thì điều chỉnh lại.</li> </ul>                    |
| 5 | Kiểm tra độ vô khuẩn  | Kiểm tra độ vô khuẩn của môi trường   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kiểm tra 3 - 5% số lượng môi trường nuôi cấy pha chế, ủ ấm 35°C trong 48 giờ. Số hộp môi trường nuôi cấy còn lại sẽ lưu giữ trong tủ lạnh 2 - 8°C. Nếu có trên 2 CFU/hộp petri thì phải loại bỏ lô môi trường nuôi cấy pha chế đó</li> </ul> |
| 6 | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 | Môi trường được kiểm tra chất lượng   | <p>Dùng chủng chuẩn:</p> <p><i>Streptococcus pyogenes</i>;<br/><i>Streptococcus pneumoniae</i> để kiểm tra chất lượng môi trường ria cấy phân vùng trên thạch máu.</p>  |

|    |   |  |  |
|----|---|--|--|
| 7  | Đề tủ âm<br>37°C/24h có CO <sub>2</sub> | Tạo môi trường thuận lợi cho môi trường phát triển | Đúng, đủ thời gian, nhiệt độ và có CO <sub>2</sub>   |
| 8  | Đọc kết quả                             | Đọc kết quả. So sánh đối chứng giữa các chủng      | Quan sát hình thể khuẩn lạc:<br>- Streptococcus pyogenes tan máu hoàn toàn<br>- Streptococcus pneumoniae tan máu không hoàn toàn |
| 9  | Đánh giá                                | Đưa ra đánh giá chất lượng môi trường              | Môi trường và các điều kiện có đạt tiêu chuẩn về chất lượng hay không  |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                      | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn  |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn        | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                 | Sạch và đúng quy định  |

### Phụ lục 3. Quy trình kiểm tra chất lượng môi trường Citrat Simmons

| STT | Các bước thực hiện                            | Ý nghĩa   | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|---|---|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                    | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi                    | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH,<br>- Đèn cồn, que cấy,   |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:<br>- Môi trường citrate simons đang hoặc chuẩn bị sử dụng<br>- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853<br>Escherichia coli ATCC 25922 |

|    |   |   |  |
|----|---|---|--|
| 3  | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu      | Chính xác, đúng quy định   |
| 4  | Lấy 2 ống môi trường citrats simons ra khỏi tủ lạnh             | Ống môi trường được đưa về nhiệt độ phòng, chuẩn bị cấy | Đúng ống, đủ thời gian 30 phút ở nhiệt độ phòng  |
| 5  | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử trùng                                  | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 6  | Cấy vi khuẩn vào môi trường                                     | Vi khuẩn được cấy vào môi trường                        | Lấy một khuẩn lạc cấy lên mặt nghiêng của 2 ống môi trường   |
| 7  | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử trùng                                  | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 8  | Đề tủ ấm 37°C x 24h   | Tạo môi trường cho vi khuẩn phát triển                  | Đề tủ ấm đúng nhiệt độ và thời gian  |
| 9  | Đọc kết quả:  | Đọc kết quả, so sánh đối chứng giữa các chủng           | <p>Đọc tính chất đúng với các chủng chuẩn:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Chủng dương <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 xuất hiện màu xanh nước biển.</li> <li>- Chủng Âm: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 xuất hiện màu xanh da lá cây hay không thay đổi màu của môi trường</li> </ul> |
| 10 | Đánh giá môi trường   | Đưa ra đánh giá chất lượng môi trường                   | Đánh giá đúng Môi trường có đạt tiêu chuẩn về chất lượng hay không   |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ  | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                           | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn  |



|    |                                  |                                    |                       |
|----|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ | Sạch và đúng quy định |
|----|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|

Phụ lục 4. Quy trình kiểm tra chất lượng môi trường Ure – Indol

| STT | Các bước thực hiện  | Ý nghĩa   | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|---|---|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi                    | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH,<br>- Đèn cồn, que cấy,   |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:<br>- Môi trường Ure – Indol đang hoặc chuẩn bị sử dụng<br>- Bệnh phẩm: <i>Chủng vi khuẩn K. pneumonia ATCC 27853;</i><br><i>Escherichia coli ATCC 25922</i> |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu                                  | Chính xác, đúng quy định  |
|     | Lấy 2 ống môi trường Ure – Indol ra khỏi tủ lạnh                | Ống môi trường được đưa về nhiệt độ phòng, sẵn sàng chuẩn bị cấy                    | Đúng ống, đủ thời gian 30 phút ở nhiệt độ phòng   |
| 4   | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử trùng  | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội  |
| 5   | Cấy vi khuẩn vào môi trường                                     | Vi khuẩn được cấy vào môi trường  | Lấy một khuẩn lạc cấy vào 2 ống môi trường  |

|    |                                  |   |   |
|----|----------------------------------|---|---|
| 6  | Khử khuẩn que cấy                | Que cấy được khử trùng                        | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội  |
| 7  | Đề tủ ấm 37°C x 24h              | Tạo môi trường cho vi khuẩn phát triển        | Đề tủ ấm đúng nhiệt độ và thời gian   |
| 8  | Đọc kết quả:                     | Đọc kết quả, so sánh đối chứng giữa các chủng | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Chủng dương với chủng chuẩn K. pneumonia ATCC 27853 xuất hiện màu hồng cánh sen.</li> <li>- Chủng âm: Escherichia coli ATCC 25922 không đổi màu.</li> </ul> <p>Sau đó nhỏ thuốc thử Kovax vào</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Chủng dương: ống Escherichia coli ATCC 25922 xuất hiện viền đỏ tươi trên bề mặt môi trường</li> <li>- Chủng âm: ống K. pneumonia ATCC 27853 không xuất hiện viền đỏ nổi lên mặt môi trường</li> </ul> |
| 9  | Đánh giá môi trường              | Đưa ra đánh giá chất lượng môi trường         | Đánh giá đúng môi trường có đạt tiêu chuẩn về chất lượng hay không  |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                 | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn   |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ            | Sạch và đúng quy định   |

## 2. Bảng kiểm

Phụ lục 1. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng môi trường thạch Maconkey

