

BỘ Y TẾ



XÉT NGHIỆM HIV

Tài liệu đào tạo dành cho học viên

Hà Nội, tháng 9 năm 2016

BỘ Y TẾ



XÉT NGHIỆM HIV

Tài liệu đào tạo dành cho học viên

Hà Nội, tháng 9 năm 2016

QUYẾT ĐỊNH

**Về việc ban hành chương trình và
tài liệu đào tạo liên tục “Xét nghiệm HIV”**

CỤC TRƯỞNG CỤC KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ ĐÀO TẠO

Căn cứ Quyết định số 4059/QĐ-BYT ngày 22/10/2012 của Bộ trưởng Bộ Y tế quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo;

Căn cứ Thông tư số 22/2013/TT-BYT ngày 9/8/2013 về Hướng dẫn việc đào tạo liên tục cho cán bộ y tế;

Căn cứ biên bản họp Hội đồng chuyên môn thẩm định chương trình đào tạo liên tục “Xét nghiệm chẩn đoán HIV” ngày 26 tháng 11 năm 2015;

Theo đề nghị của trưởng phòng Quản lý đào tạo sau đại học và Đào tạo liên tục,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành Chương trình và tài liệu đào tạo liên tục về Xét nghiệm HIV (tài liệu đào tạo dành cho học viên), thời gian đào tạo 40 tiết do Cục Phòng, chống HIV/AIDS tổ chức biên soạn.

Điều 2. Chương trình và tài liệu đào tạo “Xét nghiệm HIV” được sử dụng để đào tạo liên tục cho cán bộ y tế làm trong lĩnh vực xét nghiệm.

Điều 3. Quyết định có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

Điều 4. Các ông/bà Chánh Văn phòng Cục, Trưởng phòng Quản lý đào tạo sau đại học và Đào tạo liên tục; Cục Phòng, chống HIV/AIDS; Các cơ sở được giao nhiệm vụ đào tạo liên tục cán bộ y tế chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- TT Lê Quang Cường (để b/c);
- TT Nguyễn Thanh Long (để b/c);
- Lưu: VT, SDH.



Nguyễn Công Khẩn

THAM GIA BIÊN SOẠN TÀI LIỆU

1. Chủ biên

- TS. Phan Thị Thu Hương, Cục Phòng, chống HIV/AIDS, Bộ Y tế.

2. Phó chủ biên

- TS. Phạm Hồng Thắng, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

3. Nhóm biên soạn

- TS. Phan Thị Thu Hương, Cục Phòng, chống HIV/AIDS, Bộ Y tế
- TS. Phạm Hồng Thắng, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương
- PGS. TS. Trương Xuân Liên, Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh.
- PGS. TS. Vũ Thị Tường Vân, Bệnh viện Bạch Mai.
- BS. CKI. Trần Tôn, Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh.
- ThS. Hoàng Thị Thanh Hà, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.
- ThS. Nguyễn Việt Nga, Cục Phòng, chống HIV/AIDS, Bộ Y tế.
- CN. Trần Văn Chi, Viện Huyết học Truyền máu Trung ương.

4. Thư ký biên soạn

- ThS. Nguyễn Việt Nga, Cục Phòng, chống HIV/AIDS, Bộ Y tế.
- ThS. Nguyễn Thị Mai, Cục Phòng, chống HIV/AIDS, Bộ Y tế.

Cùng với sự tham gia góp ý của các chuyên gia

- TS. Bùi Thị Thu Hiền, Văn phòng CDC Việt Nam.
- Ths. Đỗ Thị Thu Thủy, Văn phòng CDC Việt Nam.
- TS. Nguyễn Thị Thúy Vân, Tổ chức Y tế thế giới.
- Các chuyên gia của Tổ chức CHAI tại Việt Nam

MỤC LỤC

BÀI 1. TỔNG QUAN VỀ HIV/AIDS.....	1
1. Đại cương về HIV và AIDS.....	1
1.1. Lịch sử.....	1
1.2. Phân loại HIV.....	2
1.3. Đặc tính sinh học của HIV.....	3
1.4. Miễn dịch học.....	8
2. Các giai đoạn lâm sàng nhiễm HIV.....	9
2.1. Giai đoạn nhiễm cấp.....	9
2.2. Giai đoạn không triệu chứng (giai đoạn lâm sàng tiềm ẩn).....	9
2.3. Giai đoạn suy giảm miễn dịch.....	10
3. Điều trị ARV.....	11
3.1. Tác động của thuốc ARV tới chu kỳ nhân lên của vi rút.....	11
3.2. Các thuốc kháng retrovirus.....	12
BÀI 2. CÁC NGUYÊN LÝ KỸ THUẬT VÀ PHƯƠNG CÁCH XÉT NGHIỆM HIV.....	15
1. Phương pháp xét nghiệm gián tiếp.....	16
1.1. Kỹ thuật xét nghiệm ngưng kết hạt vi lượng (Microtiter particle agglutination).....	16
1.2. Kỹ thuật xét nghiệm nhanh.....	17
1.3. Các kỹ thuật miễn dịch gắn men ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).....	20
1.4. Kỹ thuật hóa phát quang và điện hóa phát quang.....	22
1.5. Kỹ thuật WESTERN-BLOT.....	24
2. Phương pháp xét nghiệm trực tiếp.....	25
2.1. Khái niệm.....	25
2.2. Phát hiện kháng nguyên p24 (antigen p24).....	26
2.3. Các kỹ thuật sinh học phân tử phát hiện HIV-ARN hoặc HIV-ADN pro vi rút.....	26
3. Xét nghiệm theo dõi người nhiễm HIV/AIDS.....	27
3.1. Xét nghiệm đếm tế bào Lympho T-CD4.....	27
3.2. Xét nghiệm đo tải lượng HIV.....	28
3.3. Xét nghiệm định typ gen kháng thuốc ARV.....	28
4. Các chiến lược xét nghiệm.....	29
4.1. Chiến lược I (áp dụng cho an toàn truyền máu).....	29
4.2. Chiến lược II (áp dụng cho giám sát dịch tễ).....	30
4.3. Chiến lược III (áp dụng cho xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV).....	31
5. Phương cách xét nghiệm HIV.....	35
6. Sinh phẩm xét nghiệm HIV.....	36
7. Nguyên tắc thực hiện xét nghiệm HIV.....	37
8. Hệ thống cung ứng dịch vụ xét nghiệm HIV tại Việt Nam.....	37
BÀI 3. LẤY MẪU, ĐÓNG GÓI, VẬN CHUYỂN VÀ BẢO QUẢN MẪU BỆNH PHẨM.....	41
1. Lấy mẫu.....	42

1.1. Lấy mẫu máu mao mạch bằng dụng cụ chích máu (Lancet)	43
1.2. Lấy mẫu máu tĩnh mạch	44
1.3. Lấy mẫu nước bọt.....	46
1.4. Lấy mẫu giọt máu khô [2].....	46
2. Đóng gói và vận chuyển mẫu.....	46
2.1. Đóng gói mẫu.....	46
2.2. Vận chuyển mẫu bệnh phẩm	47
2.3. Tiếp nhận, thực hiện xét nghiệm, lưu giữ mẫu bệnh phẩm	48
3. Bảo quản mẫu.....	48
4. Tiêu chuẩn chấp nhận và loại bỏ mẫu.....	49
4.1. Chấp nhận mẫu	49
4.2. Loại bỏ mẫu	49
5. Nguyên nhân ảnh hưởng tới chất lượng mẫu, giải pháp khắc phục	49
5.1. Nguyên nhân ảnh hưởng đến chất lượng mẫu	49
5.2. Giải pháp khắc phục	50
5.3. Nếu các mẫu không đạt chất lượng thì phải thông báo với bệnh nhân để lấy lại mẫu xét nghiệm.	50
BÀI 4. QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV	53
1. Các khái niệm về chất lượng.....	53
1.1. Chất lượng (Quality).....	53
1.2. Quản lý chất lượng (Quality Management).....	53
1.3. Chính sách chất lượng (Quality Policy)	53
1.4. Mục tiêu chất lượng (Quality Objective).....	53
1.5. Hoạch định chất lượng (Quality Planning).....	53
1.6. Kiểm soát chất lượng (Quality Control).....	53
1.7. Đảm bảo chất lượng (Quality Assurance-QA)	53
1.8. Cải tiến chất lượng (Quality Improvement).....	54
2. Tổng quan của hệ thống quản lý chất lượng	54
3. Các thành tố trong quản lý chất lượng phòng xét nghiệm	54
3.1. Tổ chức	55
3.2. Nhân sự	56
3.3. Trang thiết bị	57
3.4. Mua sắm và lưu kho	58
3.5. Kiểm soát quá trình.....	58
3.6. Quản lý thông tin.....	59
3.7. Tài liệu và hồ sơ.....	60
3.8. Quản lý sự cố.....	60
3.9. Đánh giá	61
3.10. Cải tiến quá trình	62
3.11. Dịch vụ khách hàng.....	63
3.12. Tiện nghi và an toàn.....	63
BÀI 5. TIÊU CHUẨN PHÒNG XÉT NGHIỆM VÀ SẮP XẾP BỐ TRÍ PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV	67
1. Tiêu chuẩn phòng xét nghiệm.....	67
1.1. Mở đầu	67
1.2. Trách nhiệm	68
1.3. Nguyên tắc chung	68

2. Hướng dẫn thiết kế phòng xét nghiệm	69
2.1. Luồng công việc	69
2.2. Phân phối công việc	69
2.3. Vị trí cho trang thiết bị.....	70
2.4. Các yếu tố vật lý.....	70
2.5. Bàn làm việc	71
BÀI 6. QUẢN LÝ THÔNG TIN VÀ HỆ THỐNG BIỂU MẪU BÁO CÁO	73
1. Khái niệm và tầm quan trọng của thông tin trong xét nghiệm HIV	73
1.1. Khái niệm	73
1.2. Tầm quan trọng thông tin trong xét nghiệm HIV	73
2. Các loại thông tin và yêu cầu đối với thông tin trong xét nghiệm HIV	74
2.1. Các loại thông tin	74
2.2. Những yêu cầu đối với thông tin về xét nghiệm HIV	74
2.3. Các giai đoạn thu thập thông tin trong xét nghiệm HIV	74
3. Hệ thống biểu mẫu báo cáo.....	75
3.1. Biểu mẫu sổ sách dành cho cơ sở thực hiện xét nghiệm sàng lọc HIV	75
3.1.1. Phiếu gửi mẫu xét nghiệm HIV mẫu HIV	75
3.1.2. Sổ xét nghiệm HIV.....	75
3.1.3. Kết quả xét nghiệm kháng thể kháng HIV	76
3.2. Biểu mẫu sổ sách dành cho cơ sở thực hiện xét nghiệm khẳng định các trường hợp HIV dương tính	76
3.2.1. Phiếu gửi mẫu xét nghiệm HIV mẫu HIV	76
3.2.2. Sổ nhận mẫu và trả kết quả xét nghiệm HIV	77
3.2.3. Sổ xét nghiệm HIV.....	78
3.2.4. Sổ lưu mẫu dương tính và không xác định.....	79
3.2.5. Phiếu trả lời kết quả xét nghiệm HIV	80
3.2.6. Kết quả xét nghiệm HIV	81
3.9. Sổ theo dõi lý lịch máy	85
3.10. Báo cáo tình hình xét nghiệm.....	86
3.11. Phiếu theo dõi nhiệt độ	86
3.12. Hồ sơ theo dõi nội kiểm (IQC), ngoại kiểm tra (EQA).....	87
4. Chế độ lưu giữ thông tin	87
BÀI 7. AN TOÀN SINH HỌC TRONG XÉT NGHIỆM HIV	90
1. Một số nguyên tắc chung về an toàn sinh học phòng xét nghiệm	90
1.1. Phân loại các vi sinh vật gây bệnh theo nhóm nguy cơ.....	90
1.2. Xác định cấp độ an toàn sinh học cho phòng xét nghiệm	91
2. Bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm	94
2.1. Phòng xét nghiệm.....	94
2.2. An toàn sinh học phòng xét nghiệm (ATSH PXN)	94
2.3. Quy định đối với nhân viên làm trong phòng xét nghiệm.....	94
2.4. Sự cố an toàn sinh học	95
3. An toàn hóa học, lửa, điện, bức xạ và trang thiết bị	97
4. Quản lý mẫu bệnh phẩm	98
5. Xử lý chất thải	98
6. Quy trình kỹ thuật về an toàn sinh học phòng xét nghiệm	98
7. Tổ chức, quản lý.....	99

8. Thực hành tốt trong phòng xét nghiệm.....	99
8.1. Yêu cầu về an toàn sinh học.....	99
8.2. Yêu cầu về kỹ năng thực hành của phòng xét nghiệm	99
9. Dự phòng sau phơi nhiễm HIV.....	100
9.1. Các dạng phơi nhiễm	100
9.2. Quy trình xử trí sau phơi nhiễm: Bao gồm các bước sau:.....	100
THỰC HÀNH	106
ĐÁP ÁN CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ	107
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	108
CÁC VĂN BẢN, HƯỚNG DẪN LIÊN QUAN ĐẾN XÉT NGHIỆM HIV	108

LỜI GIỚI THIỆU

Xét nghiệm HIV đóng vai trò quan trọng trong công tác phòng, chống HIV/AIDS và là cách duy nhất để biết được một người có bị nhiễm HIV hay không từ đó giúp bệnh nhân tiếp cận với các biện pháp dự phòng và điều trị HIV/AIDS, góp phần phòng chống lây nhiễm HIV hiệu quả hơn. Xét nghiệm HIV có mục đích để sàng lọc HIV trong an toàn truyền máu, cấy ghép mô tạng, giám sát dịch HIV/AIDS, chẩn đoán HIV/AIDS, hiện nay tại Việt Nam xét nghiệm HIV được triển khai rộng khắp từ Trung ương đến địa phương ở tất cả các cấp với hơn 1000 phòng xét nghiệm sàng lọc HIV và 110 phòng xét nghiệm khẳng định HIV với rất nhiều các kỹ thuật xét nghiệm được áp dụng từ các kỹ thuật đơn giản đến các kỹ thuật có sử dụng máy móc và trang thiết bị như miễn dịch gắn dấu đến kỹ thuật sinh học phân tử.

Tài liệu “Xét nghiệm HIV” được xây dựng nhằm mục đích cung cấp các kiến thức tổng quan về xét nghiệm HIV đồng thời nâng cao kiến thức và các kỹ năng để các cán bộ xét nghiệm có thể thực hiện và áp dụng các kỹ thuật xét nghiệm HIV, quản lý đảm bảo chất lượng xét nghiệm, an toàn sinh học phòng xét nghiệm cho các cán bộ y tế đang làm trong lĩnh vực xét nghiệm phục vụ công tác phòng, chống HIV/AIDS. Ngoài ra, cuốn tài liệu này còn được sử dụng cho việc đào tạo cấp chứng chỉ đào tạo liên tục cho cán bộ xét nghiệm. Tài liệu đã tham khảo các văn bản quy phạm pháp luật, hướng dẫn chuyên môn của Bộ Y tế; Tổ chức Y tế thế giới và các tổ chức quốc tế khác; các ý kiến góp ý của các chuyên gia về xét nghiệm HIV trong nước và quốc tế để biên soạn phù hợp với tình hình thực tế tại Việt Nam.

Trong quá trình biên soạn, không thể tránh khỏi các sai sót, tập thể nhóm biên soạn mong nhận được sự đóng góp của quý độc giả để tài liệu tiếp tục được hoàn thiện hơn.

Trân trọng cảm ơn!

TM. NHÓM BIÊN SOẠN



TS. Phan Thị Thu Hương

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG TÀI LIỆU

1. Mục đích của cuốn tài liệu

Cuốn tài liệu Xét nghiệm HIV nhằm mục đích cung cấp cho giảng viên, học viên, cán bộ y tế và những người làm xét nghiệm HIV có đủ kiến thức và kỹ năng để thực hiện xét nghiệm HIV; thực hiện việc đảm bảo chất lượng, an toàn sinh học phòng xét nghiệm tối thiểu cho xét nghiệm HIV. Ngoài ra, cuốn tài liệu này sẽ được sử dụng làm căn cứ cho việc đào tạo cấp chứng chỉ đào tạo liên tục cho các cán bộ thực hiện xét nghiệm HIV.

2. Đối tượng sử dụng tài liệu

Cuốn tài liệu này được biên soạn chủ yếu dành cho:

- Cán bộ phòng xét nghiệm;
- Cán bộ quản lý phòng xét nghiệm;
- Sinh viên và giảng viên các cơ sở đào tạo về kỹ thuật xét nghiệm HIV.