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |          |           |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |          |           |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |          |           |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  |          |           |
| 6   | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |          |           |
| 7   | Đề ủ ấm 37°C/24h  |          |           |
| 8   | Đọc kết quả   |          |           |
| 9   | Đánh giá  |          |           |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |           |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |          |           |

Phụ lục 2. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng môi trường thạch Máu

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |          |           |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |          |           |
| 4   | Kiểm tra độ pH của môi trường                                   |          |           |
| 5   | Kiểm tra độ vô khuẩn  |          |           |
| 6   | Kiểm tra chất lượng môi trường:                                 |          |           |
| 7   | Đề ủ ấm 37°C/24h  |          |           |
| 8   | Đọc kết quả   |          |           |
| 9   | Đánh giá  |          |           |

|    |                                  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         |  |  |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |  |  |

Phụ lục 7. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng môi trường Citrat Simmons

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |          |           |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |          |           |
| 4   | Lấy 2 ống môi trường citrats simons ra khỏi tủ lạnh             |          |           |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |          |           |
| 6   | Cấy vi khuẩn vào môi trường                                     |          |           |
| 7   | Khử khuẩn que cấy   |          |           |
| 8   | Đề ủ ấm 37 <sup>0</sup> C x 24h                                 |          |           |
| 9   | Đọc kết quả:  |          |           |
| 10  | Đánh giá môi trường   |          |           |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |           |
| 12  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                                |          |           |

Phụ lục 8. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng môi trường Ure – Indol

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                      |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                   |          |           |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra |          |           |
| 4   | Lấy 2 ống môi trường Ure – Indol ra khỏi tủ lạnh                |          |           |

|    |                                  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|
| 5  | Khử khuẩn que cấy                |  |  |
| 6  | Cấy vi khuẩn vào môi trường      |  |  |
| 7  | Khử khuẩn que cấy                |  |  |
| 8  | Đề ủ ấm 37 <sup>0</sup> C x 24h  |  |  |
| 9  | Đọc kết quả                      |  |  |
| 10 | Đánh giá môi trường              |  |  |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         |  |  |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |  |  |

## BÀI 8. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG THUỐC THỬ, XÁC ĐỊNH TÍNH CHẤT SINH VẬT HÓA HỌC

### MỤC TIÊU:

#### \* Kỹ năng

1. Thực hiện được các quy trình kiểm tra chất lượng thuốc thử, môi trường xác định tính chất sinh vật hóa học tại phòng thực hành của trường.
2. Nhận định được kết quả của kiểm tra chất lượng thuốc thử, môi trường xác định tính chất sinh vật hóa học.

#### \* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.

### NỘI DUNG:

#### 1. Nguyên tắc

Môi trường nuôi cấy đóng vai trò quan trọng trong nuôi cấy phân lập và định danh vi sinh vật gây bệnh. Chất lượng môi trường nuôi cấy tốt giúp vi sinh vật gây bệnh phát triển tốt, tạo khuẩn lạc thuần riêng rẽ hoặc thể hiện những tính chất sinh vật hóa học đặc trưng cho giống, loài.

#### 2. Chuẩn bị

- Thiết bị, dụng cụ:

- + Mũ, găng tay, khẩu trang
- + Dung dịch sát khuẩn
- + Tủ ATSH, tủ ấm
- + Đèn cồn, que cấy
- + Ống nghiệm khô sạch
- + Lam kính khô sạch
- + Bút viết kính

- Hóa chất và môi trường

- + Khoanh giấy oxidase đang hoặc chuẩn bị sử dụng
- + Huyết tương thử hoặc cừu đang hoặc chuẩn bị sử dụng
- + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> đang hoặc chuẩn bị sử dụng

- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn thuần 18-24 giờ

- *S. aureus* ATCC 25923
- *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615
- *S. epidermidis* ATCC 12228

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Escherichia coli* ATCC 25922

### 3. Thực hiện kỹ thuật

#### 3.1. Kiểm tra chất lượng thử nghiệm oxidase

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |
| 4   | Đặt khoanh giấy oxidase lên lam kính  |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |
| 7   | Cho khuẩn lạc lên khoanh oxidase  |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |
| 10  | Đọc kết quả   |
| 11  | Đánh giá  |
| 12  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |
| 13  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |

#### 3.2. Kiểm tra chất lượng thử nghiệm catalase

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |
| 4   | Đánh dấu lam kính   |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |
| 6   | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  |
| 7   | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |
| 9   | Nhỏ oxy già (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) lên lam kính                     |
| 10  | Đọc kết quả   |
| 11  | Đánh giá  |
| 12  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |
| 13  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |

### 3.3. Kiểm tra chất lượng thử nghiệm coagulase

#### 3.3.1. Kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trên lam kính

| STT | Các bước thực hiện  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |
| 4   | Đánh dấu lam kính   |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |
| 6   | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  |
| 7   | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |
| 9   | Nhỏ huyết tương thô/cừu lên lam kính  |
| 10  | Đọc kết quả   |
| 11  | Đánh giá  |
| 12  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |
| 13  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |

#### 3.3.2. Kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trong ống nghiệm

| STT | Các bước thực hiện  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |
| 4   | Đánh dấu ống nghiệm   |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |
| 6   | Pha loãng huyết tương thô/cừu với nước muối sinh lý                           |
| 7   | Nghiền khuẩn lạc vào ống nghiệm   |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |
| 9   | Ủ 37°C/ 4 -6 giờ  |
| 10  | Đọc kết quả   |
| 11  | Đánh giá  |
| 12  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |



|    |                                  |
|----|----------------------------------|
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |
|----|----------------------------------|

#### 4. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả kỹ thuật.
- Các sai số và cách khắc phục.

#### 5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Vi sinh – ký sinh trùng.
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm.
- Sử dụng kết quả nuôi cấy thực tế để dạy học.
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật.
- Sinh viên tự học từ các kết quả nuôi cấy thực tế khác nhau.
- Sử dụng bảng kiểm để đánh giá.

#### LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

##### 1. Thang điểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm oxidase

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |          |   |   |       |
| 4   | Đặt khoanh giấy Oxidase lên lam kính  |          |   |   |       |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |          |   |   |       |
| 6   | Cho khuẩn lạc lên khoanh oxidase  |          |   |   | 2     |
| 7   | Khử khuẩn que cấy   |          |   |   |       |
| 8   | Đọc kết quả   |          |   |   | 2     |
| 9   | Đánh giá  |          |   |   |       |
| 10  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |   |   |       |
| 11  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |          |   |   |       |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm
- Tổng điểm tối đa: 30
- Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

## 2. Thang điểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm catalase

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |          |   |   |       |
| 4   | Đánh dấu lam kính   |          |   |   |       |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |          |   |   |       |
| 6   | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  |          |   |   |       |
| 7   | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   |          |   |   |       |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |          |   |   |       |
| 9   | Nhỏ oxy già (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) lên lam kính                     |          |   |   |       |

|    |                                  |  |  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|--|--|
| 10 | Đọc kết quả                      |  |  |  |  |
| 11 | Đánh giá                         |  |  |  |  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         |  |  |  |  |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |  |  |  |  |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm
- Tổng điểm tối đa: 30
- Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

### 3. Thang điểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm coagulase

#### 3.1. Thang điểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trên lam kính

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |          |   |   |       |
| 4   | Đánh dấu lam kính   |          |   |   |       |

|    |                                      |  |  |  |  |
|----|--------------------------------------|--|--|--|--|
| 5  | Khử khuẩn que cấy                    |  |  |  |  |
| 6  | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính   |  |  |  |  |
| 7  | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính        |  |  |  |  |
| 8  | Khử khuẩn que cấy                    |  |  |  |  |
| 9  | Nhỏ huyết tương thỏ/cừu lên lam kính |  |  |  |  |
| 10 | Đọc kết quả                          |  |  |  |  |
| 11 | Đánh giá                             |  |  |  |  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ             |  |  |  |  |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn     |  |  |  |  |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm
- Tổng điểm tối đa: 30
- Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

3.2. Thang điểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trong ống nghiệm

| STT | Nội dung                   | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|----------------------------|----------|---|---|-------|
|     |                            | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng |          |   |   |       |

|    |   |  |  |  |  |
|----|---|--|--|--|--|
| 2  | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |  |  |  |  |
| 3  | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |  |  |  |  |
| 4  | Đánh dấu ống nghiệm   |  |  |  |  |
| 5  | Khử khuẩn que cấy   |  |  |  |  |
| 6  | Pha loãng huyết tương thô/cừu với nước muối sinh lý                           |  |  |  |  |
| 7  | Nghiền khuẩn lạc vào ống nghiệm   |  |  |  |  |
| 8  | Khử khuẩn que cấy   |  |  |  |  |
| 9  | Ủ 37°C/ 4 -6 giờ  |  |  |  |  |
| 10 | Đọc kết quả   |  |  |  |  |
| 11 | Đánh giá  |  |  |  |  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |  |  |  |  |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |  |  |  |  |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 30

Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

## CÁC PHỤ LỤC

### 1. Quy trình

#### Phụ lục 1. Quy trình kiểm tra chất lượng thử nghiệm oxidase

| STT | Các bước thực hiện  | Ý nghĩa   | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|---|---|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi                          | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH<br>- Đèn cồn, que cấy<br>- Lam kính khô sạch<br>- Bút viết kính |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi       | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:<br>- Bệnh phẩm: chủng chuẩn <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853<br><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922<br>- Khoanh giấy oxidase         |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu  | Chính xác, đúng quy định  |
| 4   | Đặt khoanh giấy oxidase lên lam kính  | Khoanh giấy oxidase được đặt lên lam kính giúp thử nghiệm phản ứng oxidase giữa các chủng | Đặt khoanh giấy oxidase lên 1 lam kính sạch hoặc giấy thấm  |

|    |                                  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|
| 5  | Khử khuẩn que cấy                | Que cấy được khử khuẩn   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 7  | Cho khuẩn lạc lên khoan oxidase  | Khuẩn lạc được phết lên khoan giấy oxidase để thử nghiệm phản ứng giữa các chủng | Lấy một khuẩn lạc (khóm) phết lên khoan oxidase hoặc giấy thấm có nhỏ dung dịch oxidase.   |
| 8  | Khử khuẩn que cấy                | Que cấy được khử khuẩn   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 10 | Đọc kết quả                      | Đọc và so sánh tính chất giữa các chủng  | Chứng dương với chủng chuẩn <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 xuất hiện phức hợp màu tím/xanh đậm sau 10-30 giây.<br>Chứng Âm: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 không thay đổi màu sắc trong 60 giây.<br>Không đọc kết quả sau 60 giây. |
| 11 | Đánh giá                         | Đưa ra đánh giá về chất lượng khoan oxidase                                      | Khoan oxidase đạt tiêu chuẩn về chất lượng   |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         | Dụng cụ được thu dọn và xử lý  | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn  |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ   | Sạch và đúng quy định  |

Phụ lục 2. Quy trình kiểm tra chất lượng thử nghiệm catalase

| STT | Các bước thực hiện         | Ý nghĩa                              | Tiêu chuẩn phải đạt                                   |
|-----|----------------------------|--------------------------------------|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
|   |   | thao tác kỹ thuật thuận lợi  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mũ, găng tay, khẩu trang</li> <li>- Dung dịch sát khuẩn</li> <li>- Tủ ATSH</li> <li>- Đèn cồn, que cấy</li> <li>- Lam kính khô sạch</li> <li>- Bút viết kính</li> </ul>   |
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi  | <p>Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> đang hoặc chuẩn bị sử dụng</li> <li>- Bệnh phẩm: chủng chuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923 và <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</li> </ul> |
| 3 | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu   | Chính xác, đúng quy định   |
| 4 | Đánh dấu lam kính   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Phân biệt giữa các chủng vi khuẩn.</li> <li>- Vị trí thực hiện thử nghiệm được đánh dấu giúp dễ dàng quan sát phản ứng xảy ra.</li> </ul> | Ghi thông tin chủng vi khuẩn và đánh dấu vị trí thực hiện thử nghiệm   |
| 5 | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử khuẩn   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 6 | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  | Giúp dễ dàng nghiền nát khuẩn lạc  | Nhỏ 1 giọt nước muối sinh lý lên lam kính  |
| 7 | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   | Khuẩn lạc được nghiền nát cùng nước muối sinh lý   | Nghiền một vài khuẩn lạc (khóm) vào nước muối sinh   |



|    |   |  |   |
|----|---|--|---|
|    |   | tạo thành một hỗn hợp dung dịch có chứa vi khuẩn                       | lý trên lam kính để có một hỗn dịch đục đều   |
| 8  | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử khuẩn   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội  |
| 9  | Nhỏ oxy già (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) lên lam kính | Thử nghiệm phản ứng Catalase giữa các chủng                            | Nhỏ 1 giọt oxy già (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) lên lam kính, vào vị trí đã nghiền khuẩn lạc và quan sát hiện tượng sủi bọt xảy ra ngay tức thì                 |
| 10 | Đọc kết quả   | Đọc và so sánh tính chất giữa các chủng                                | - Chủng dương với chủng chuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923 có hiện tượng sủi bọt<br>- Chủng Âm: <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 không có hiện tượng sủi bọt |
| 11 | Đánh giá  | Đưa ra đánh giá về chất lượng thử nghiệm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Đánh giá được thử nghiệm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> có đạt tiêu chuẩn về chất lượng hay không  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                  | Dụng cụ được thu dọn và xử lý  | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn   |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                                     | Sạch và đúng quy định   |

Phụ lục 3. Quy trình kiểm tra chất lượng thử nghiệm coagulase

Phụ lục 3.1. Quy trình kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trên lam kính

| STT | Các bước thực hiện         | Ý nghĩa  | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|----------------------------|--|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
|   |   |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Đèn cồn, que cấy</li> <li>- Lam kính khô sạch</li> <li>- Bút viết kính</li> </ul>   |
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi  | <p>Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Huyết tương thổ hoặc cừu đang hoặc chuẩn bị sử dụng</li> <li>- Bệnh phẩm: chủng chuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923/ <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228</li> </ul> |
| 3 | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu   | Chính xác, đúng quy định   |
| 4 | Đánh dấu lam kính   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Phân biệt giữa các chủng vi khuẩn.</li> <li>- Vị trí thực hiện thử nghiệm được đánh dấu giúp dễ dàng quan sát phản ứng xảy ra.</li> </ul> | Ghi thông tin chủng vi khuẩn và đánh dấu vị trí thực hiện thử nghiệm   |
| 5 | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử khuẩn   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 6 | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  | Giúp dễ dàng nghiền nát khuẩn lạc  | Nhỏ 10 µl nước muối sinh lý lên lam kính   |
| 7 | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   | Khuẩn lạc được nghiền nát cùng nước muối sinh lý tạo thành một hỗn hợp dung  | Nghiền một vài khuẩn lạc (khóm) vào nước muối sinh lý trên lam kính để có một hỗn dịch đục đều   |

|    |                                      |  |   |
|----|--------------------------------------|--|---|
|    |                                      | dịch có chứa vi khuẩn                                    |   |
| 8  | Khử khuẩn que cấy                    | Que cấy được khử khuẩn                                   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội  |
| 9  | Nhỏ huyết tương thỏ/cừu lên lam kính | Thử nghiệm phản ứng đông huyết tương giữa các chủng      | Nhỏ 1-3 µl huyết tương thỏ/cừu lên lam kính, vào vị trí đã đánh dấu và quan sát hiện tượng đông vón xảy ra trong vòng 10 giây.  |
| 10 | Đọc kết quả                          | Đọc và so sánh tính chất đông huyết tương giữa các chủng | - Chứng dương với chủng chuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923 có hiện tượng đông vón trong vài giây<br>- Chứng Âm: <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 không có hiện tượng đông vón. |
| 11 | Đánh giá                             | Đưa ra đánh giá về chất lượng huyết tương thỏ/cừu        | Huyết tương thỏ/cừu đạt tiêu chuẩn về chất lượng  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ             | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                            | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn   |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn     | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                       | Sạch và đúng quy định   |

Phụ lục 3.2. Quy trình kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trong ống nghiệm

| STT | Các bước thực hiện         | Ý nghĩa  | Tiêu chuẩn phải đạt   |
|-----|----------------------------|--|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
|   |   |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Đèn cồn, que cấy</li> <li>- Ống nghiệm khô sạch</li> <li>- Bút viết kính</li> </ul>   |
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi  | <p>Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Huyết tương thỏ hoặc cừu đang hoặc chuẩn bị sử dụng ở nhiệt độ 25°C</li> <li>- Bệnh phẩm: chủng chuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923/ <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228</li> </ul> |
| 3 | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định | Thử nghiệm và chủng chuẩn được kiểm tra, đối chiếu   | Chính xác, đúng quy định   |
| 4 | Đánh dấu ống nghiệm   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tránh nhầm lẫn giữa các chủng vi khuẩn.</li> <li>- Giúp dễ dàng quan sát, so sánh phản ứng xảy ra.</li> </ul> | Lấy 2 ống nghiệm vô khuẩn, ghi tên mã số chủng chuẩn cần làm thử nghiệm. 1 Ống chứng âm và 1 ống chứng dương.  |
| 5 | Khử khuẩn que cấy   | Que cấy được khử khuẩn   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội   |
| 6 | Pha loãng huyết tương thỏ/cừu với nước muối sinh lý                           | Huyết tương được pha loãng bằng nước muối sinh lý  | Cho vào mỗi ống nghiệm 1 giọt huyết tương thỏ/ cừu + 3 giọt nước muối sinh lý (1:4)  |
| 7 | Nghiền khuẩn lạc vào ống nghiệm   | Khuẩn lạc được nghiền nát vào ống nghiệm đã pha  | Nghiền một vài khuẩn lạc (khóm) của chứng âm và chứng dương vào từng ống nghiệm tương ứng đã đánh dấu  |