3. Nội dung chủ yếu của tài liệu

Tài liệu này có 07 bài bao gồm cả lý thuyết và thực hành, câu hỏi lượng giá và đáp án, tài liệu tham khảo. Trong đó 01 bài giới thiệu tổng quan về HIV/AIDS, 01 bài các nguyên lý và phương cách xét nghiệm HIV, 01 bài lấy mẫu, vận chuyển và bảo quản mẫu bệnh phẩm, 01 bài quản lý đảm bảo chất lượng xét nghiệm HIV, 01 bài về sắp xếp và tiêu chuẩn phòng xét nghiệm HIV, 01 bài về quản lý thông tin phòng xét nghiệm, 01 bài về an toàn phòng xét nghiệm.

4. Tài liệu tham khảo

Phần này tập hợp những tài liệu cơ bản nhất mà nhóm biên soạn đã sử dụng trong quá trình biên soạn và một số văn bản quy phạm pháp luật có liên quan đến các kỹ thuật, phương cách xét nghiệm HIV, thu thập và quản lý mẫu bệnh phẩm, quản lý đảm bảo chất lượng xét nghiệm, quản lý thông tin phòng xét nghiệm và an toàn phòng xét nghiệm.

5. Cách sử dụng tài liệu

Đây là cuốn tài liệu được sử dụng đào tạo liên tục cho cán bộ y tế tham gia hoạt động xét nghiệm HIV. Tuy nhiên, các bác sỹ, giảng viên và những người làm công tác quản lý có liên quan đến lĩnh vực phòng, chống

HIV/AIDS cũng có thể tham khảo giúp nâng cao kiến thức về xét nghiệm HIV.

Với những người quản lý hoạt động xét nghiệm HIV, tài liệu này sẽ được sử dụng như là nguồn tham khảo trong quá trình tham mưu xây dựng các chính sách, văn bản chỉ đạo, kế hoạch của đơn vị về triển khai hoạt động xét nghiệm HIV phục vụ công tác sàng lọc, giám sát, chẩn đoán HIV.

Người quản lý cũng có thể sử dụng tài liệu này như một hướng dẫn chuyên môn phục vụ cho công tác theo dõi, giám sát và đánh giá các hoạt động xét nghiệm phục vụ công tác phòng chống HIV/AIDS nói chung và xét nghiệm HIV nói riêng.

Lưu ý rằng, trong quá trình sử dụng, một số nội dung, kiến thức trong tài liệu này có thể thay đổi do sự tiến bộ về kỹ thuật xét nghiệm, và các quy định có liên quan. Do vậy, người sử dụng tài liệu, đặc biệt là các giảng viên cần chú ý cập nhật thường xuyên.

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

ADCC	Antibody dependent cellular cytotoxicity (Tế bào phụ thuộc kháng thể)
ADN	Acid Desoxyribonucleic
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome (Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải)
ARN	Acid Ribonucleic
ARV	Antiretrovirus (Thuốc kháng retro vi rút)
BYT	Bộ Y tế
DBS	Dried Blood Spot (Mẫu máu khô)
EQA	External Quality Assessment (Ngoại kiểm tra)
HIV	Human Immunodeficiency Virus (Vi rút gây suy giảm miễn dịch ở người)
IQC	Internal Quality Control (Nội kiểm tra)
NRTI	Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors (Nhóm ức chế phiên mã ngược nucleoside)
NNRTI	Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (Nhóm ức chế men sao chép ngược không phải là nucleoside)
PAC	Province of HIV/AIDS Center (Trung tâm Phòng, chống HIV/AIDS)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Phản ứng chuỗi trùng phân)
PI	Protease inhibitor (Thuốc ức chế men protease)
T _h	Helper T cell (Tế bào T hỗ trợ)

QC	Quality Control (Kiểm soát chất lượng)
QMS	Quality Management System (Hệ thống quản lý chất lượng)
SD	Standard Deviation (Độ lệch chuẩn)

BÀI 1. TỔNG QUAN VỀ HIV/AIDS

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có thể trình bày được:

1. HIV và nguyên nhân lây nhiễm HIV.
2. Quá trình phát triển của HIV.
3. Các giai đoạn lâm sàng nhiễm HIV và điều trị ARV.

THỜI GIAN HỌC TẬP: 90 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức cơ bản về HIV/AIDS và tổng quan về hệ thống xét nghiệm phục vụ hoạt động phòng, chống HIV/AIDS. Trước tiên, bài viết trình bày các nội dung cơ bản về HIV/AIDS, các giai đoạn lâm sàng nhiễm HIV. Tiếp theo bài viết đề cập đến việc điều trị HIV/AIDS bằng thuốc ARV và cuối cùng là hệ thống xét nghiệm HIV tại Việt Nam.

1. Đại cương về HIV và AIDS

1.1. Lịch sử

Năm 1981, M. Gottlieb (Los Angeles) đã mô tả bệnh phổi do *Pneumocystis carinii* trên một người nam không có tiền sử bệnh lý đặc biệt và có sự giảm tế bào lympho T-CD4. Sau đó Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ cũng đã ghi nhận trong số những người đàn ông đồng tính luyến ái tại Mỹ những biểu hiện nhiễm trùng cơ hội khác như sarcome Kaposi và tình trạng giảm số lượng tế bào lympho T-CD4. Các biểu hiện lâm sàng này được gọi tên là *hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải*, hay còn gọi là AIDS.

Năm 1983 một nhóm các nhà nghiên cứu của viện Pasteur Paris Pháp gồm: F.Barré- Sinoussi, J.C. Chermann, Luc Montanier đã phân lập được HIV-1 từ hạch của một bệnh nhân bị hội chứng hạch to kéo dài.

Năm 1984 các nhà nghiên cứu đã chứng minh được tế bào đích của HIV là tế bào lympho T-CD4.

Năm 1985, những sinh phẩm phát hiện nhiễm HIV đầu tiên được sản xuất.

Đến tháng 3/1986, nhóm nghiên cứu của viện Pasteur Paris đã phân lập được HIV-2 ở hai bệnh nhân Tây Phi mắc hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải.

Cuối năm 1986 đã có những kết quả lâm sàng đầu tiên về điều trị bệnh nhân nhiễm HIV với AZT.

Năm 1990 những ghi nhận đã cho thấy số lượng tế bào lympho T-CD4 như một chỉ số quan trọng trong theo dõi, tiên lượng sự tiến triển bệnh.

Năm 1995-1996 đã định lượng được lượng vi rút có trong huyết tương bệnh nhân, đây là một chỉ số có giá trị quan trọng trong tiên lượng tiến triển và theo dõi điều trị.

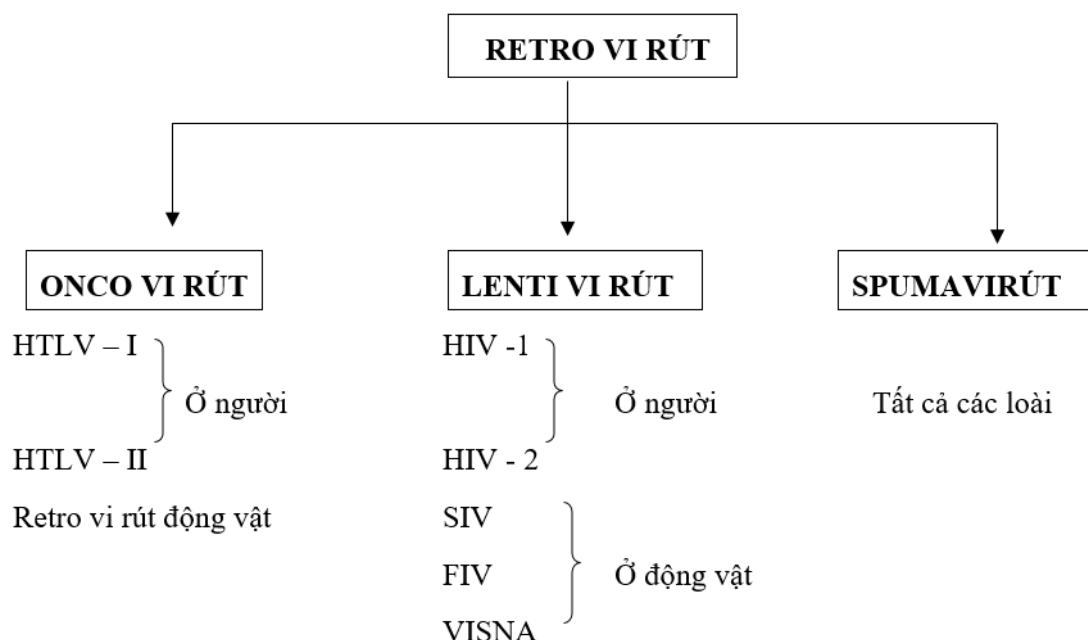
Cho đến nay đã có rất nhiều loại thuốc dùng điều trị nhằm giúp bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS kéo dài và cải thiện chất lượng cuộc sống. Sử dụng phác đồ đa trị liệu kết hợp 3 loại thuốc là phương pháp điều trị đem lại hiệu quả tốt. Tuy nhiên sự xuất hiện của các chủng HIV kháng thuốc là một trong những trở ngại lớn đối với việc điều trị.

1.2. Phân loại HIV

HIV được xếp vào phân nhóm Lentivirus thuộc họ Retro vi rút.

Họ Retro vi rút gồm những vi rút RNA, có đặc tính chung là có enzym sao chép ngược (reverse transcriptase) cho phép sao chép DNA từ RNA trong chu trình nhân lên của virút.

Lenti vi rút gồm các vi rút gây các bệnh tiến triển chậm, trong đó HIV-1, HIV-2 gây bệnh cho người và một số vi rút khác gây bệnh trên súc vật: SIV (khỉ), VISNA (cừu), FIV (mèo), BIV (bò), EIAV (ngựa), CAEV (dê).



Hình 1: Phân loại HIV

HIV-1 là tác nhân gây bệnh chủ yếu thường gặp ở tất cả các nước trên thế giới. HIV-2 được tìm thấy ở một số nước Tây Phi. Về di truyền: bộ gen của HIV-1

và HIV-2 có cấu trúc di truyền khác nhau >50%, HIV-2 gần với SIV hơn. Trọng lượng phân tử của các thành phần cấu trúc cũng có khác biệt. HIV-1 có độc lực cao hơn, thời gian chuyển sang giai đoạn AIDS ngắn hơn và khả năng lây truyền cao hơn so với HIV-2.

HIV-1 được chia làm 3 nhóm lớn, các nhóm có đặc điểm di truyền khác nhau 20%, các thứ týp có đặc điểm di truyền khác nhau khoảng 5%:

- Nhóm M: có thứ týp (subtype) từ A →I
- Nhóm O: Chủ yếu gặp ở Gabon, Cameroun.
- Nhóm N: Mới được biết đến ở Cameroun, gần với SIV của Chimpanze.

Gần đây, các nhà khoa học phát hiện thêm một nhóm mới là P, nhóm này có liên quan mật thiết với vi rút gây hội chứng suy giảm miễn dịch ở loài khỉ gorilla.

Ngoài ra, HIV còn ở các týp vi rút tái tổ hợp (CRF circulating recombinant forms) mang những đoạn gen của các týp vi rút khác nhau. Ví dụ HIV-1 CRF 01 A-E mang các đoạn gen của HIV-1 týp A và E .

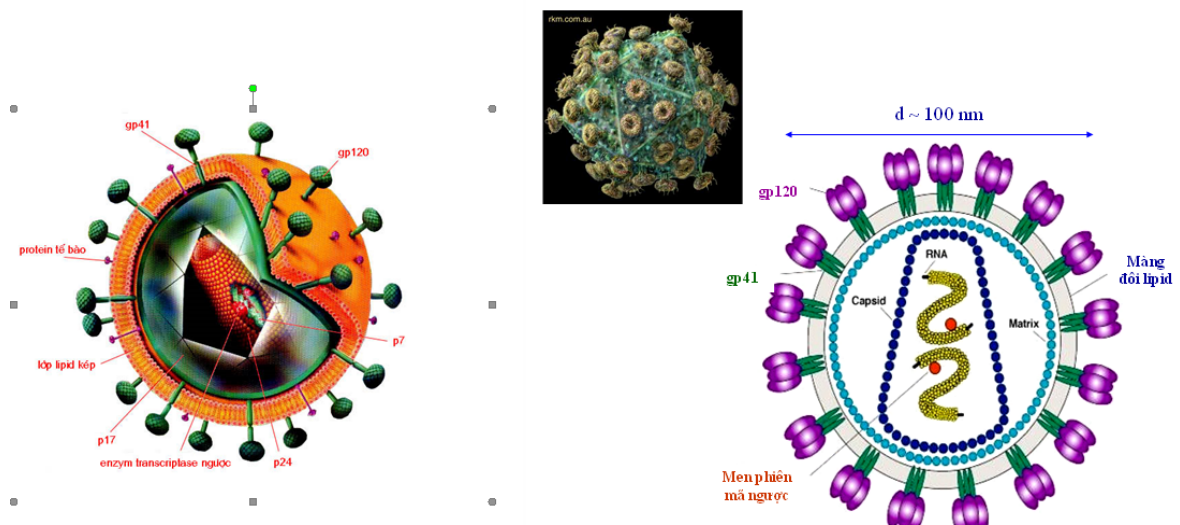


Hình 2: Sự phân bố các thứ týp di truyền HIV-1

Các týp và thứ týp của HIV có sự phân bố khác nhau theo các vùng địa lý. HIV-1 CRF 01 A_E là thứ typs lưu hành chính tại Việt nam. Các týp và thứ týp của HIV có thể ảnh hưởng đến độ nhạy của các xét nghiệm chẩn đoán, định lượng cũng như tính sinh bệnh học, đáp ứng điều trị và nghiên cứu sản xuất vắc xin.

1.3. Đặc tính sinh học của HIV

1.3.1. Cấu trúc



Hình 3: Cấu trúc phân tử của HIV

HIV có hình cầu, kích thước 100-120 nanometres, cấu trúc gồm: 2 sợi RNA giống hệt nhau có khoảng 9200 cặp base. Vi rút hoàn chỉnh có cấu trúc gồm 3 lớp:

Bao ngoài:

Màng lipid kép với các gai nhú ra bên ngoài là các phân tử Glycoprotein có trọng lượng 160 kilodalton (gp 160) gồm hai thành phần:

- Glycoproteine màng ngoài trọng lượng phân tử 120 kilodalton (gp 120). Phân tử gp120 nhận biết thụ thể CD4 có trên tế bào lympho CD4 và một số tế bào khác, nhờ đó vi rút bám được vào tế bào đích.
- Xuyên qua màng lipid là các phân tử glycoprotein có trọng lượng 41 kilodalton (gp 41) tham gia vào giai đoạn hòa màng của vi rút và tế bào nhiễm.
- Các phân tử glycoprotein màng giúp cho vi rút bám và xâm nhập vào tế bào đích.

Vỏ trong (capsid): Gồm 2 lớp protein

- Lớp ngoài hình cầu, cấu tạo bởi phân tử protein có trọng lượng phân tử là 18 kilodalton (p18).
- Lớp trong hình trụ, cấu tạo bởi phân tử protein có trọng lượng phân tử là 24 kilodalton (p24).

Phần lõi: bao gồm

- Bộ gen gồm 2 chuỗi RNA giống hệt nhau, trên có gắn enzyme RT.

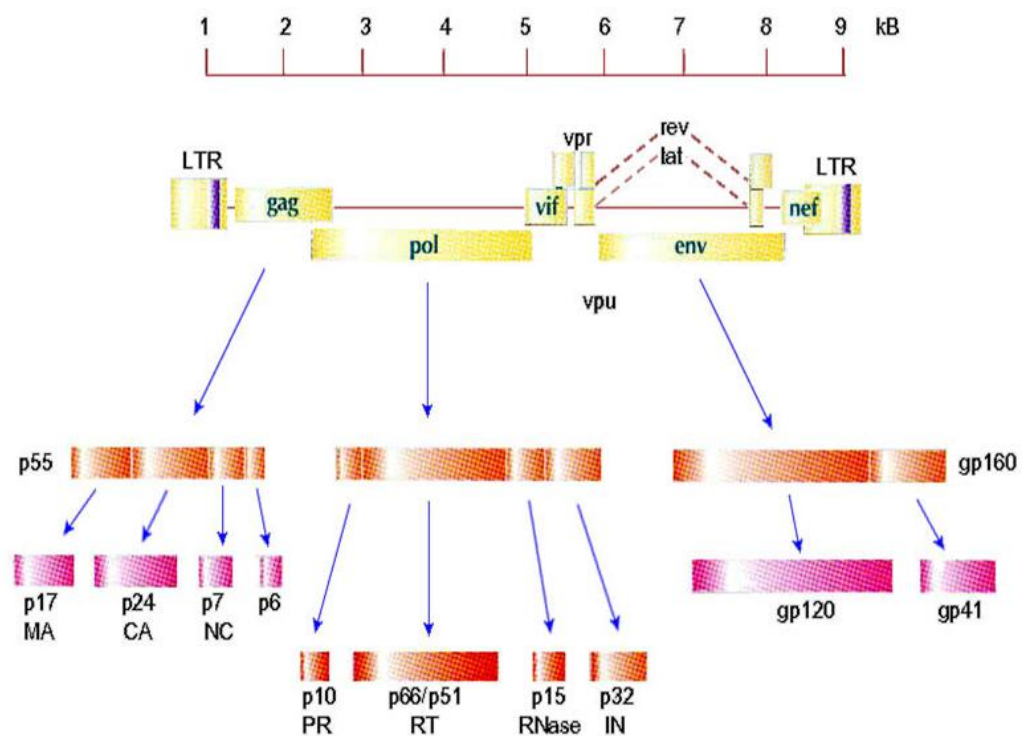
- RT (reverse transcriptase): men sao chép ngược, là enzyme RNA dạng hoạt động p66/51 ở HIV-1 và p68 ở HIV-2, đảm nhiệm phiên mã bộ gen vi rút thành DNA bổ sung.