|    |                                  |  |   |
|----|----------------------------------|--|---|
|    |                                  | loãng huyết tương và nước muối sinh lý                   |   |
| 8  | Khử khuẩn que cấy                | Que cấy được khử khuẩn                                   | Đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, để nguội  |
| 9  | Ủ 37°C/ 4 -6 giờ                 | Tạo điều kiện cho phản ứng xảy ra                        | Đúng, đủ thời gian, nhiệt độ  |
| 10 | Đọc kết quả                      | Đọc và so sánh tính chất đông huyết tương giữa các chủng | Không lắc ống trong quá trình quan sát, nghiêng nhẹ để phát hiện đông vón<br>Chứng dương với chủng chuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923 có hiện tượng đông vón.<br>Chứng Âm: <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 không có hiện tượng đông vón |
| 11 | Đánh giá                         | Đưa ra đánh giá về chất lượng huyết tương thử/cửu        | Huyết tương thử/cửu đạt tiêu chuẩn về chất lượng  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ         | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                            | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn   |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                       | Sạch và đúng quy định   |

## 2. Bảng kiểm

### Phụ lục 1. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm oxidase

| STT | NỘI DUNG                   | Đánh giá |           |
|-----|----------------------------|----------|-----------|
|     |                            | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng |          |           |

|    |   |  |  |
|----|---|--|--|
| 2  | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |  |  |
| 3  | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |  |  |
| 4  | Đặt khoanh giấy oxidase lên lam kính  |  |  |
| 5  | Khử khuẩn que cấy   |  |  |
| 6  | Cho khuẩn lạc lên khoanh oxidase  |  |  |
| 7  | Khử khuẩn que cấy   |  |  |
| 8  | Đọc kết quả   |  |  |
| 9  | Đánh giá  |  |  |
| 10 | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |  |  |
| 11 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |  |  |

Phụ lục 2. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm catalase

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |          |           |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |          |           |
| 4   | Đánh dấu lam kính   |          |           |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |          |           |
| 6   | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  |          |           |
| 7   | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   |          |           |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |          |           |
| 9   | Nhỏ oxy già (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) lên lam kính                     |          |           |
| 10  | Đọc kết quả   |          |           |
| 11  | Đánh giá  |          |           |
| 12  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |           |
| 13  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |          |           |

Phụ lục 3. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm coagulase

Phụ lục 3.1. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trên lam kính

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |          |           |
| 3   | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |          |           |
| 4   | Đánh dấu lam kính   |          |           |
| 5   | Khử khuẩn que cấy   |          |           |
| 6   | Nhỏ nước muối sinh lý lên lam kính  |          |           |
| 7   | Nghiền khuẩn lạc lên lam kính   |          |           |
| 8   | Khử khuẩn que cấy   |          |           |
| 9   | Nhỏ huyết tương thô/cừu lên lam kính  |          |           |
| 10  | Đọc kết quả   |          |           |
| 11  | Đánh giá  |          |           |
| 12  | Thu dọn và xử lý dụng cụ  |          |           |
| 13  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn  |          |           |

Phụ lục 3.2. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng thử nghiệm đông huyết tương trong ống nghiệm

|   | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|---|---|----------|-----------|
|   |   | Đạt      | Không đạt |
| 1 | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng  |          |           |
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm                                 |          |           |
| 3 | Kiểm tra và đối chiếu thử nghiệm với chủng chuẩn, ngày kiểm tra theo quy định |          |           |
| 4 | Đánh dấu ống nghiệm   |          |           |

|    |   |  |  |
|----|---|--|--|
| 5  | Khử khuẩn que cấy                                   |  |  |
| 6  | Pha loãng huyết tương thử/cừu với nước muối sinh lý |  |  |
| 7  | Nghiền khuẩn lạc vào ống nghiệm                     |  |  |
| 8  | Khử khuẩn que cấy                                   |  |  |
| 9  | Ủ 37°C/ 4 -6 giờ                                    |  |  |
| 10 | Đọc kết quả   |  |  |
| 11 | Đánh giá  |  |  |
| 12 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                            |  |  |
| 13 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                    |  |  |



## **BÀI 9. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG KỸ THUẬT KHÁNG SINH ĐỒ**

### **MỤC TIÊU:**

#### **\* Kỹ năng**

1. Thực hiện được các quy trình kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ tại phòng thực hành của trường.
2. Nhận định được kết quả kiểm tra chất lượng của kháng sinh đồ.

#### **\* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm**

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.

### **NỘI DUNG:**

#### **1. Nguyên tắc**

Mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn thử nghiệm được đánh giá bằng phương pháp kháng sinh khuếch tán trong thạch. Sự phát triển của vi khuẩn sẽ bị ức chế khi kháng sinh đạt đến một nồng độ nhất định. Đường kính vùng ức chế tỷ lệ thuận với mức độ nhạy cảm được phiên giải ra các phân loại S (sensitive – nhạy cảm), I (intermediate – trung gian), hoặc R (resistant – đề kháng) khi so sánh với bảng chuẩn CSLI cập nhật hàng năm.

#### **2. Chuẩn bị**

- Thiết bị, dụng cụ:

- + Mũ, găng tay, khẩu trang
- + Dung dịch sát khuẩn
- + Tủ ATSH, tủ ấm
- + Đèn cồn, que cấy, panh, ống nghiệm, đĩa peptri
- + Tấm bông vô trùng
- + Bút viết kính

- Hóa chất và môi trường

- + Nước muối sinh lý 0.9%
- + Độ đục chuẩn McFarland 0.5
- + Môi trường MH
- + Khoanh KS các loại
- + Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn thuần 18-24 giờ

#### **3. Thực hiện kỹ thuật**

3.1. Kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             |
| 3   | Đánh dấu đĩa thạch  |
| 4   | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. |
| 5   | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   |
| 6   | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   |
| 7   | Đề đĩa thạch 15p ở nhiệt độ phòng.                        |
| 8   | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoanh kháng sinh đặt lên mặt thạch |
| 9   | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                     |
| 10  | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                 |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                  |
| 12  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          |

### 3.2. Kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoanh kháng sinh giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | Các bước tiến hành  |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             |
| 3   | Đánh dấu đĩa thạch  |
| 4   | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. |
| 5   | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   |
| 6   | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   |
| 7   | Đề đĩa thạch 15p ở nhiệt độ phòng.                        |
| 8   | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoanh kháng sinh đặt lên mặt thạch |
| 9   | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                     |
| 10  | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                 |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                  |
| 12  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          |

#### 4. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả kỹ thuật.
- Các sai số và cách khắc phục.

#### 5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Vi sinh – ký sinh trùng.
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm.
- Sử dụng kết quả nuôi cấy thực tế để dạy học.
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật.
- Sinh viên tự học từ các kết quả nuôi cấy thực tế khác nhau.
- Sử dụng bảng kiểm để đánh giá.

Lượng giá

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             |          |   |   |       |
| 3   | Đánh dấu đĩa thạch  |          |   |   |       |
| 4   | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. |          |   |   | 2     |
| 5   | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   |          |   |   |       |
| 6   | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   |          |   |   |       |
| 7   | Đề đĩa thạch 15p ở nhiệt độ phòng.                        |          |   |   |       |
| 8   | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoanh kháng sinh đặt lên mặt thạch |          |   |   |       |
| 9   | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                     |          |   |   |       |
| 10  | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                 |          |   |   |       |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                  |          |   |   |       |
| 12  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          |          |   |   |       |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm
- Tổng điểm tối đa: 30
- Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm

2. Thang điểm kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoanh khoanh giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             |          |   |   |       |
| 3   | Đánh dấu đĩa thạch  |          |   |   |       |
| 4   | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. |          |   |   | 2     |
| 5   | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   |          |   |   |       |
| 6   | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   |          |   |   |       |
| 7   | Đề đĩa thạch 15p ở nhiệt độ phòng.                        |          |   |   |       |
| 8   | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoanh kháng sinh đặt lên mặt thạch |          |   |   |       |
| 9   | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                     |          |   |   |       |
| 10  | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                 |          |   |   |       |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                  |          |   |   |       |

|    |                                  |  |  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|--|--|
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn |  |  |  |  |
|----|----------------------------------|--|--|--|--|

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm
- Tổng điểm tối đa: 30
- Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

## CÁC PHỤ LỤC

### 1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | NỘI DUNG                   | Ý NGHĨA  | TIÊU CHUẨN  |
|-----|----------------------------|--|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH, tủ âm<br>- Đèn cồn, que cấy, panh, ống nghiệm, đĩa petri<br>- Tăm bông vô trùng<br>- Bút viết kính |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi        | <p>Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nước muối sinh lý 0.9%</li> <li>- Độ đục chuẩn McFarland 0.5</li> <li>- Môi trường MH có độ dày <math>4 \pm 0,5</math> mm, được để ở nhiệt độ phòng 15-30p trước khi tiến hành</li> <li>- Khoanh kháng sinh phù hợp với chủng vi khuẩn theo hướng dẫn của CLSI</li> <li>- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn <i>S. aureus</i> ATCC 25923 18-24 giờ</li> </ul> |
| 3 | Đánh dấu đĩa thạch  | Tránh nhầm lẫn đĩa thạch và chủng vi khuẩn   | Ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh, tên chủng, ngày làm KSD   |
| 4 | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. | Để huyền dịch chứa lượng vi khuẩn nhất định tương đương với 0,5 McFarland ( $10^8$ CFU/ml) | Huyền dịch có độ đục là 0,5 McFarland  |
| 5 | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   | Huyền dịch được lấy vào môi trường để chuẩn bị cho ria cấy                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tăm bông vô khuẩn được nhúng vào huyền dịch</li> <li>- Dịch thừa được bỏ bớt bằng cách ép vào thành ống</li> </ul>  |
| 6 | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   | Vi khuẩn được dàn đều lên toàn bộ bề mặt đĩa thạch   | Ria đều khắp mặt thạch, quay đĩa $45^\circ$ rồi ria lại, lặp lại ít nhất 3 lần, cuối cùng ria tăm bông quanh bờ mép của mặt thạch.   |
| 7 | Đề đĩa thạch 15phút ở nhiệt độ phòng.                     | Đề mặt thạch se lại  | Đúng, đủ thời gian   |

|    |  |  |   |
|----|--|--|---|
| 8  | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoan kháng sinh đặt lên mặt thạch | Khoanh giấy được đặt trên mặt thạch                            | Khoanh cách khoan 2 cm, khoan cách thành 1 cm             |
| 9  | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                    | Đề khoan giấy kháng sinh bám chặt trên bề mặt thạch            | Đúng, đủ thời gian  |
| 10 | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                | Tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển và kháng sinh khuếch tán | Đúng, đủ thời gian, nhiệt độ                              |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                 | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                                  | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                         | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                             | Sạch và đúng quy định                                     |

Phụ lục 2. Quy trình kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoan khoan giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | NỘI DUNG                   | Ý NGHĨA  | TIÊU CHUẨN   |
|-----|----------------------------|--|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Tủ ATSH, tủ ấm<br>- Đèn cồn, que cấy, panh, ống nghiệm, đĩa peptri<br>- Tấm bông vô trùng<br>- Bút viết kính |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             | Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi        | <p>Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nước muối sinh lý 0.9%</li> <li>- Độ đục chuẩn McFarland 0.5</li> <li>- Môi trường MH có độ dày <math>4 \pm 0,5</math> mm, được để ở nhiệt độ phòng 15-30p trước khi tiến hành</li> <li>- Khoanh kháng sinh phù hợp với chủng vi khuẩn theo hướng dẫn của CLSI</li> <li>- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn <i>E. coli</i> ATCC 25922 18-24 giờ</li> </ul> |
| 3 | Đánh dấu đĩa thạch  | Tránh nhầm lẫn đĩa thạch và chủng vi khuẩn   | Ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh, tên chủng, ngày làm KSD   |
| 4 | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. | Để huyền dịch chứa lượng vi khuẩn nhất định tương đương với 0,5 McFarland ( $10^8$ CFU/ml) | Huyền dịch có độ đục là 0,5 McFarland  |
| 5 | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   | Huyền dịch được lấy vào môi trường để chuẩn bị cho ria cấy                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tăm bông vô khuẩn được nhúng vào huyền dịch</li> <li>- Dịch thừa được bỏ bớt bằng cách ép vào thành ống</li> </ul>  |
| 6 | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   | Vi khuẩn được dàn đều lên toàn bộ bề mặt đĩa thạch   | Ria đều khắp mặt thạch, quay đĩa $45^\circ$ rồi ria lại, lặp lại ít nhất 3 lần, cuối cùng ria tăm bông quanh bờ mép của mặt thạch.   |
| 7 | Để đĩa thạch 15phút ở nhiệt độ phòng.                     | Để mặt thạch se lại  | Đúng, đủ thời gian   |