- Protease (p12): Cắt các polyproteine được mã hóa thành các protein cấu trúc hoặc chức năng.

- Integrase (p31 ở HIV-1 và p34 ở HIV-2): đảm nhiệm sự tích hợp DNA của vi rút vào nhiễm sắc thể tế bào ký chủ.

- Ngoài ra có một số gen tổng hợp các protein chức năng điều hòa khác.

1.3.2. Bộ gen của vi rút



Hình 4: Gen của HIV-1

Gồm ba nhóm gen chính, chung cho họ retro vi rút, mã hóa cho các protein:

- Gag (groupe antigen): Mã hóa cho các protein lõi (p24, p17).
- Pol (polymerase): Mã hóa cho các enzym sao chép ngược (transcriptase inverse), protease và integrase.
- Env (enveloppe): Mã hóa cho các glycoproline vỏ gp 41, gp120 có vai trò quan trọng trong việc giúp vi rút bám và xâm nhập được vào tế bào đích.
- Ngoài ra, bộ gen của HIV còn có các gen (Tat, Rev, Nef, Vpu, Vif, Vpr) liên quan đến chức năng điều hòa quá trình nhân lên và độc lực của vi rút. Bộ gen

vi rút được đóng khung ở 2 đầu bởi hai đoạn có trình tự lặp lại LTRs (Long Terminal Repeat Sequences). Hai vùng này mang các vị trí gắn kết với các protein của tế bào chủ nhằm hoạt hóa quá trình dịch mã và cũng được kiểm soát bởi các tín hiệu của vi rút.

- Tính đa biến về di truyền: HIV có tính đa biến di truyền rất cao. Vi rút phân lập được trên cùng bệnh nhân là một tập hợp những vi rút khác nhau từ 3-5% về đặc điểm di truyền. Sự khác nhau này chủ yếu là do men sao chép ngược trong quá trình đọc mã, đã có những sai sót với tần xuất 5/10.000 - 6.7/10.000 cặp base bị đột biến mỗi chu kỳ (khoảng 5-6 đột biến trong một chu kỳ nhân lên) và tốc độ nhân lên của vi rút rất cao (10^9 - 10^{10} vi rút/ngày). Các đột biến này giúp cho vi rút có khả năng thoát khỏi hệ thống miễn dịch [1].

1.3.3. Chu kỳ tăng trưởng

Sự nhân lên của HIV-1 được diễn ra trong các tế bào đích chủ yếu là các tế bào lympho T-CD4 và một số tế bào khác có thụ thể CD4.

- Vi rút gắn và xâm nhập vào tế bào đích:

Phân tử gp120 của vi rút gắn lên thụ thể CD4 (có trên bề mặt tế bào lympho T-CD4 và một số tế bào khác) và các đồng thụ thể (CCR5 hoặc CXCR4) của tế bào đích, nhờ đó dẫn đến sự thay đổi cấu hình không gian và làm bộc lộ vị trí tác động của phân tử gp41 tham gia trong quá trình hòa màng giữa vi rút và tế bào đích. Nucleocapside của vi rút sẽ được phóng thích vào trong tế bào chất.

Quá trình sao chép RNA thành DNA tiền vi rút.

Sau khi có sự cởi bỏ vỏ capsid, nhờ có enzyme phiên mã ngược RT, RNA của vi rút được sao chép thành DNA bổ sung sợi đơn và sau đó thành sợi đôi.

DNA sợi đôi của vi rút có thể đi qua màng nhân nhờ enzyme integrase, xen vào trong bộ gen của tế bào đích và được gọi là DNA tiền vi rút. Ở giai đoạn này vi rút có thể tồn tại lâu dài trong tế bào đích trong trạng thái “ngủ” và tránh được sự tác động của hệ thống miễn dịch và của các loại thuốc kháng vi rút.

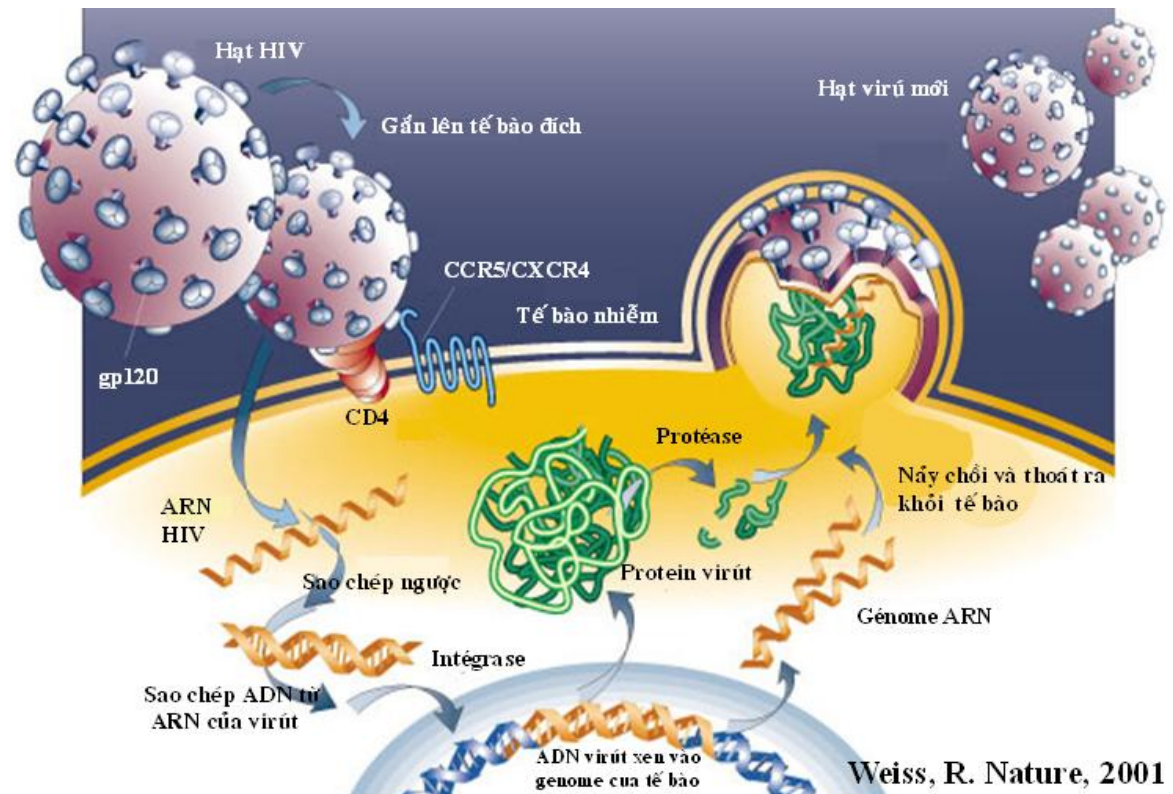
- Quá trình sao chép và tổng hợp virion mới:

Khi tế bào đích được hoạt hóa, DNA tiền vi rút cũng bắt đầu quá trình sao chép và nhân lên. DNA tiền vi rút, nhờ các enzyme của tế bào, sao chép thành các phân tử mRNA và RNA là chất liệu di truyền của vi rút. Các mRNA di chuyển ra tế bào chất và tổng hợp protein sớm là những thành phần enzyme cần thiết cho các giai đoạn nhân lên tiếp theo của vi rút. Các tiền protein được tổng hợp. Nhờ những

enzyme của vi rút và tế bào, các tiền protein này sẽ được phân cắt thành protein cấu trúc và chức năng.

- Quá trình đóng gói và giải phóng vi rút ra khỏi tế bào:

Các thành phần protein và RNA bộ gen của vi rút mới được tổng hợp sẽ hợp nhất và đi đến màng tế bào. Tại đây xảy ra quá trình nảy chồi và giải phóng những hạt virion mới.



Hình 5: Chu kỳ nhân lên của Vi rút

1.3.4. Sức đề kháng

HIV đề kháng với nhiệt độ lạnh, tia gamma, tia cực tím. Sống được 3 ngày trong máu bệnh nhân nếu để ở ngoài trời.

HIV dễ bị tiêu diệt bởi cồn 70⁰, nước javel. Vi rút bị bất hoạt ở pH=1 hay pH=13. Đun nóng 56⁰C/30 phút hay trong môi trường ẩm ướt vi rút cũng dễ bị tiêu diệt.

1.3.5. Sinh bệnh học

Giai đoạn 1: HIV xâm nhập vào cơ thể.

Vi rút xâm nhập cơ thể qua các con đường: quan hệ tình dục không an toàn, máu, từ mẹ truyền sang con.

Giai đoạn 2: Tấn công tế bào đích.

Các tế bào đích là tế bào có thụ thể CD4: Gồm tế bào lympho T hỗ trợ đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch, tế bào trình diện kháng nguyên, các đại thực bào, bạch cầu đơn nhân, tế bào răng cưa, tế bào langerhan, tế bào thần kinh đệm.

Giai đoạn 3: Sinh sản trong tế bào và gây các hậu quả.

Khi đã xâm nhiễm vào tế bào , vi rút sử dụng nguồn năng lượng của tế bào gồm các enzymes để tăng trưởng và nhân lên , hậu quả cuối cùng làm tế bào bị hủy hoại và chết. Các hiện tượng tạo nên sự phá hủy tế bào lympho T-CD4 bao gồm:

- Hiện tượng hợp bào: khi lympho T-CD4 nhiễm HIV, trên bề mặt có các gp120 của vi rút. Các gp120 này sẽ gắn với các phân tử CD4 của các tế bào khỏe mạnh bên cạnh tạo thành các hợp bào. Hợp bào bị thay đổi tính chất và tính thấm, nó không còn chức năng của một tế bào bình thường, sau đó sẽ bị vỡ.

- Hiện tượng ADCC (Antibody dependent cellular cytotoxicity): Kháng nguyên của vi rút có trên bề mặt tế bào lympho T-CD4 bị nhiễm sẽ gắn với phần Fab của kháng thể đặc hiệu kháng gp120. Phần Fc của kháng thể này sẽ gắn lên thụ thể của có trên bề mặt tế bào diệt làm cho lympho T-CD4 có gp120 bị tiêu diệt.

- Hiện tượng hoạt hóa bổ thể: Một số gp120 tự do trong máu do được phóng thích từ những lympho bào T-CD4 bị nhiễm vi rút sẽ gắn vào các lympho bào T CD4 khác. Kháng thể kháng gp120 sẽ đến gắn vào gp120 tạo thành phức hợp kháng nguyên - kháng thể, khi đó hệ bổ thể được hoạt hóa và cuối cùng lympho T-CD4 bị nhiễm này sẽ bị ly giải.

- Hiện tượng siêu kháng nguyên (superantigen): HIV hoạt động như là một “siêu kháng nguyên”. Chính vì vậy, nó sẽ hoạt hóa không chuyên biệt nhiều tế bào lympho T hỗ trợ và dẫn đến sự chết của chúng.

- Tế bào chết phóng thích nhiều chất hòa tan có khả năng gây độc cho những tế bào khác.

- Tế bào tủy xương là tiền thân của lympho T-CD4 cũng bị nhiễm, hậu quả là sự sản sinh lympho T-CD4 cũng bị giảm.

1.4. Miễn dịch học

Bản chất các tế bào lympho có thụ thể CD4 là các tế bào T hỗ trợ (helper T cell, T_h). T_h được coi là trung tâm điều hành hệ thống miễn dịch. Nhiễm HIV làm cho T_h bị tiêu diệt làm suy giảm không những về số lượng và cả chất lượng của các tế bào. Sự hoạt động của các tế bào miễn dịch khác cũng bị ảnh hưởng, hệ thống

miễn dịch dần dần bị suy giảm mất khả năng kiểm soát và bảo vệ cơ thể và hậu quả là nhiễm trùng cơ hội và bệnh ung thư phát triển.

Người bị nhiễm HIV, có kháng thể kháng lại vi rút, nhưng diễn tiến bệnh vẫn phát triển là do kháng thể kháng vi rút này trung hòa rất kém với chủng vi rút có tính đa biến di truyền cao. Đây là hiện tượng đáp ứng miễn dịch không đầy đủ.

Bên cạnh đó, có sự hoạt động bất thường của dòng tế bào lympho B: Sự hoạt hóa đa dòng (polyclonal) của lympho B đưa đến sự tăng cao các globuline miễn dịch, làm xuất hiện các bệnh lý tự miễn như giảm tiểu cầu (thrombopenie). Ngoài ra, còn xuất hiện sự rối loạn tổng hợp Cytokines làm giảm IL -2, tăng IL-1, IL-6, TNF- α ảnh hưởng đến sự điều hòa hoạt động miễn dịch.

2. Các giai đoạn lâm sàng nhiễm HIV

Dựa vào các triệu chứng lâm sàng và đặc điểm của từng giai đoạn, nhiễm HIV được chia làm ba giai đoạn:

- Giai đoạn nhiễm tiên phát hay cấp tính
- Giai đoạn không triệu chứng hay giai đoạn lâm sàng tiềm ẩn
- Giai đoạn AIDS

2.1. Giai đoạn nhiễm cấp

Thời gian ủ bệnh của nhiễm HIV được tính từ lúc vi rút xâm nhập vào cơ thể và kéo dài từ 1-12 tuần đến khi vi rút được phát hiện. Trong một số trường hợp giai đoạn ủ bệnh có thể kéo dài đến 6 tháng. Nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến thời gian ủ bệnh như chủng vi rút, số lượng vi rút lúc xâm nhập vào cơ thể, đường lây truyền hay các yếu tố di truyền cơ địa của người nhiễm.

Tại một số nước châu Mỹ và châu Âu, khoảng 50-70% người nhiễm có các biểu hiện như: Sốt, mệt mỏi, viêm họng, viêm hạch ngoại biên, mononucleosis ... Tại các nước châu Á và châu Phi, đa số người nhiễm không có triệu chứng hoặc chỉ có những triệu chứng rất nhẹ như các dấu hiệu giả cúm, đôi khi có tiêu chảy, sụt cân [1].

Ở giai đoạn này, kháng thể kháng HIV chưa phát hiện được nhưng vi rút nhân lên với tốc độ rất nhanh, nồng độ vi rút trong huyết tương rất cao và người nhiễm là nguồn lây truyền nghiêm trọng.

2.2. Giai đoạn không triệu chứng (giai đoạn lâm sàng tiềm ẩn)

Trong thời gian này mặc dù chưa có những biểu hiện triệu chứng lâm sàng nhưng vi rút vẫn tiếp tục nhân lên, số lượng tế bào lympho T-CD4 giảm dần khoảng

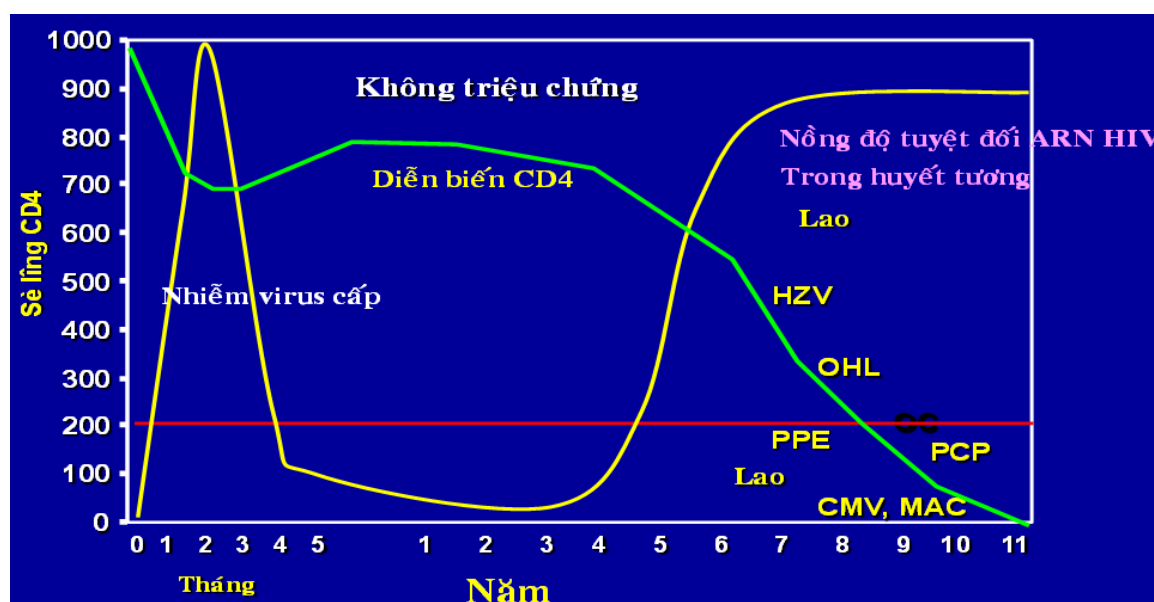
30-70 tế bào/năm. Thời gian kéo dài của giai đoạn không triệu chứng tùy thuộc từng người. Nhìn chung ở những người không điều trị với ARV giai đoạn không triệu chứng thường kéo dài từ 8-10 năm.