|    |  |  |   |
|----|--|--|---|
| 8  | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoan kháng sinh đặt lên mặt thạch | Khoanh giấy được đặt trên mặt thạch                            | Khoanh cách khoan 2 cm, khoan cách thành 1 cm             |
| 9  | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                    | Đề khoan giấy kháng sinh bám chặt trên bề mặt thạch            | Đúng, đủ thời gian  |
| 10 | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                | Tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển và kháng sinh khuếch tán | Đúng, đủ thời gian, nhiệt độ                              |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                 | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                                  | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                         | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                             | Sạch và đúng quy định                                     |

## 2. Bảng kiểm

Phụ lục 1. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             |          |           |
| 3   | Đánh dấu đĩa thạch  |          |           |
| 4   | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. |          |           |
| 5   | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   |          |           |
| 6   | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   |          |           |

|    |  |  |  |
|----|--|--|--|
| 7  | Đề đĩa thạch 15p ở nhiệt độ phòng.                       |  |  |
| 8  | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoan kháng sinh đặt lên mặt thạch |  |  |
| 9  | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                    |  |  |
| 10 | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                |  |  |
| 11 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                 |  |  |
| 12 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                         |  |  |

Phụ lục 2. Bảng kiểm tra chất lượng kỹ thuật kháng sinh đồ khoan khoan giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                                |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm             |          |           |
| 3   | Đánh dấu đĩa thạch  |          |           |
| 4   | Pha huyền dịch vi khuẩn trong nước muối sinh lý vô khuẩn. |          |           |
| 5   | Lấy huyền dịch vi khuẩn                                   |          |           |
| 6   | Ria cấy vi khuẩn bằng tăm bông vô khuẩn                   |          |           |
| 7   | Đề đĩa thạch 15p ở nhiệt độ phòng.                        |          |           |
| 8   | Dùng kẹp vô khuẩn gấp khoan kháng sinh đặt lên mặt thạch  |          |           |
| 9   | Đề đĩa thạch ở nhiệt độ phòng 10 phút                     |          |           |
| 10  | Đề tủ ấm 37°C/18 - 24 giờ                                 |          |           |
| 11  | Thu dọn và xử lý dụng cụ                                  |          |           |
| 12  | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                          |          |           |

## **BÀI 10. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG GIAI ĐOẠN SAU XÉT NGHIỆM**

### **MỤC TIÊU:**

#### **\* Kỹ năng**

1. Thực hiện được các bước theo quy trình an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm tại phòng thực hành của trường.

#### **\* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm**

2. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.

### **NỘI DUNG:**

#### **1. Nguyên tắc**

Giai đoạn sau xét nghiệm bao gồm các hoạt động trả kết quả, lưu trữ, báo cáo cũng như tự đánh giá kết quả xét nghiệm đáp ứng được yêu cầu đặt ra của lâm sàng, của bác sĩ chỉ định, hỗ trợ tốt, kịp thời cho chẩn đoán điều trị kê đơn chỉ định dịch vụ và đánh giá tiên lượng bệnh. Kết quả cần được lưu trữ dưới dạng sổ sách hoặc dữ liệu phù hợp với cơ sở vật chất và định hướng phát triển của cơ sở xét nghiệm. Chúng vi sinh vật cần được bảo quản, lưu trữ theo quy định để phục vụ cho việc kiểm tra đôi chiếu, phân tích bổ sung và nghiên cứu khoa học.

#### **2. Chuẩn bị**

- Thiết bị, dụng cụ:
  - Mũ, găng tay, khẩu trang
  - Dung dịch sát khuẩn
  - Tủ ATSH, tủ ấm
  - Đèn cồn, que cấy, panh, ống nghiệm, đĩa peptri
  - Tấm bông vô trùng
  - Bút viết kính
- Hóa chất và môi trường
  - Nước muối sinh lý 0.9%
  - Độ đục chuẩn McFarland 0.5
  - Môi trường MH
  - Khoanh KS các loại
- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn thuần 18-24 giờ

#### **3. Thực hiện kỹ thuật**

3.1. Kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | Các bước tiến hành                              |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế                       |
| 5   | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng |
| 6   | Tra cứu dữ liệu                                 |
| 7   | Nhận định kết quả                               |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                |

3.2. Kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | Các bước tiến hành                              |
|-----|---|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế                       |
| 5   | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng |
| 6   | Tra cứu dữ liệu                                 |
| 7   | Nhận định kết quả                               |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                |

#### 4. Nhận định kết quả

- Nhận định kết quả kỹ thuật
- Các sai số và cách khắc phục

#### 5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Vi sinh – ký sinh trùng
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm

- Sử dụng kết quả nuôi cấy thực tế để dạy học
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật
- Sinh viên tự học từ các kết quả nuôi cấy thực tế khác nhau
- Sử dụng bảng kiểm để đánh giá

### LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     |          |   |   | 2     |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế                       |          |   |   | 2     |
| 5   | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng |          |   |   |       |
| 6   | Tra cứu dữ liệu                                 |          |   |   | 2     |
| 7   | Nhận định kết quả                               |          |   |   | 2     |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        |          |   |   |       |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                |          |   |   |       |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm

- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 30

Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

2. Thang điểm kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | Nội dung  | Mức điểm |   |   | Hệ số |
|-----|---|----------|---|---|-------|
|     |   | 0        | 1 | 2 |       |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      |          |   |   |       |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               |          |   |   |       |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     |          |   |   | 2     |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế                       |          |   |   | 2     |
| 5   | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng |          |   |   |       |
| 6   | Tra cứu dữ liệu                                 |          |   |   | 2     |
| 7   | Nhận định kết quả                               |          |   |   | 2     |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        |          |   |   |       |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                |          |   |   |       |

\* Quy định:

- Không làm: 0 điểm
- Làm sai/ thiếu: 1 điểm
- Làm đúng và đủ: 2 điểm

\* Đánh giá năng lực tự chủ và trách nhiệm: Sinh viên thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác, trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật

- Thể hiện tốt : 4 điểm
- Thể hiện trung bình: 2 điểm
- Không thể hiện được : 0 điểm

Tổng điểm tối đa: 30

### Quy đổi sang thang điểm 10

|     |     |     |       |       |       |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1   | 2   | 3   | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |
| 0-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 |

Sinh viên đạt yêu cầu khi đạt mức điểm từ 5 trở lên trên thang điểm 10.