2.3. Giai đoạn suy giảm miễn dịch

Bệnh tiến triển thành nhiều giai đoạn. Bệnh nhân có thể phục hồi sau đó lại lâm vào tình trạng nặng dần.

Giai đoạn có triệu chứng, T-CD4 giảm $<200/\text{mm}^3$

Bệnh nhân xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng tiền AIDS : Hạch to toàn thân kéo dài, sang thương vùng miệng: đẹn, loạn sản dạng tóc, zona, giảm tiểu cầu... Biểu hiện lâm sàng của AIDS: là các biểu hiện nhiễm trùng cơ hội, ung thư, hay một số biến hiện khác về thần kinh, sụt cân, suy kiệt...



Hình 6: Diễn biến tự nhiên của nhiễm HIV

Theo dõi số lượng tế bào T-CD4 là một tiêu chuẩn để đánh giá sự tiến triển của nhiễm HIV. Khi số lượng T-CD4 còn < 200 tế bào/ mm^3 người nhiễm vi rút được đánh giá về mặt sinh học là chuyển sang giai đoạn AIDS. Các bệnh nhiễm trùng cơ hội xuất hiện cùng với sự suy giảm ngày càng nặng nề của hệ thống miễn dịch.

Một trong những tiêu chuẩn chỉ định điều trị là số lượng tế bào T-CD4. Ở Việt Nam hiện nay, điều trị ARV được chỉ định khi T-CD4 < 350 tế bào/ mm^3 . Theo khuyến cáo mới đây của Tổ chức Y tế thế giới, bệnh nhân có thể điều trị khi T-CD4

< 500 tế bào/mm³. Tại các nước đang phát triển thì việc điều trị ARV được chỉ định càng sớm càng tốt khi hệ miễn dịch chưa bị suy giảm.

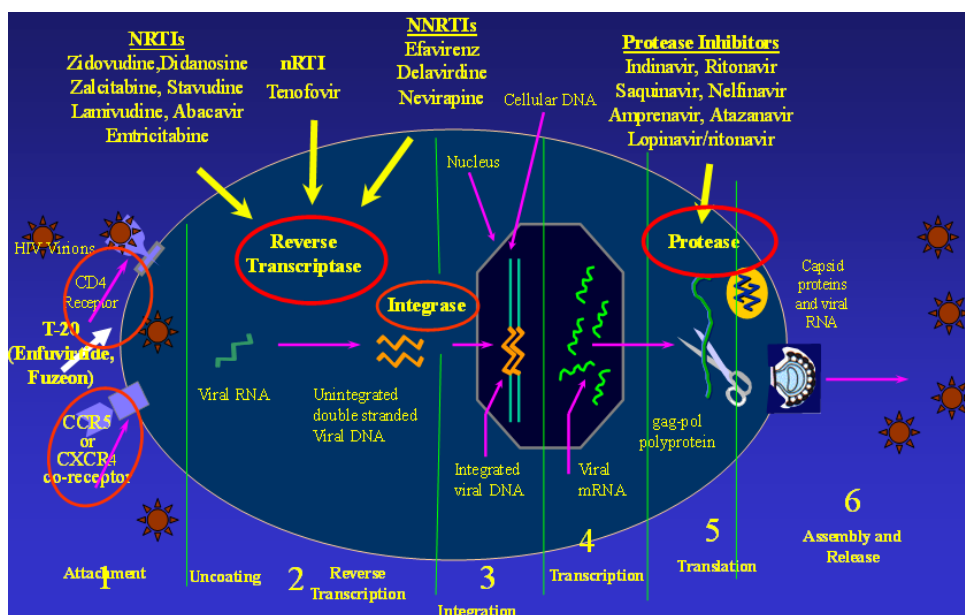
3. Điều trị ARV

Cho đến nay vẫn chưa có thuốc đặc hiệu chữa khỏi căn bệnh HIV/AIDS. Các loại thuốc kháng vi rút (ARV) chủ yếu ức chế sự nhân lên của vi rút với mục đích:

- Làm giảm tối đa và ngăn chặn lâu dài sự nhân lên của vi rút.
- Phục hồi chức năng miễn dịch.
- Giảm tần suất mắc và tử vong do các bệnh liên quan HIV.
- Cải thiện sức khỏe và kéo dài thời gian sống.
- Giảm sự lây truyền trong cộng đồng.

3.1. Tác động của thuốc ARV tới chu kỳ nhân lên của vi rút

- Ức chế quá trình vi rút gắn lên tế bào đích bằng các phân tử có khả năng phong tỏa các đồng thụ thể CCR5 hoặc CXCR4.
- Ức chế quá trình hòa màng của vi rút, tác động lên phân tử gp41: T20
- Ức chế quá trình phiên mã ngược của vi rút, ngăn cản sự tổng hợp DNA vi rút. Tác động lên hoạt tính của enzyme phiên mã ngược RT: thuốc ức chế RT.
- Ức chế quá trình xâm nhập của DNA tiền vi rút vào trong nhân tế bào: tác động lên enzyme integrase của vi rút.
- Ức chế quá trình cắt các protein tiền vi rút thành các protein cấu trúc và chức năng: thuốc ức chế protease.



Hình 7: Sự nhân lên của Vi rút và vị trí tác động của thuốc

3.2. Các thuốc kháng retrovirus

Các loại thuốc kháng retro vi rút (ARV) hiện đang lưu hành có thể chia thành 5 nhóm chính dựa vào cơ chế tác động của chúng, cụ thể được liệt kê trong bảng dưới:

Nhóm thuốc	Thuốc		Cơ chế tác động
Thuốc ức chế men sao chép ngược Nucleoside (Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors - NRTI)	Lamivudin Stavudin Zidovudin Emtricitabin Didanosin Abacavir Tenofovir	3TC d4T AZT FTC ddI ABC TFV	Cạnh tranh với các nucleotit tự nhiên gắn xen vào mạch DNA đang tổng hợp, ức chế men RT kéo dài chuỗi.
Thuốc ức chế men sao chép ngược Non-nucleoside (Non - Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors - NNRTI)	Nevirapin Efavirenz Delavirdin	NVP EFV DLV	Gắn trực tiếp vào men RT và ức chế hoạt động của men.
Thuốc ức chế men protease (Protease inhibitor - PI)	Ritonavir Saquinavir Amprenavir Indinavir Nelfinavir Atazanavir Fosamprenavir	RTV SQV APV IDV NFV ATV APV	Ức chế men protease tham gia trong quá trình trưởng thành của virut.
Thuốc ức chế men integrase giúp sát nhập vi rút vào bộ gen tế bào đích	Raltegravir Elvitegravir	MK-0518 GS-9137	Ức chế sát nhập DNA vi rút vào DNA bộ gen của tế bào chủ.

Nhóm thuốc	Thuốc		Cơ chế tác động
Thuốc ức chế hòa màng Thuốc tác động lên các đồng thụ thể của vi rút	Enfuvirtide	T-20	Ngăn sự hòa màng của vi rút vào tế bào chủ Phong tỏa các đồng thụ thể của vi rút

Phác đồ điều trị ARV phải phối hợp 3 loại thuốc. Người bệnh cần có sự tuân thủ điều trị cao để có được hiệu quả tốt cho bản thân, ngăn ngừa sự xuất hiện và lan truyền các chủng HIV kháng thuốc kháng thuốc trong cộng đồng.

Ngày nay việc xét nghiệm sớm và kết nối chuyển gửi người nhiễm HIV vào điều trị sớm có ý nghĩa quan trọng trong dự phòng lây nhiễm HIV.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

Câu 1: Phân biệt HIV và AIDS ? Nêu rõ tên nhóm, họ của HIV? Có mấy chủng HIV? Ý nghĩa thực tiễn của chủng HIV và thứ tự HIV trong lựa chọn sinh phẩm xét nghiệm huyết thanh học HIV?

Câu 2: Hãy nêu một số đặc điểm về sức đề kháng của HIV?

Câu 3: Hãy cho biết các đường lây nhiễm chính HIV?

Câu 4: Trình bày các giai đoạn sinh bệnh học nhiễm HIV?

Câu 5: HIV sinh sản trong tế bào và gây nên các hiện tượng phá hủy tế bào lympho T-CD4 gì?

Câu 6: Nêu tóm tắt chu kỳ nhân lên của HIV trong cơ thể?

Câu 7: Giai đoạn lâm sàng nhiễm HIV gồm mấy giai đoạn? Đó là những giai đoạn nào?

Câu 8: Điều trị thuốc kháng vi rút ARV nhằm những mục đích chính là gì?

BÀI 2. CÁC NGUYÊN LÝ KỸ THUẬT VÀ PHƯƠNG CÁCH XÉT NGHIỆM HIV

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có thể trình bày được:

1. Một số nguyên lý và kỹ thuật xét nghiệm HIV.
2. Chiến lược xét nghiệm HIV.
3. Phương cách xét nghiệm chẩn đoán HIV.

THỜI GIAN HỌC TẬP: 180 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức cơ bản về các nguyên lý, phương cách xét nghiệm. Trước tiên, bài trình bày các phương pháp xét nghiệm gián tiếp, trực tiếp. Tiếp theo bài viết đề cập đến các chiến lược xét nghiệm, phương cách xét nghiệm HIV và cuối cùng là sinh phẩm sử dụng trong xét nghiệm HIV.

GIỚI THIỆU:

Dựa trên sự biến đổi của các thông số sinh học trong quá trình nhiễm vi rút và sự nhân lên của HIV trong cơ thể con người, các kỹ thuật xét nghiệm có thể phát hiện kháng thể kháng HIV, kháng nguyên vi rút hoặc các chất liệu di truyền của HIV như RNA hoặc DNA.

Trong chẩn đoán nhiễm HIV chúng ta cần chú ý đến giai đoạn cửa sổ huyết thanh học là giai đoạn cơ thể người đã bị nhiễm HIV nhưng chưa sinh ra kháng thể hoặc đã sinh ra kháng thể nhưng nồng độ thấp chưa thể phát hiện được bằng các xét nghiệm thông thường nhưng vẫn có khả năng lây nhiễm HIV cho người khác. Giai đoạn này người bệnh đã nhiễm vi rút, có thể lây truyền cho những người khác nhưng vẫn có kết quả xét nghiệm phát hiện kháng thể âm tính.

Giai đoạn cửa sổ này ngắn hay dài phụ thuộc một số yếu tố như đáp ứng miễn dịch của từng cá thể, loại sinh phẩm sử dụng, lượng vi rút và kiểu gen HIV, loại mẫu là huyết tương, huyết thanh, máu toàn phần hay dịch cơ thể như nước bọt nước tiểu... Trong các yếu tố trên, đáp ứng miễn dịch của từng cá thể và lựa chọn sinh phẩm xét nghiệm là các yếu tố cần được quan tâm. Đáp ứng miễn dịch của các cá thể sinh ra kháng thể kháng HIV có thể khác nhau, thông thường kháng thể kháng HIV được phát hiện từ 4 - 6 tuần sau khi nhiễm, có trường hợp sẽ xuất hiện muộn hơn. Nhìn chung, giai đoạn cửa sổ huyết thanh học thường kéo dài khoảng 3

tháng. Việc lựa chọn sinh phẩm tốt sẽ góp phần rút ngắn giai đoạn cửa sổ. Ngày nay với sự phát triển của công nghệ, các sinh phẩm thế hệ mới như thế hệ 3 và đặc biệt thế hệ 4 (xét nghiệm phát hiện cả kháng nguyên p24 và kháng thể) có độ nhạy huyết thanh chuyển đổi tốt hơn các thế hệ sinh phẩm trước đây vì vậy giai đoạn cửa sổ được rút ngắn. Độ nhạy này được đánh giá thông qua các bộ mẫu huyết thanh chuyển đổi. Tuy nhiên, ngay cả trong cùng một thế hệ sinh phẩm, khả năng phát hiện sớm kháng thể HIV ở các sinh phẩm cũng khác nhau vì vậy cần chú ý khi lựa chọn sinh phẩm, đặc biệt là sinh phẩm sàng lọc.

Trong chẩn đoán HIV, xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng HIV là phương pháp phổ biến và tiêu chuẩn để xác định tình trạng nhiễm HIV ở những người trên 18 tháng tuổi trên thế giới và ở Việt Nam. Các xét nghiệm vi rút học tìm kháng nguyên vi rút, các chất liệu di truyền RNA/DNA của vi rút có thể phát hiện tình trạng nhiễm HIV trong giai đoạn cửa sổ huyết thanh học.

Phần sau đây sẽ trình bày về các nguyên lý kỹ thuật chính cho phương pháp xét nghiệm HIV:

1. Phương pháp xét nghiệm gián tiếp

Phương pháp xét nghiệm gián tiếp HIV là phương pháp phát hiện sự hiện diện của kháng thể kháng HIV trong máu hoặc dịch tiết của cơ thể người để xác định tình trạng nhiễm HIV.

Tùy thuộc vào mục đích xét nghiệm, nhóm quần thể, năng lực kỹ thuật và điều kiện kinh tế, mà các xét nghiệm HIV được lựa chọn khác nhau. Các nguyên lý kỹ thuật chính cho phương pháp xét nghiệm gián tiếp HIV như sau:

1.1 Kỹ thuật xét nghiệm ngưng kết hạt vi lượng (Microtiter particle agglutination)

Kỹ thuật ngưng kết hạt vi lượng được coi là đơn giản

Những hạt hữu hình (gelatin, latex, hồng cầu) được gắn với các thành phần kháng nguyên của vi rút HIV-1/HIV-2 sẽ cho phản ứng ngưng kết khi có sự hiện diện của kháng thể đặc hiệu với HIV nếu có trong mẫu thử.

Thành phần của sinh phẩm là những hạt gelatin đã được gắn kháng nguyên tái tổ hợp HIV1 (gp41, p24) và HIV 2 (gp 36).

Kỹ thuật ngưng kết hạt có những ưu điểm sau:

- Các bước tương đối đơn giản, không đòi hỏi nhiều trang thiết bị, thích hợp cho việc xét nghiệm sàng lọc hàng loạt mẫu máu.

- Kỹ thuật này không mất nhiều thời gian như ELISA và kết quả có thể đọc được bằng mắt thường sau 2 giờ.

- Độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật này cao. Tỷ lệ dương tính giả thấp.

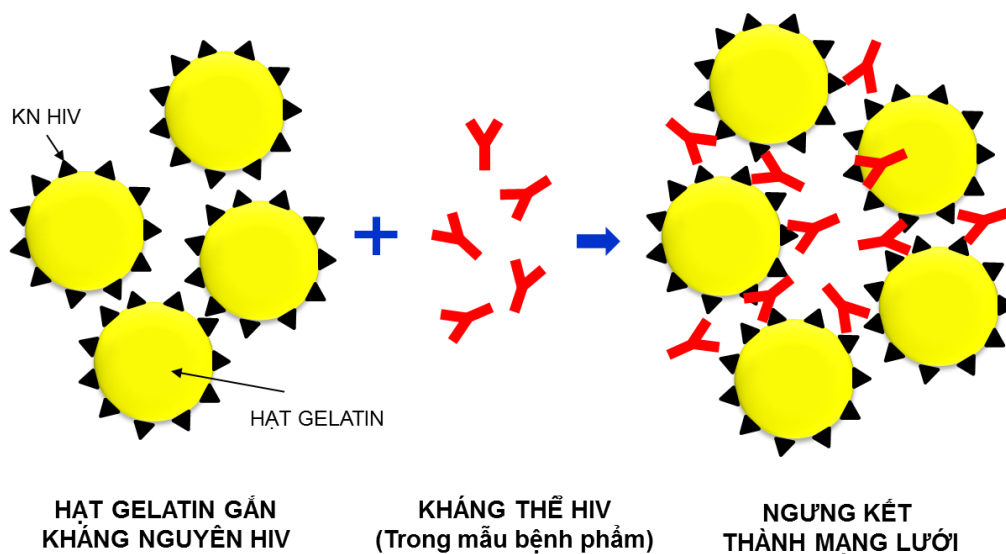
Nhược điểm:

- Thao tác phức tạp hơn các sinh phẩm nhanh
- Thời gian đọc kết quả lâu hơn sinh phẩm nhanh
- Đòi hỏi cán bộ có kinh nghiệm và thao tác thành thạo
- Hạn sử dụng một số hóa chất sau khi mở là 14 ngày.

Thao tác kỹ thuật ngưng kết hạt gồm 4 bước chính:

- Pha loãng huyết thanh bậc hai vào các giếng của phiến nhựa vi lượng
- Cho thêm các hạt gelatin có gắn và không gắn kháng nguyên HIV , lắc trộn nhẹ nhàng

- Để yên tĩnh trong 2 giờ
- Đọc kết quả bằng mắt thường.



Hình 8: Nguyên lý kỹ thuật ngưng kết hạt

1.2. Kỹ thuật xét nghiệm nhanh

Kỹ thuật xét nghiệm nhanh được chia thành một số loại nguyên lý sau:

- Miễn dịch chấm - thấm.
- Miễn dịch lọc.
- Miễn dịch sắc ký, đây là nguyên lý kỹ thuật phổ biến trong các sinh phẩm nhanh HIV trên thị trường Việt Nam.

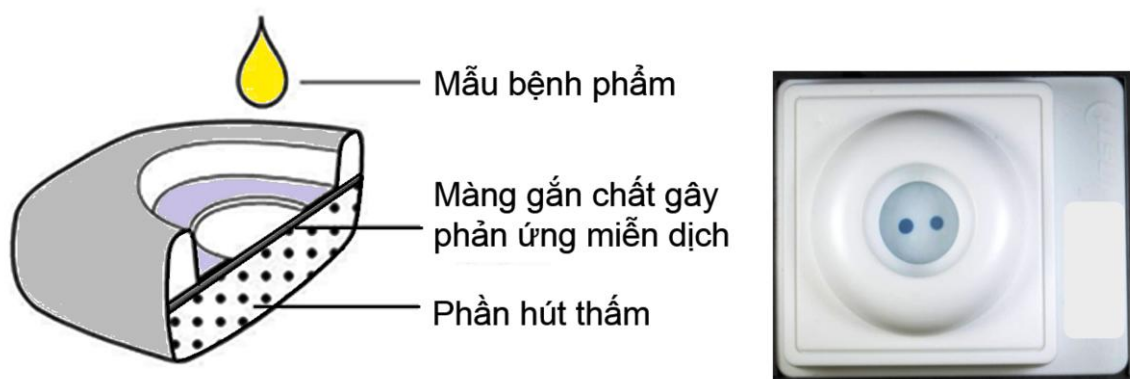
Đặc điểm chung của các xét nghiệm nhanh là đơn giản, thời gian xét nghiệm trong vòng 30 phút.

Theo Tổ chức Y tế thế giới, các sinh phẩm chẩn đoán nhanh thường được dùng ở những phòng xét nghiệm có số lượng mẫu < 40 mẫu/ngày, những nơi có điều kiện hạn chế về trang thiết bị, vùng sâu vùng xa. Việc sử dụng sinh phẩm nhanh cho phép triển khai xét nghiệm HIV mở rộng và trả kết quả sớm trong ngày, tăng tỷ lệ nhận kết quả xét nghiệm và tăng kết nối điều trị.

Với sự phát triển của khoa học công nghệ, ngày nay các kỹ thuật xét nghiệm nhanh có độ nhạy và độ đặc hiệu cao tương đương với kỹ thuật ELISA. Một số sinh phẩm nhanh còn cho phép phân biệt được nhiễm HIV-1 và HIV-2.

1.2.1. Các xét nghiệm miễn dịch chấm - thấm, miễn dịch lọc.

- Là kỹ thuật dựa trên nguyên tắc miễn dịch đánh dấu trên màng lọc.
- Màng phản ứng chứa những hạt vi lượng bao phủ kháng nguyên HIV-1 và HIV-2, đồng thời có một vùng chứng để kiểm tra phản ứng.
- Kháng thể kháng HIV có trong huyết thanh hoặc huyết tương người được làm xét nghiệm sẽ gắn với kháng nguyên trên màng lọc. Sau đó, phức hợp kháng nguyên-kháng thể này được phát hiện bởi cộng hợp có gắn men cho phản ứng hiện màu với cơ chất.



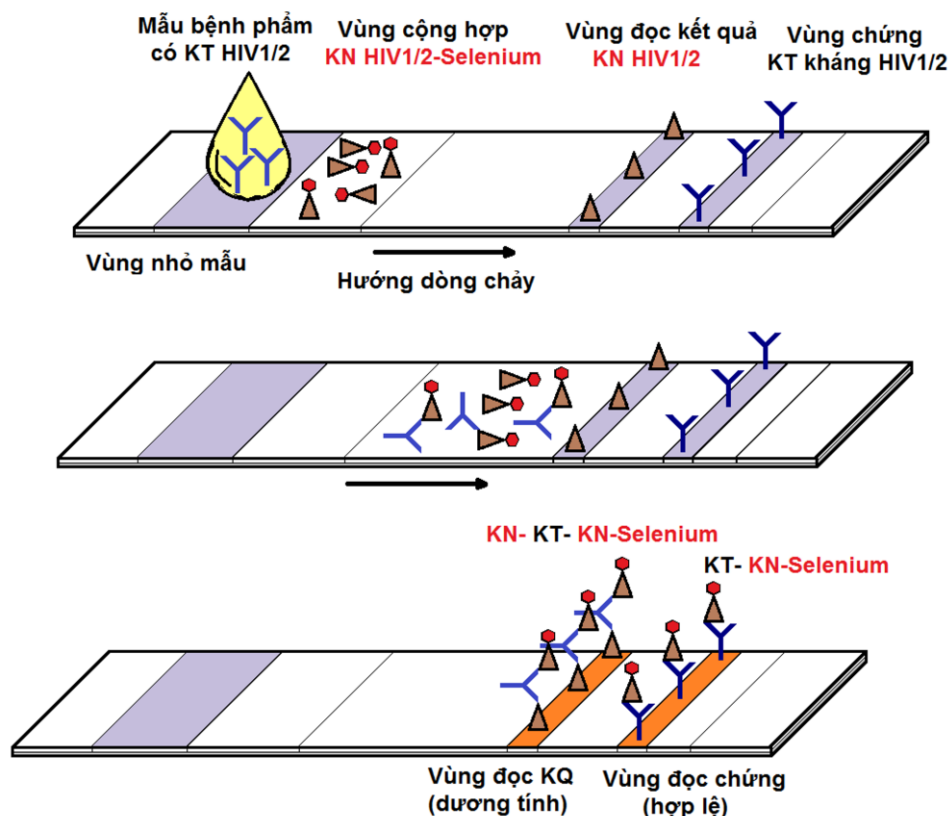
Hình 9: Kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch đánh dấu trên màng lọc

1.2.2. Các xét nghiệm miễn dịch sắc ký.

- Mẫu bệnh phẩm được nhỏ lên vùng nhỏ mẫu thử. Huyết thanh/huyết tương sẽ thấm qua vùng có chứa cộng hợp là kháng nguyên vi rút đã gắn với một chất đánh dấu màu và tiếp tục dịch chuyển qua vùng phản ứng đã cố định kháng nguyên. Nếu mẫu thử có kháng thể đặc hiệu với HIV sẽ cho phản ứng dương tính là một

vạch màu ở vị trí này. Cộng hợp kháng nguyên vi rút gắn đánh dấu màu tiếp tục dịch chuyển lên vùng chứng phía trên là vị trí đã cố định sẵn kháng thể đơn dòng đặc hiệu với HIV và cho một vạch phản ứng màu (vạch chứng của phản ứng).

- Xét nghiệm dương tính khi có hai vạch màu ở vùng phản ứng và vùng kiểm chứng.
- Xét nghiệm âm tính khi chỉ có vạch màu ở vùng kiểm chứng.
- Xét nghiệm không có giá trị nếu không có vạch màu ở vùng chứng, khi đó phải thực hiện lại xét nghiệm mẫu đó trên thanh sinh phẩm mới.



Hình 10: Nguyên lý kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch sắc ký

Ngày nay một số sinh phẩm nhanh cho phép phát hiện đồng thời cả kháng nguyên p24 và kháng thể kháng HIV trong mẫu bệnh phẩm.

Ưu điểm và nhược điểm của các kỹ thuật xét nghiệm nhanh

- Ưu điểm:

- + Thuận lợi khi số lượng mẫu ít.
- + Dễ thực hiện, cho kết quả nhanh, có thể đọc kết quả bằng mắt thường.
- + Không đòi hỏi các trang thiết bị.

- + Dễ bảo quản sinh phẩm.
- + Cán bộ xét nghiệm có thể được đào tạo nhanh.
- + Với các sinh phẩm sử dụng được cả máu toàn phần thích hợp cho việc áp dụng chích máu đầu ngón tay để xét nghiệm chẩn đoán HIV ở những nơi điều kiện đi lại khó khăn.

- Nhược điểm:

- + Không thuận lợi khi số mẫu xét nghiệm nhiều.
- + Không lưu được dữ liệu kết quả.
- + Kết quả đọc phụ thuộc chủ quan vào người đọc.

Mặc dù xét nghiệm nhanh đơn giản nhưng cũng có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả XN HIV:

- Lượng bệnh phẩm nhỏ vào phải đủ thể tích yêu cầu : khi cho không đủ mẫu có thể cho kết quả âm tính giả (đặc biệt với trường hợp mới nhiễm hoặc đáp ứng miễn dịch không đầy đủ có nồng độ kháng thể thấp).

- Đảm bảo đúng thời gian đọc kết quả xét nghiệm : đây là yếu tố quan trọng nhất đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác.

+ Đọc kết quả sớm hơn thời gian quy định có thể cho kết quả âm tính giả.

+ Đọc kết quả muộn hơn thời gian quy định có thể cho kết quả dương tính giả.

- Sinh phẩm phải được bảo quản đúng quy định về độ ẩm và nhiệt độ : nhìn chung một số sinh phẩm nhanh yêu cầu nhiệt độ bảo quản từ 2-30°C tuy nhiên nếu nhiệt độ bảo quản không đúng (trên 30°C vào mùa hè), hoặc độ ẩm cao sẽ ảnh hưởng nhiều đến chất lượng sinh phẩm và kết quả xét nghiệm.

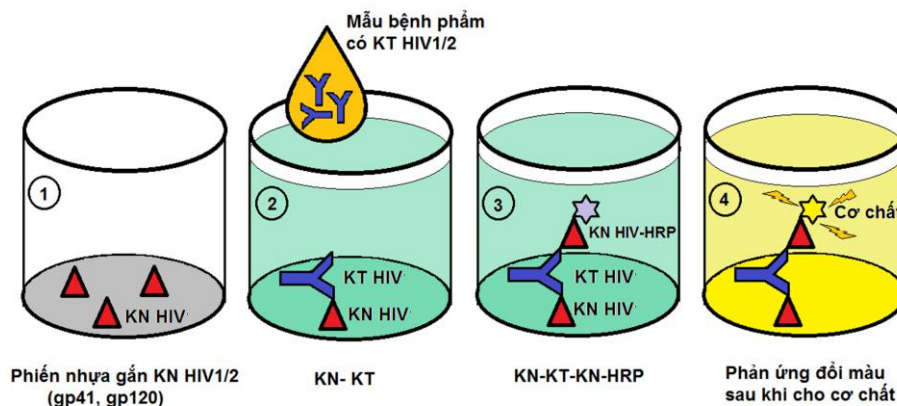
1.3. Các kỹ thuật miễn dịch gắn men ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Có ba nguyên lý sau:

1.3.1. Kỹ thuật ELISA Sandwich

- Kháng thể kháng HIV có trong mẫu thử sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên vi rút đã được cố định trên phiến nhựa vi lượng. Phức hợp kháng nguyên - kháng thể sẽ được phát hiện bởi cộng hợp là các kháng nguyên vi rút gắn men khi cho phản ứng hiện màu với cơ chất thích hợp.

- Giá trị mật độ quang (OD: optical density) của phản ứng màu tỷ lệ thuận với lượng kháng thể kháng HIV hiện diện trong mẫu thử.



Hình 11: Nguyên lý kỹ thuật ELISA Sandwich

1.3.2. Kỹ thuật ELISA gián tiếp

Kháng thể kháng HIV có trong mẫu thử sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên HIV đã được cố định sẵn trên giá đỡ. Phức hợp kháng nguyên - kháng thể này được phát hiện bởi một cộng hợp là một kháng thể kháng immunoglobuline người (Ig) có gắn chất đánh dấu và sẽ cho phản ứng hiện màu/phát quang với một cơ chất thích hợp. Giá trị mật độ quang của phản ứng màu/phát quang tỷ lệ thuận với lượng kháng thể kháng HIV hiện diện trong mẫu thử.

1.3.3. Kỹ thuật ELISA cạnh tranh

- Kháng thể kháng HIV có trong mẫu thử sẽ cạnh tranh với cộng hợp là kháng thể kháng HIV có gắn với chất đánh dấu để kết hợp với các kháng nguyên của vi rút đã cố định trên giá đỡ.

- Giá trị mật độ quang tỷ lệ nghịch với lượng kháng thể kháng HIV trong mẫu thử.

Kỹ thuật phát hiện đồng thời kháng nguyên và kháng thể: Một số sinh phẩm dùng kỹ thuật phát hiện đồng thời kháng nguyên vi rút (p24) và kháng thể kháng HIV cho phép phát hiện sớm nhiễm HIV trong giai đoạn chuyển đổi huyết thanh. Kháng nguyên p24 hoặc các kháng thể kháng HIV hiện diện trong mẫu thử kết hợp đặc hiệu với kháng thể kháng p24 và các kháng nguyên vi rút được gắn trên giá đỡ. Phức hợp kháng nguyên - kháng thể sẽ được phát hiện bởi các cộng hợp gắn chất đánh dấu cho phản ứng hiện màu sau khi cho cơ chất.

Dựa trên cách chuẩn bị các kháng nguyên, các sinh phẩm được chia thành 4 thể hệ:

- Sinh phẩm thể hệ thứ nhất sử dụng kháng nguyên là vi rút toàn phần được ly giải và tinh chế từ các tế bào đã gây nhiễm với HIV. Các sinh phẩm này có độ nhạy và độ đặc hiệu hạn chế.

- Sinh phẩm thể hệ thứ hai dùng các kháng nguyên là protein tái tổ hợp. Sinh phẩm có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn.

- Sinh phẩm thể hệ ba sử dụng các kháng nguyên là các peptide tổng hợp và các protein tái tổ hợp. Độ nhạy và độ đặc hiệu được cải thiện rõ rệt.

- Sinh phẩm thể hệ thứ tư phát hiện đồng thời kháng nguyên P24 và kháng thể có trong mẫu thử. Sinh phẩm này cho phép phát hiện nhiễm HIV trong giai đoạn chuyển đổi huyết thanh và là sinh phẩm được khuyến cáo nên lựa chọn cho kiểm tra an toàn trong truyền máu.

Các sinh phẩm chẩn đoán ngày càng được hoàn thiện để có thể phát hiện sớm và chính xác nhiễm HIV, rút ngắn thời gian cửa sổ huyết thanh.

Ưu điểm và hạn chế của các kỹ thuật ELISA:

- Ưu điểm

+ Cho phép thực hiện đồng thời nhiều mẫu. Có thể dùng máy tự động giảm bớt thao tác cho người làm xét nghiệm, tránh sai sót và lây nhiễm.

+ Đọc kết quả bằng máy không phụ thuộc vào chủ quan của người làm xét nghiệm.

+ Có thể lưu các bảng kết quả và các thông số kỹ thuật thuận lợi cho việc kiểm tra đánh giá chất lượng xét nghiệm.

- Hạn chế

+ Cần có sự đầu tư cho trang thiết bị ban đầu và bảo dưỡng, hiệu chuẩn, hiệu chỉnh máy móc.

+ Cán bộ xét nghiệm phải được đào tạo tốt.

+ Các sinh phẩm phải bảo quản ở nhiệt độ lạnh (4-8°C).

+ Thời gian thực hiện xét nghiệm ELISA từ 2-3 giờ.

+ Chỉ thích hợp với những nơi có số lượng mẫu > 40 mẫu/ngày.

1.4. Kỹ thuật hóa phát quang và điện hóa phát quang

1.4.1. Kỹ thuật hóa phát quang: phát hiện đồng thời cả kháng nguyên và kháng thể

Kháng nguyên HIV-1/HIV-2 và kháng thể đơn dòng (chuột) HIV p24 phủ trên bề mặt vi hạt sẽ gắn đặc hiệu với kháng nguyên p24 của HIV và các kháng thể

kháng HIV-1/HIV-2 có trong mẫu thử và sẽ được phát hiện bằng sự phát sáng sau khi được kết hợp với cộng hợp là kháng nguyên HIV-1/HIV-2 [tái tổ hợp], peptid tổng hợp và kháng thể HIV p24 [đơn dòng chuột]) gắn chất phát quang (ví dụ acridinium của hãng Abbott) và kết hợp với chất kích hoạt. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng kháng nguyên HIV và các kháng thể trong mẫu với RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy miễn dịch tự động phát hiện. Sự hiện diện có hay không của kháng nguyên HIV p24 hay các kháng thể HIV-1/HIV-2 trong mẫu được xác định bằng cách so sánh tín hiệu hóa phát quang trong phản ứng với tín hiệu ngưỡng xác định trong hiệu chuẩn của hệ thống máy miễn dịch tự động. Mẫu với giá trị tín hiệu ngưỡng (S/CO) lớn hơn hoặc bằng 1,00 được xem là có phản ứng với kháng nguyên HIV p24 hay các kháng thể HIV-1/HIV-2. Mẫu có giá trị S/CO nhỏ hơn 1,00 được xem là không có phản ứng với kháng nguyên HIV p24 hay các kháng thể HIV-1/HIV-2.