### CÁC PHỤ LỤC

#### 1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | NỘI DUNG                          | Ý NGHĨA   | TIÊU CHUẨN   |
|-----|-----------------------------------|---|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng        | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi        | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Đèn cồn, thước đo<br>- Bút viết kính |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm | Hóa chất, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:<br>Bệnh phẩm: đĩa kháng sinh đồ sau nuôi cấy 37°C/24h  |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.       | Đảm bảo đĩa thạch đủ điều kiện để đọc được chính xác kết quả            | Chỉ đọc kết quả khi vi khuẩn thử nghiệm mọc đồng đều trên mặt thạch, nếu không thì rà soát và làm lại  |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế         | Xác định kích thước vùng ức chế   | Đo đúng đường kính vùng ức chế xung quanh từng khoan   |

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
|   |   |  | giấy kháng sinh với đơn vị mm  |
| 5 | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng | Kết quả đo được ghi lại với tên kháng sinh             | Ghi đúng kết quả, tên và ký hiệu kháng sinh tương ứng                                |
| 6 | Tra cứu dữ liệu                                 | Tham chiếu kết quả                                     | Tra cứu được theo CLSI với chủng vi khuẩn và tên kháng sinh, ghi lại nguồn trích dẫn |
| 7 | Nhận định kết quả                               | Kết quả KSD được nhận định từ kích thước vòng vô khuẩn | Nhận định được kết quả theo mức độ nhạy cảm, trung gian hoặc đề kháng                |
| 8 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        | Dụng cụ được thu dọn và xử lý                          | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn                            |
| 9 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                     | Sạch và đúng quy định  |

Phụ lục 2. Quy trình kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | NỘI DUNG                   | Ý NGHĨA  | TIÊU CHUẨN   |
|-----|----------------------------|--|--|
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng | Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục:<br>- Mũ, găng tay, khẩu trang<br>- Dung dịch sát khuẩn<br>- Đèn cồn, thước đo<br>- Bút viết kính |



|   |   |   |   |
|---|---|---|---|
| 2 | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               | Hóa chất, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi | Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp:<br>Bệnh phẩm: đĩa kháng sinh đồ sau nuôi cấy 37°C/24h   |
| 3 | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     | Đảm bảo đĩa thạch đủ điều kiện để đọc được chính xác kết quả            | Chỉ đọc kết quả khi vi khuẩn thử nghiệm mọc đồng đều trên mặt thạch, nếu không thì rà soát và làm lại |
| 4 | Đo đường kính vùng ức chế                       | Xác định kích thước vùng ức chế   | Đo đúng đường kính vùng ức chế xung quanh từng khoanh giấy kháng sinh với đơn vị mm                   |
| 5 | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng | Kết quả đo được ghi lại với tên kháng sinh                              | Ghi đúng kết quả, tên và ký hiệu kháng sinh tương ứng   |
| 6 | Tra cứu dữ liệu                                 | Tham chiếu kết quả  | Tra cứu được theo CLSI với chủng vi khuẩn và tên kháng sinh, ghi lại nguồn trích dẫn                  |
| 7 | Nhận định kết quả                               | Kết quả KSD được nhận định từ kích thước vòng vô khuẩn                  | Nhận định được kết quả theo mức độ nhạy cảm, trung gian hoặc đề kháng                                 |
| 8 | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        | Dụng cụ được thu dọn và xử lý   | An toàn, đúng quy định<br>Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn   |
| 9 | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                | Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ                                      | Sạch và đúng quy định   |

## 2. Bảng kiểm

Phụ lục 3. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoanh giấy khuếch tán với cầu khuẩn gram dương

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               |          |           |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     |          |           |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế                       |          |           |
| 5   | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng |          |           |
| 6   | Tra cứu dữ liệu                                 |          |           |
| 7   | Nhận định kết quả                               |          |           |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        |          |           |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                |          |           |

Phụ lục 4. Bảng kiểm kiểm tra chất lượng đọc kết quả kháng sinh đồ khoan giấy khuếch tán với trực khuẩn gram âm

| STT | NỘI DUNG  | Đánh giá |           |
|-----|---|----------|-----------|
|     |   | Đạt      | Không đạt |
| 1   | Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng                      |          |           |
| 2   | Chuẩn bị hóa chất, sinh bệnh phẩm               |          |           |
| 3   | Kiểm tra đĩa kháng sinh đồ.                     |          |           |
| 4   | Đo đường kính vùng ức chế                       |          |           |
| 5   | Ghi kết quả đo ứng với tên kháng sinh tương ứng |          |           |
| 6   | Tra cứu dữ liệu                                 |          |           |
| 7   | Nhận định kết quả                               |          |           |
| 8   | Thu dọn và xử lý dụng cụ                        |          |           |
| 9   | Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn                |          |           |

## **TÀI LIỆU THĂM KHẢO**

1. Trung tâm kiểm chuẩn xét nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh, (2012), *Những vấn đề cơ bản trong đảm bảo chất lượng xét nghiệm y khoa, nhà xuất bản Y học.*
2. Trung tâm kiểm chuẩn xét nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh, (2012), *Nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm, nhà xuất bản Y học.*
3. Trung tâm kiểm chuẩn xét nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh, (2012), *Ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm, nhà xuất bản Y học.*