Ưu điểm:

- Độ nhạy được tăng cao hơn so với các kỹ thuật trước đó như: xét nghiệm nhanh, miễn dịch men.

- Thời gian cho ra kết quả rút ngắn so với kỹ thuật ELISA.

Nhược điểm: Cần thiết bị đặc hiệu để thực hiện xét nghiệm.

1.4.2. Kỹ thuật điện hóa phát quang

Nguyên lý của kỹ thuật dựa trên nguyên lý sandwich dùng để phát hiện đồng thời kháng nguyên HIV p24 và/hoặc các kháng thể kháng HIV-1/HIV-2 có trong mẫu thử.

- Kháng nguyên HIV p24 có trong mẫu thử sẽ kết hợp với các kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên HIV p24 gắn biotin và các kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên HIV p24 gắn ruthenium (chất đánh dấu phát quang). Phức hợp miễn dịch dạng bánh kẹp được tạo ra sẽ bao gồm cả biotin và ruthenium.

- Các kháng thể kháng HIV-1/HIV-2 có mẫu thử sẽ kết hợp với các kháng nguyên tái tổ hợp, các peptid đặc hiệu HIV-1/HIV-2 gắn biotin và các kháng nguyên tái tổ hợp, các peptid đặc hiệu HIV-1/HIV-2 gắn ruthenium. Phức hợp miễn dịch tương ứng được tạo ra dưới dạng bánh kẹp.

- Các vi hạt có từ tính phủ streptavidin được thêm vào phản ứng sẽ kết nối với các phức hợp miễn dịch dạng bánh kẹp và tạo ra phức hợp mới thông qua mỗi

liên kết biotin-streptavidin. Phức hợp này được đưa vào buồng đo, nơi các vi hạt có từ tính sẽ được giữ lại trong bề mặt điện cực dưới tác động của từ trường. Sau đó các thành phần khác sẽ được rửa trôi. Phản ứng phát quang diễn ra dưới tác động của dòng điện làm ruthenium bị kích thích và phát ra các photon ánh sáng, các tín hiệu này sẽ được khuếch đại và đo bởi máy nhân quang. Kết quả được tính toán tự động bằng phần mềm của hệ thống máy miễn dịch tự động qua việc so sánh tín hiệu phát quang thu được từ sản phẩm của phản ứng với giá trị tín hiệu ngưỡng.

1.5. Kỹ thuật *WESTERN-BLOT*

Kỹ thuật Western-blot được chỉ định để xét nghiệm khẳng định các mẫu đã có kết quả dương tính với xét nghiệm sàng lọc.

Kỹ thuật Western Blot có độ đặc hiệu rất cao và chỉ dùng để làm xét nghiệm khẳng định mà không dùng làm xét nghiệm sàng lọc.

Kỹ thuật Western Blot có giá thành cao, người thực hiện xét nghiệm và đọc kết quả cần phải có trình độ và kinh nghiệm nhất định nên hiện nay Tổ chức Y tế thế giới (WHO) không khuyến cáo thực hiện thường quy ở những nước đang phát triển. WHO khuyến cáo dùng phối hợp ba xét nghiệm khác nhau về nguyên lý hoặc cách chuẩn bị kháng nguyên theo chiến lược III để chẩn đoán khẳng định trường hợp HIV dương tính.

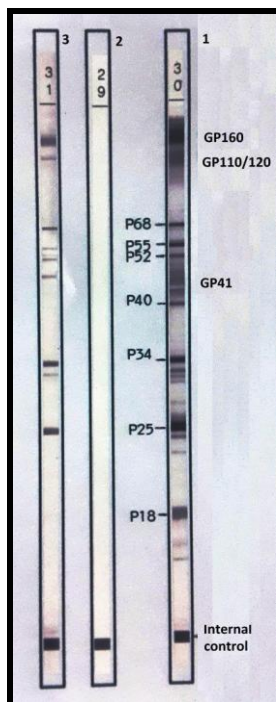
Trường hợp sử dụng các sinh phẩm để chẩn đoán nhiễm HIV theo chiến lược xét nghiệm III cho kết quả không xác định hoặc khó biện luận, khi đó Western-blot được cân nhắc sử dụng để xét nghiệm.

- Nguyên lý: là một kỹ thuật theo nguyên lý ELISA gián tiếp thực hiện trên băng giấy đã cố định các thành phần kháng nguyên của vi rút ở những vị trí tương ứng theo trọng lượng phân tử. Kỹ thuật Western-blot cho phép xác định kháng thể kháng từng thành phần khác nhau của protein vi rút. Có Western-blot riêng cho HIV-1 và HIV-2.

- Kỹ thuật: Ủ huyết thanh của mẫu thử với băng giấy. Nếu trong mẫu thử có các kháng thể kháng HIV thì chúng sẽ gắn đặc hiệu lên các protein là kháng nguyên tương ứng và được phát hiện bằng cộng hợp là kháng thể kháng Immunoglobuline người đánh dấu bằng enzyme cho phản ứng màu với cơ chất.

- Kết quả: Vị trí các băng màu tương ứng với kháng thể đặc hiệu với thành phần protein vi rút tương ứng.

- Có nhiều tiêu chuẩn để đọc kết quả Western Blot. Theo WHO xét nghiệm Western Blot HIV-1 dương tính khi xuất hiện ít nhất 02 trong 03 dải băng protein vỏ Env (gp160, gp120, gp41) có thể có hoặc không có các dải băng Gag hoặc Pol. Trường hợp âm tính khi không có bất cứ dải băng nào. Ngoài tiêu chuẩn dương tính và âm tính là trường hợp kết quả không xác định.



Hình 12: HIV-1 Western blot
(1 chứng dương; 2 chứng âm; 3 mẫu bệnh nhân dương tính)

2. Phương pháp xét nghiệm trực tiếp

2.1. Khái niệm

Phương pháp xét nghiệm trực tiếp tìm HIV (còn gọi chung là xét nghiệm vi rút học) như phát hiện kháng nguyên vi rút, các axit nucleic hoặc phân lập vi rút.

Phương pháp xét nghiệm trực tiếp được dùng để phát hiện nhiễm HIV ở trẻ dưới 18 tháng tuổi. Đối với trẻ em sinh ra từ mẹ nhiễm HIV, kháng thể kháng HIV của mẹ có thể tồn lưu trong máu trẻ cho đến trước 18 tháng tuổi do đó xét nghiệm phát hiện kháng thể dương tính ở trẻ chưa thể kết luận trẻ bị nhiễm HIV mà cần thực hiện các xét nghiệm vi rút học. Xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV cho trẻ sinh từ mẹ có huyết thanh dương tính nên được tiến hành từ 4 - 6 tuần sau khi sinh hoặc sau đó càng sớm càng tốt với các kỹ thuật phát hiện DNA/RNA pro vi rút hoặc kháng nguyên p24 của HIV. Kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction) phát hiện

HIV-DNA thường được chỉ định do có độ nhạy, độ đặc hiệu cao, có thể sử dụng giọt máu khô lấy trên giấy thấm (dry blood spot- DBS) để bảo quản và vận chuyển từ những nơi xa phòng xét nghiệm. Trẻ cần được khẳng định sớm tình trạng nhiễm HIV để được điều trị sớm không cần chờ có các dấu hiệu lâm sàng hoặc suy giảm miễn dịch.

Các phương pháp trực tiếp phát hiện tác nhân vi rút còn được dùng trong các trường hợp chẩn đoán sớm nhiễm HIV ở người lớn trong giai đoạn cửa sổ chưa có sự chuyển đổi huyết thanh hoặc khi xét nghiệm bằng phương pháp gián tiếp tìm kháng thể có kết quả không rõ ràng.

2.2. Phát hiện kháng nguyên p24 (antigen p24)

Kháng nguyên p24 là protein cấu thành của lõi vi rút, bao bọc các chất liệu di truyền và là một chỉ số phản ánh sự nhân lên của vi rút. Kháng nguyên p24 tồn tại dưới dạng tự do hoặc trong phức hợp kháng nguyên-kháng thể.

Phát hiện kháng nguyên p24 thông thường được sử dụng trong:

- Chẩn đoán nhiễm HIV ở trẻ sơ sinh: Đây là một kỹ thuật kém nhạy nhưng rất đặc hiệu. Hiện nay, các sinh phẩm phát hiện kháng nguyên p24 đã được hoàn thiện để nâng cao độ nhạy.

- Phát hiện sớm giai đoạn mới nhiễm HIV: Trong giai đoạn đầu mới nhiễm HIV, kháng nguyên p24 có thể được phát hiện trước khi có sự biến đổi huyết thanh, ở giai đoạn cửa sổ khi chưa có kháng thể.

- Theo dõi diễn tiến nhiễm HIV: Kháng nguyên p24 có thể được phát hiện rất sớm ở giai đoạn mới nhiễm. Cùng với sự xuất hiện kháng thể, nồng độ kháng nguyên p24 tự do trong máu giảm. Ở giai đoạn cuối, cùng với sự giảm kháng thể kháng p24, sự tái xuất hiện và gia tăng nồng độ p24 tự do là một tiên lượng chuyển sang AIDS.

- Theo dõi đáp ứng điều trị với thuốc kháng vi rút.

- Phát hiện có sự nhân lên của vi rút trong nuôi cấy tế bào

2.3. Các kỹ thuật sinh học phân tử phát hiện HIV-ARN hoặc HIV-ADN tiền vi rút.

- Các kỹ thuật sinh học phân tử được áp dụng trong xét nghiệm phát hiện sớm nhiễm HIV; đo tải lượng vi rút trong theo dõi điều trị.

- Các kỹ thuật PCR và Real Time PCR phát hiện ADN tiền vi rút trong tế bào nhiễm hoặc HIV - ARN trong huyết tương.

- Các nguyên tắc chung của các kỹ thuật sinh học phân tử:
 - + Nguyên tắc của kỹ thuật PCR: Phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction: phản ứng tổng hợp chuỗi) là kỹ thuật cho phép khuếch đại một lượng rất nhỏ phân tử ADN đích được tách chiết từ các tế bào nhiễm hoặc được tổng hợp từ các ARN của vi rút nhờ enzyme sao chép ngược RT (ADNc).
 - + Nguyên tắc của kỹ thuật Real time PCR phát hiện nhiễm HIV (Kỹ thuật PCR theo thời gian thực): Real time PCR là phương pháp cho phép khuếch đại và xác định số lượng các chuỗi ADN được tạo ra trong từng chu kỳ nhiệt.
 - + Nguyên tắc của kỹ thuật PCR - lai phân tử: Sản phẩm PCR đã được đánh dấu với biotinylen sẽ được lai ghép với các mẫu dò đặc hiệu với ADN đích đã được cố định trên các giếng của phiến nhựa vi lượng và được phát hiện bởi các tín hiệu cho phép đọc được với máy quang kế (colorimetric).

3. Xét nghiệm theo dõi người nhiễm HIV/AIDS

3.1. Xét nghiệm đếm tế bào *Lympho T-CD4*

Do hướng tính đặc hiệu của gp120 HIV đối với thụ thể CD4 và thụ thể CD4 có nhiều trên các tế bào T-CD4, một tế bào đóng vai trò trung tâm của hầu hết các đáp ứng miễn dịch nên nhiễm HIV có ảnh hưởng rất lớn lên hệ thống miễn dịch. HIV làm ly giải các tế bào T-CD4 hoặc bất hoạt chức năng của tế bào này dẫn đến hệ thống miễn dịch của cơ thể suy giảm.

Nhìn chung, T-CD4 bị giảm số lượng, giảm chức năng, đáp ứng miễn dịch dịch thể và đáp ứng miễn dịch tế bào cũng vì vậy mà giảm sút, hệ thống miễn dịch suy giảm không có khả năng chống đỡ bệnh tật. Trong nhiễm HIV, bệnh nhân chết không phải do HIV mà do vi rút này hủy hoại hệ thống miễn dịch gây suy giảm miễn dịch nên bệnh nhân sẽ chết do nhiễm trùng cơ hội và ung thư. Tóm lại, trong số các tế bào có thụ thể CD4, sự biến động T-CD4 có liên quan mật thiết tới khả năng bảo vệ của hệ thống miễn dịch. Do vậy, việc theo dõi T-CD4 rất có giá trị tiên lượng tình trạng miễn dịch của cơ thể.

Ý nghĩa của xét nghiệm tế bào T-CD4 là:

- Đánh giá mức độ suy giảm miễn dịch và giai đoạn bệnh trong nhiễm HIV.
- Theo dõi diễn tiến bệnh.
- Chỉ định điều trị dự phòng Cotrimoxazole.
- Chỉ định điều trị thuốc kháng vi rút (ARV).
- Theo dõi và đánh giá hiệu quả điều trị.

Hiện nay, theo quy định của Bộ Y tế các bệnh nhân nhiễm HIV cần được theo dõi định kỳ bằng xét nghiệm T-CD4 để có chỉ định can thiệp kịp thời.

Hiện có rất nhiều dòng máy hiện diện tại các phòng xét nghiệm đếm tế bào lympho T-CD4 như:

- FacsCalibur - Becton Dickinson (Mỹ).
- Cytomics EC500 - Beckman Coulter (Mỹ).
- Máy Facs Count - Becton Dickinson (Mỹ).
- Máy Cyflow SL3, CyFlow Counter - Partec (Đức).
- PCA – Guava – Milipore (Mỹ).
- Pima analyser – Alere – (Anh) (Máy đếm tế bào sách tay)
- CD4 BD FACSPresto- Becton Dickinson (Mỹ) (Máy đếm tế bào sách tay)

3.2. Xét nghiệm đo tải lượng HIV

Xét nghiệm đo tải lượng HIV được chỉ định khi:

- Người bệnh nghi ngờ thất bại điều trị ARV.
- Theo dõi định kỳ người bệnh điều trị ARV (nếu có điều kiện).

Có một số nguyên lý kỹ thuật như RT PCR, Branch DNA (bDNA), NASBA và Realtime – PCR (PCR theo thời gian thực) được sử dụng trong xét nghiệm định lượng HIV- RNA.

Ngày nay các sinh phẩm xét nghiệm tải lượng HIV dựa vào nguyên lý Realtime PCR phổ biến có ưu điểm của các kỹ thuật là nhanh, cho kết quả sau vài giờ. Kỹ thuật có độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

Loại mẫu: theo WHO mẫu huyết tương được tách từ máu toàn phần chống đông bằng EDTA được coi tiêu chuẩn trong xét nghiệm tải lượng HIV nhưng đòi hỏi điều kiện vận chuyển bảo quản mẫu tốt (tuyệt đối không dùng chất chống đông Heparine do ức chế phản ứng PCR dẫn đến kết quả sai). WHO cũng khuyến cáo sử dụng mẫu giọt máu khô (DBS) trong điều kiện vận chuyển bảo quản khó khăn.

Tải lượng vi rút thường được tính bằng bản sao/ml (copy/ml). Ngoài ra số lượng bản sao của vi rút còn được quy đổi dưới dạng logarit thập phân ($\log_{10}$) để thuận lợi cho việc theo dõi sự thay đổi của tải lượng vi rút trong điều trị.

Nhìn chung các xét nghiệm tải lượng HIV đòi hỏi phải có các trang thiết bị chuyên biệt, giá thành cao, cán bộ phải được đào tạo tốt.

3.3. Xét nghiệm định typ gen kháng thuốc ARV

Xét nghiệm định typ gen kháng thuốc ARV được chỉ định khi người bệnh nghi ngờ thất bại điều trị ARV và hiện nay chủ yếu dùng phương pháp giải trình tự để xác định đột biến kháng thuốc so với ngân hàng dữ liệu kháng thuốc.

4. Các chiến lược xét nghiệm

Theo WHO, trong chẩn đoán nhiễm HIV, xét nghiệm sàng lọc HIV bằng sinh phẩm ELISA cho kết quả dương tính và được xét nghiệm khẳng định bằng Western Blot được coi là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán trường hợp HIV dương tính. Tuy nhiên xét nghiệm chẩn đoán dương tính HIV theo tiêu chuẩn vàng thường có giá thành rất cao, đòi hỏi cán bộ xét nghiệm có trình độ vì vậy nhiều nước không thể áp dụng được. Vì vậy WHO/UNAIDS đã đưa ra các chiến lược xét nghiệm bằng cách phối hợp các loại sinh phẩm thông thường nhưng có thể đưa ra kết quả xét nghiệm có độ tin cậy cao tương tự như xét nghiệm bằng tiêu chuẩn vàng nhưng giá thành hạ. Theo WHO/UNAIDS có 03 chiến lược xét nghiệm khác nhau I, II, III được áp dụng tùy thuộc vào mục đích xét nghiệm và tỷ lệ nhiễm khác nhau trong quần thể.

Ở Việt Nam, xét nghiệm HIV được tiến hành theo ba chiến lược khác nhau tùy thuộc vào mục đích xét nghiệm với chiến lược xét nghiệm tốt nhất mà không quan tâm đến tỷ lệ nhiễm HIV ở các nhóm quần thể. Các chiến lược xét nghiệm được áp dụng cho 04 mục đích chính sau:

- An toàn truyền máu và cấy ghép mô, nội tạng (còn gọi là an toàn truyền máu): xét nghiệm sàng lọc HIV để đảm bảo an toàn truyền máu và các chế phẩm của máu, cấy ghép mô và nội tạng, cho tinh dịch, trứng, phôi.

- Giám sát dịch tễ HIV/AIDS: xác định tỷ lệ nhiễm HIV trong một số nhóm quần thể nhất định theo thời gian và địa điểm nhằm theo dõi sự phân bố, chiều hướng phát triển của dịch HIV/AIDS nhằm cung cấp thông tin cho việc lập kế hoạch, dự phòng, không chế và đánh giá hiệu quả các biện pháp phòng, chống HIV/AIDS.

- Chẩn đoán nhiễm HIV: xác định tình trạng nhiễm HIV của người được làm xét nghiệm.

- Dùng cho các mục đích nghiên cứu.

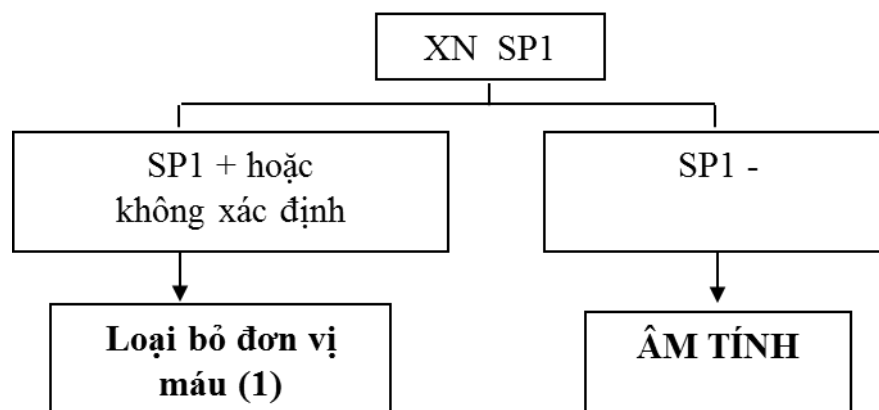
4.1. Chiến lược I (áp dụng cho an toàn truyền máu)

Mẫu được coi là dương tính với kháng thể HIV khi mẫu đó có phản ứng với một xét nghiệm bằng sinh phẩm (sau đây được ký hiệu là SP) có độ nhạy cao . Trong an toàn truyền máu , cấy ghép mô tạng và thụ tinh nhân tạo , những túi máu ,

sản phẩm máu hoặc mô , bộ phận cơ thể phải loại bỏ nếu có kết quả xét nghiệm dương tính hoặc không xác định.

Sinh phẩm lựa chọn cho chiến lược I là sinh phẩm có phát hiện cả HIV -1 và HIV-2 và độ nhạy cao nhất , vì đây là xét nghiệm để truyề n máu cho nên độ nhạy của sinh phẩm là 100%. Những sinh phẩm này cần có khả năng phát hiện sớm các mẫu huyết thanh chuyển đổi.

Ở Việt Nam Bộ Y tế có những quy định riêng trong lựa chọn sinh phẩm sàng lọc truyền máu phải là kỹ thuật ELISA hoặc hoá phát quang trở lên với sinh phẩm có khả năng phát hiện đồng thời kháng nguyên, kháng thể HIV-1 và HIV-2.



Hình 13: Chiến lược I

⁽¹⁾ Kết quả phản ứng này không được dùng cho mục đích chẩn đoán nhiễm HIV, vì vậy không thông báo kết quả cho người được xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ nhất không có phản ứng, kết luận mẫu âm tính với HIV.

- Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ nhất cho phản ứng (SP1+) hoặc không xác định mẫu được coi là dương tính với HIV và loại bỏ đơn vị máu.

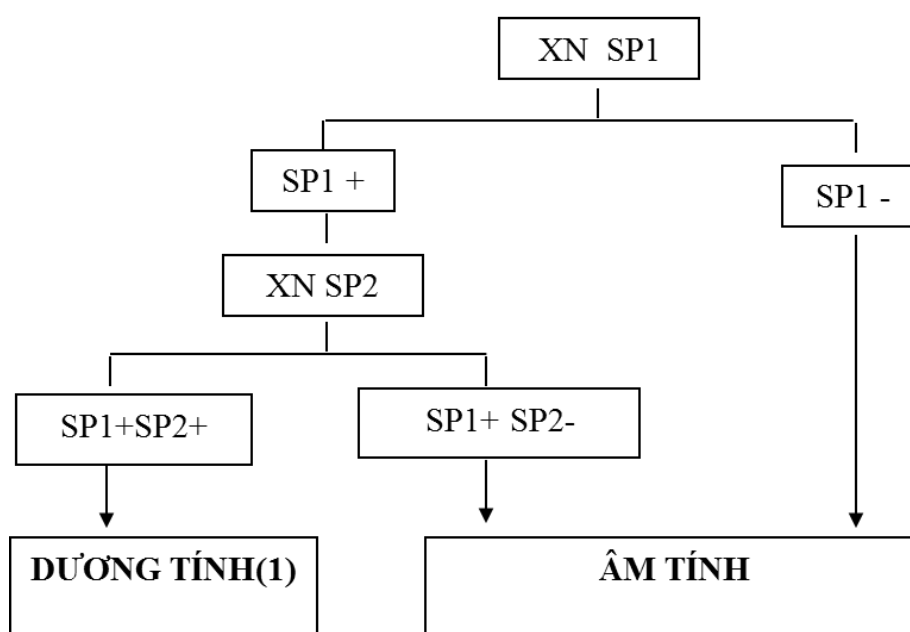
4.2. Chiến lược II (áp dụng cho giám sát dịch tễ)

Mẫu được coi là dương tính với chiến lược II khi mẫu đó có phản ứng với cả hai loại sinh phẩm có nguyên lý hoặc chuẩn bị kháng nguyên khác nhau, sinh phẩm thứ nhất (SP1) phải có độ nhạy cao, sinh phẩm thứ hai (SP2) có độ đặc hiệu cao.

- Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ nhất không có phản ứng, kết luận mẫu âm tính với kháng thể HIV.

- Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ nhất cho phản ứng (SP1+), tiếp tục thực hiện xét nghiệm với sinh phẩm thứ hai.

- + Kết quả xét nghiệm bằng sinh phẩm thứ hai cho phản ứng (SP1+, SP2 +), kết luận mẫu dương tính với kháng thể HIV.
- + Kết quả xét nghiệm bằng sinh phẩm thứ hai không có phản ứng (SP1+, SP2-), kết luận mẫu âm tính với kháng thể HIV.
- Kết quả xét nghiệm này chỉ dùng cho mục đích giám sát dịch tễ không thông báo cho người được làm xét nghiệm.
- Lưu ý: chỉ được thông báo kết quả cho người được làm xét nghiệm khi tiếp tục thực hiện xét nghiệm bằng sinh phẩm thứ ba (SP3) theo quy định của chiến lược III.



Hình 14: Chiến lược II

- Các sinh phẩm xét nghiệm SP1, SP2 khác nhau về nguyên lý hoặc cách chuẩn bị kháng nguyên.
- (1) Kết quả này chỉ phục vụ cho mục đích giám sát dịch tễ học HIV/AIDS nên không thông báo cho người được xét nghiệm.

4.3. Chiến lược III (áp dụng cho xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV)

Mẫu được coi là dương tính với chiến lược III khi mẫu đó có phản ứng với cả ba loại sinh phẩm có nguyên lý hoặc chuẩn bị kháng nguyên khác nhau. Sinh phẩm thứ nhất (SP1) dùng để sàng lọc có độ nhạy cao, các sinh phẩm tiếp theo (SP2, SP3) để khẳng định có độ đặc hiệu cao.

- Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ nhất không có phản ứng, kết luận mẫu âm tính với kháng thể HIV.

- Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ nhất cho phản ứng (SP1+), tiếp tục thực hiện xét nghiệm với sinh phẩm thứ hai (SP2).

- Kết quả xét nghiệm bằng sinh phẩm thứ hai cho phản ứng (SP1+, SP2 +), thì tiếp tục thực hiện với sinh phẩm thứ ba (SP3).

+ Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ ba cho phản ứng (SP1+, SP2+, SP3+), kết luận mẫu dương tính với kháng thể HIV và được phép trả lời kết quả cho người được làm xét nghiệm.

+ Kết quả xét nghiệm với sinh phẩm thứ ba không cho phản ứng (SP1+, SP2+, SP3-), kết luận mẫu không xác định, yêu cầu lấy mẫu xét nghiệm lại sau 14 ngày.

- Kết quả xét nghiệm bằng sinh phẩm thứ hai không cho phản ứng (SP1+, SP2-), thực hiện lại xét nghiệm với cả sinh phẩm thứ nhất (SP1) và thứ hai (SP2) để kiểm tra loại trừ sai sót kỹ thuật.

+ Nếu kết quả xét nghiệm với cả hai sinh phẩm không cho phản ứng (SP1-, SP2), kết luận mẫu âm tính với kháng thể HIV;

+ Nếu kết quả xét nghiệm (SP1+, SP2+) hoặc (SP1+, SP2-) thực hiện tiếp xét nghiệm với sinh phẩm thứ ba (SP3), kết quả cả 3 lần làm xét nghiệm sẽ được phân tích và biện luận như sau:

a. Kết quả xét nghiệm (SP1+, SP2+, SP3+), kết luận mẫu dương tính với kháng thể HIV.

Lưu ý: Nếu một trong ba sinh phẩm (SP1, SP2, SP3 bất kỳ là sinh phẩm ELISA, sinh phẩm hóa/điện hóa phát quang hoặc sinh phẩm nhanh) có kết quả dương tính yếu thì có khả năng là **dương tính giả** hoặc dương tính trong giai đoạn mới nhiễm (xem lưu ý phần Phương cách xét nghiệm).

b. Kết quả xét nghiệm (SP1+, SP2+, SP3-) hoặc (SP1+, SP2-, SP3+), kết luận mẫu không xác định, yêu cầu lấy mẫu xét nghiệm lại sau 14 ngày.

c. Kết quả xét nghiệm (SP1+, SP2-, SP3-) và người được làm xét nghiệm không có yếu tố nguy cơ lây nhiễm HIV có thể kết luận là mẫu âm tính với kháng thể HIV; nếu người được làm xét nghiệm có yếu tố nguy cơ lây nhiễm HIV, kết luận mẫu không xác định và yêu cầu lấy mẫu xét nghiệm lại sau 14 ngày;

Lưu ý: trong nhóm (c) này, trường hợp bệnh nhân không có yếu tố nguy cơ lây nhiễm HIV nhưng nếu SP1 phát hiện cả kháng nguyên và kháng thể (Ag, Ab) trong khi sinh phẩm SP2 và SP3 chỉ phát hiện kháng thể (Ab) thì vẫn yêu cầu **lấy mẫu xét nghiệm lại sau 14 ngày** vì dương tính với sinh phẩm SP1 có thể là dương tính với kháng nguyên Ag ở giai đoạn sớm.

- Trong các trường hợp kết quả xét nghiệm không xác định, đề nghị lấy máu xét nghiệm lại lần 2 sau 14 ngày và nếu kết quả xét nghiệm sau 14 ngày vẫn tiếp tục không xác định thì phân tích và biện luận như sau:

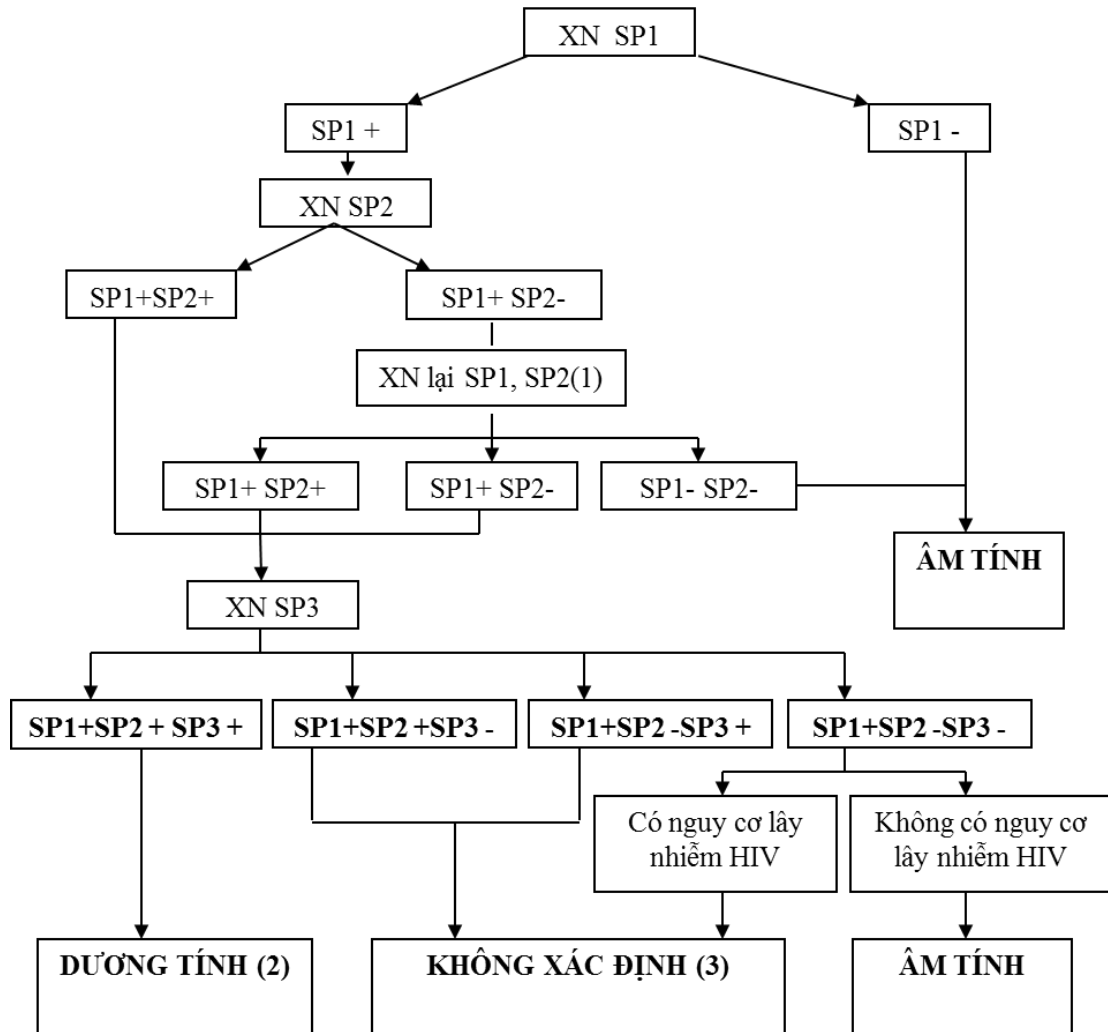
+ Không có sự thay đổi hoặc giảm mức độ phản ứng với cùng loại sinh phẩm đã được sử dụng trong 2 lần xét nghiệm, kết luận mẫu âm tính với kháng thể HIV.

+ Có sự gia tăng mức độ phản ứng với cùng loại sinh phẩm đã được sử dụng trong 2 lần xét nghiệm, yêu cầu lấy mẫu làm lại xét nghiệm lần 3 sau 14 ngày

+ Các phòng xét nghiệm có thể gửi mẫu không xác định lên phòng xét nghiệm tham chiếu tuyến trên để làm các xét nghiệm khẳng định khác.

- Trong các trường hợp kết quả xét nghiệm lần 3 tiếp tục không xác định, kết luận mẫu âm tính với kháng thể HIV.

Chẩn đoán nhiễm HIV ở người lớn và trẻ ≥ 18 tháng



Hình 15: Chiến lược III

Các sinh phẩm xét nghiệm SP1, SP2, SP3 khác nhau về nguyên lý hoặc cách chuẩn bị kháng nguyên.

(1) Việc xét nghiệm lại bằng SP1, SP2 để kiểm tra loại trừ sai sót khi xét nghiệm bằng sinh phẩm SP1 hoặc SP2.

(2) Kết quả dương tính được dùng để kết luận các trường hợp nhiễm HIV với điều kiện thực hiện xét nghiệm tại phòng xét nghiệm được Bộ Y tế cho phép khẳng định các trường hợp nhiễm HIV.

Lưu ý: Nếu một trong ba sinh phẩm (SP1, SP2, SP3 bất kỳ là sinh phẩm nhanh, sinh phẩm ELISA hoặc sinh phẩm hóa/điện hóa phát quang) có kết quả dương tính yếu thì nhiều khả năng là dương tính giả cần thận trọng khi kết luận, tốt nhất nên hện xét nghiệm lại sau 14 ngày.

(3) Trường hợp kết quả xét nghiệm không xác định, đề nghị lấy máu xét nghiệm lại lần thứ 2 sau 14 ngày và biện luận kết quả theo các tình huống sau:

- + Nếu kết quả xét nghiệm lần 2 âm tính thì kết luận là âm tính.
- + Nếu kết quả xét nghiệm lần 2 dương tính theo chiến lược 3 thì kết luận là dương tính.

+ Nếu kết quả lần 2 vẫn không xác định nhưng mức độ phản ứng với sinh phẩm của lần xét nghiệm thứ 2 không có sự thay đổi so với mức độ phản ứng với các sinh phẩm đã sử dụng trong xét nghiệm lần 1 và người được xét nghiệm không thuộc đối tượng có hành vi nguy cơ cao thì kết luận là âm tính.

+ Đề nghị xét nghiệm lần thứ 3 sau 14 ngày nếu kết quả xét nghiệm lần 2 vẫn không xác định trong các tình huống sau:

- Mức độ phản ứng với sinh phẩm của lần xét nghiệm thứ 2 có sự thay đổi tăng so với mức độ phản ứng với các sinh phẩm đã sử dụng trong xét nghiệm lần 1. Hoặc nghi ngờ chuyển đổi huyết thanh.

- Hoặc trường hợp mức độ phản ứng với sinh phẩm của lần xét nghiệm thứ 2 không có sự thay đổi so với mức độ phản ứng với các sinh phẩm đã sử dụng trong xét nghiệm lần 1 nhưng người được xét nghiệm thuộc đối tượng có hành vi nguy cơ cao

5. Phương cách xét nghiệm HIV

Trong nghiên cứu và trên thực tế lâm sàng, một số mẫu có bản chất là âm tính nhưng có phản ứng dương tính giả với kháng thể HIV từ 3 đến 5 loại sinh phẩm khác nhau kể cả sinh phẩm ELISA, điện hóa phát quang, ngưng kết hạt và sinh phẩm nhanh. Vì vậy trong chẩn đoán nhiễm HIV, việc lựa chọn 03 sinh phẩm để tránh trùng lặp dương tính giả với cả ba sinh phẩm là rất cần thiết. Để đưa ra chẩn đoán chính xác hơn, ngoài việc áp dụng các chiến lược xét nghiệm, WHO đã khuyến cáo các nước cần đưa ra phương cách xét nghiệm chẩn đoán.

Phương cách xét nghiệm: là thứ tự thực hiện các xét nghiệm bằng các sinh phẩm cụ thể đã được lựa chọn.

- Thứ tự thực hiện xét nghiệm bằng các sinh phẩm được lựa chọn trong một phương cách xét nghiệm cần bảo đảm nguyên tắc: sinh phẩm sàng lọc đầu tiên phải có độ nhạy cao, các sinh phẩm bổ sung phải có độ đặc hiệu cao ưu tiên các sinh phẩm có độ nhạy cao.

+ Việc xây dựng các phương cách xét nghiệm cần lựa chọn từ các sinh phẩm không hoặc ít có cùng nhược điểm như cùng âm tính giả hoặc cùng dương tính giả.

+ Lựa chọn một phương cách xét nghiệm tùy thuộc vào: mục đích xét nghiệm; số lượng mẫu; yêu cầu thời gian trả lời kết quả; tỷ lệ nhiễm; điều kiện cụ thể và năng lực thực tế của cơ sở xét nghiệm.

Lưu ý: Việc thực hiện theo đúng chiến lược và phương cách xét nghiệm được khuyến cáo, đã được đánh giá tốt sẽ giúp cho việc đưa ra kết quả xét nghiệm chính xác hơn. Trong trường hợp chẩn đoán các trường hợp HIV dương tính theo chiến lược 3, nếu kết quả xét nghiệm của 1 sinh phẩm là dương tính yếu thì việc kết luận cần được thận trọng. Trong trường hợp này, tốt nhất kết luận không xác định và hẹn khách hàng quay lại xét nghiệm sau 14 ngày.

6. Sinh phẩm xét nghiệm HIV

Các đặc điểm chính để xác định chất lượng của một sinh phẩm xét nghiệm là độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương và giá trị dự đoán âm trong đó độ nhạy và độ đặc hiệu là hai yếu tố quan trọng.

Sinh phẩm có độ nhạy cao cho kết quả âm tính giả thấp, sinh phẩm có độ nhạy cao thường dùng trong xét nghiệm sàng lọc, đặc biệt trong sàng lọc an toàn truyền máu hoặc cấy ghép mô, nội tạng, cần tuân thủ các quy định chuyên môn trong công tác an toàn truyền máu hoặc được sử dụng trong xét nghiệm sàng lọc ban đầu trong chẩn đoán nhiễm HIV.

Một sinh phẩm có độ đặc hiệu cao cho kết quả dương tính giả thấp, sinh phẩm có độ đặc hiệu cao thường sử dụng trong các xét nghiệm bổ sung.

- Các sinh phẩm dùng để xét nghiệm sàng lọc HIV phải có độ nhạy tối thiểu $\geq 99,5\%$ đối với các sinh phẩm xét nghiệm nhanh, 100% với các kỹ thuật ELISA/hóa phát quang/điện hóa phát quang và độ đặc hiệu tối thiểu $\geq 98\%$. Các tiêu chuẩn này cần dựa theo các đánh giá tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới, CDC Hoa kỳ hoặc đánh giá của Quốc gia và các đánh giá của các tổ chức có uy tín khác. Ngoài các thông số độ nhạy, độ đặc hiệu thì độ nhạy huyết thanh chuyển đổi của sinh phẩm cũng rất quan trọng trong việc rút ngắn thời gian phát hiện ở giai đoạn cửa sổ.

- Các sinh phẩm phải phát hiện được kháng thể kháng HIV-1 và HIV-2 trong đó có khả năng phát hiện được tất cả các phân nhóm của HIV-1 đặc biệt chú ý đến

phân nhóm M, N, O. Phân nhóm P gần đây mới được phát hiện và còn khu trú nên hiện tại nhiều sinh phẩm chưa có khả năng phát hiện phân nhóm này.

- Các sinh phẩm xét nghiệm phải được Bộ Y tế cho phép sử dụng.
- Khi lựa chọn sinh phẩm nhanh ngoài các đặc điểm nêu trên cần lưu ý:
 - + Thẻ tích mẫu sử dụng không quá ít
 - + Thời gian ổn định của kết quả dài
 - + Tính sẵn có của sinh phẩm
 - + Hạn sử dụng của sinh phẩm dài
 - + Quy cách đóng gói của thanh xét nghiệm trong hộp sinh phẩm, nên sử dụng thanh xét nghiệm được đóng gói từng thanh đơn lẻ.
- Bảo quản sinh phẩm theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất, nhiệt độ bảo quản được theo dõi bằng nhiệt kế hàng ngày.

7. Nguyên tắc thực hiện xét nghiệm HIV

Theo quy định của Luật phòng, chống HIV/AIDS tại Việt Nam và khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới thì việc thực hiện xét nghiệm HIV phải tuân theo một số nguyên tắc nhất định:

Việc thực hiện xét nghiệm HIV phải đảm bảo tính bí mật và trên cơ sở tự nguyện, chỉ thực hiện bắt buộc trong một số trường hợp nhất định để phục vụ chẩn đoán hoặc theo quy định của Pháp luật.

Bệnh nhân đến xét nghiệm HIV phải được tư vấn trước và sau xét nghiệm, được giới thiệu đến các dịch vụ chuyển tuyến để được chăm sóc điều trị hoặc can thiệp giảm hại thích hợp.

Xét nghiệm phải tuân thủ chiến lược và phương cách xét nghiệm.

Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo các quy định của Bộ Y tế.

Kết nối với chăm sóc và điều trị: Người nhiễm HIV cần được kết nối chuyển gửi ngay với chăm sóc và điều trị.

Xét nghiệm HIV có thể thực hiện trong hoặc ngoài cơ sở y tế, tuy nhiên chỉ những cơ sở được Bộ Y tế cho phép mới được phép khẳng định HIV dương tính và việc thông báo kết quả xét nghiệm HIV dương tính phải được thực hiện theo quy định của Pháp luật và Bộ Y tế.

8. Hệ thống cung ứng dịch vụ xét nghiệm HIV tại Việt Nam

Hiện tại xét nghiệm HIV có thể được cung cấp theo 2 hình thức (1) Xét nghiệm trong cơ sở y tế (2) Xét nghiệm ngoài cơ sở y tế.

Xét nghiệm trong cơ sở y tế được thực hiện tại các phòng xét nghiệm chia làm 3 cấp độ: (1) Phòng xét nghiệm sàng lọc HIV; (2) Phòng xét nghiệm khẳng định các trường hợp HIV dương tính; (3) Phòng xét nghiệm tham chiếu.

Xét nghiệm ngoài cơ sở y tế dưới hình thức tư vấn, xét nghiệm HIV lưu động, xét nghiệm tại cộng đồng. Hình thức này thường được áp dụng tại các vùng dịch nguy cơ cao hoặc trong các đợt chiến dịch truyền thông. Khi thực hiện xét nghiệm ngoài cơ sở y tế cần chú ý thực hiện dự phòng phổ cập về an toàn xét nghiệm. Ngoài ra, hình thức tự xét nghiệm cũng đang được nghiên cứu và có thể được áp dụng ở Việt Nam sau này.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

Trả lời câu hỏi hoặc khoanh vào một hoặc nhiều ý trả lời đúng

1. Nêu định nghĩa về giai đoạn cửa sổ trong nhiễm HIV?

.....

.....

.....

2. Phương pháp xét nghiệm gián tiếp phát hiện HIV là gì?

- a. Là phương pháp phát hiện sự hiện diện các thành phần HIV (kháng nguyên) trong máu.
- b. Là phương pháp phát hiện kháng thể kháng HIV trong máu
- c. Là phương pháp phát hiện cả kháng nguyên và kháng thể kháng HIV trong máu.
- d. Không trả lời

3. Nêu ưu điểm và nhược điểm của kỹ thuật xét nghiệm nhanh ? Trong xét nghiệm nhanh cần chú ý yếu tố gì?

.....

.....

.....

4. Các kỹ thuật ELISA được chia thành mấy nhóm nguyên lý ? Nêu tên?

.....

.....

.....

5. Phương pháp xét nghiệm trực tiếp phát hiện HIV là gì?

- a. Phát hiện kháng nguyên P24
- b. Phát hiện kháng thể kháng HIV
- c. Phát hiện axit nucleic của HIV (ARN hoặc ADN provirus)
- d. Nuôi cấy phân lập vi rút

6. Để chẩn đoán một trường hợp nhiễm HIV ở người lớn và trẻ từ 18 tháng tuổi trở lên ở Việt Nam dùng chiến lược nào?

- a. Chiến lược 1
- b. Chiến lược 2
- c. Chiến lược 3

d. Chiến lược 4

7. Phương pháp xét nghiệm phát hiện axit nucleic (ARN, ADN) được áp dụng trong trường hợp nào?

.....
.....
.....

8. Trình bày về chiến lược xét nghiệm III?

.....
.....
.....

9. Trình bày khái niệm về phương cách xét nghiệm HIV?

.....
.....
.....

BÀI 3. LẤY MẪU, ĐÓNG GÓI, VẬN CHUYỂN VÀ BẢO QUẢN MẪU BỆNH PHẨM

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có khả năng:

1. Trình bày được các kỹ thuật lấy máu khác nhau.
2. Trình bày được đóng gói, vận chuyển và bảo quản mẫu.
3. Trình bày được các tiêu chuẩn chấp nhận và loại bỏ mẫu bệnh phẩm.
4. Nguyên nhân ảnh hưởng đến chất lượng mẫu, giải pháp khắc phục.

THỜI GIAN HỌC TẬP: 60 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức cơ bản về quy trình lấy mẫu máu, cách thức đóng gói, vận chuyển và quản lý mẫu xét nghiệm. Tiếp theo bài viết đề cập đến quy trình vận chuyển mẫu và bảo quản mẫu, tiêu hủy mẫu xét nghiệm và cuối cùng bài viết trình bày tiêu chuẩn chấp nhận và loại bỏ mẫu.

GIỚI THIỆU:

Tầm quan trọng của mẫu bệnh phẩm: mẫu bệnh phẩm được lấy chính xác, đúng cách và yêu cầu của xét nghiệm vô cùng quan trọng góp phần đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác [3].

Loại mẫu	Thu thập	Miêu tả	Sử dụng
Máu không chống đông	Máu tĩnh mạch	Máu toàn phần thu thập vào ống không có chất chống đông	- Cho các xét nghiệm yêu cầu huyết thanh.
Huyết thanh	Máu tĩnh mạch	Máu không chống đông, sau đó ly tâm, tách huyết thanh, không có fibrinogen.	- XN hóa sinh - XN miễn dịch và huyết thanh học (kháng nguyên, kháng thể)
Máu toàn phần có chất chống đông	Máu tĩnh mạch	Máu toàn phần Thu thập trong một ống có chất chống đông đảm bảo có đầy đủ các tế bào và huyết tương	- Xét nghiệm huyết sắc tố, - Xét nghiệm trong ngân hàng máu. - Tách huyết tương xét

			nghiệm miễn dịch học (kháng nguyên, kháng thể) - Xét nghiệm PCR (chất chống đông phù hợp)
Huyết tương	Máu tĩnh mạch	Thu thập trong một ống nghiệm chống đông, ly tâm lấy phần huyết tương ở trên. Huyết tương chứa fibrinogen.	- Xét nghiệm hóa sinh huyết tương. - Xét nghiệm miễn dịch học (kháng nguyên, kháng thể) - Xét nghiệm PCR
Lấy máu mao mạch	Lấy máu đầu ngón tay.	Máu mao mạch thu thập vào ống nghiệm hoặc ống mao dẫn có chất chống đông hoặc không có chất chống đông.	- Áp dụng với trẻ nhỏ, trẻ sơ sinh hoặc những người không thể lấy máu tĩnh mạch. - Xét nghiệm PCR - Có thể xét nghiệm kháng thể.

1. Lấy mẫu

Mẫu máu tươi (máu toàn phần, huyết thanh, huyết tương) là loại mẫu được dùng phổ biến nhất để xét nghiệm HIV. Ngoài ra còn có mẫu giọt máu khô (Dry blood sample - DBS), nước bọt cũng được sử dụng trong một số điều kiện cụ thể. Mẫu máu tươi có thể dùng để phân lập và định danh căn nguyên gây bệnh trong quá nuôi cấy, hoặc tách huyết tương/huyết thanh để phát hiện các gien (bằng kỹ thuật PCR), đặc biệt là kháng thể, kháng nguyên (bằng phương pháp ELISA, hóa miễn dịch phát quang, sinh phẩm nhanh). Mẫu giọt máu khô được dùng để phát hiện HIV bằng phương pháp PCR hoặc xét nghiệm tải lượng HIV. Mẫu nước bọt được dùng để xét nghiệm kháng thể HIV bằng một số sinh phẩm nhanh.

Phải đảm bảo đúng nguyên tắc khi lấy bệnh phẩm đó là:

- Đúng đối tượng
- Đúng kỹ thuật vô trùng.

- Đúng yêu cầu của sinh phẩm thực hiện- Bệnh phẩm cần được chuyển nhanh nhất tới các phòng xét nghiệm, nếu không phải giữ chúng trong môi trường hoặc dung dịch bảo quản ở nhiệt độ thích hợp.

1.1. Lấy mẫu máu mao mạch bằng dụng cụ chích máu (Lancet)

Phạm vi bài này chỉ áp dụng cho xét nghiệm huyết thanh học HIV.

1.1.1. Chuẩn bị trước khi lấy mẫu

Dụng cụ: Kim chích có lấy (lancet) chuyên dụng, dùng một lần; ống mao quản (capillary) có thể tích phù hợp; găng tay; bông thấm nước vô trùng; cồn 70° hoặc cồn I ốt; băng cá nhân; thùng đựng chất thải theo quy định; dung dịch khử khuẩn như dung dịch chứa 0,5% sodium hypochlorite.

- Điền đầy đủ các thông tin về bệnh nhân (họ tên hoặc mã số và năm sinh/tuổi), ngày lấy mẫu trên phiếu yêu cầu xét nghiệm, mã số bệnh nhân trên thanh thử, đối chiếu với phiếu bệnh nhân kê khai tự nguyện xét nghiệm.

- Rửa tay và đeo găng tay (mỗi bệnh nhân thay một găng tay mới), thao tác an toàn tránh lây nhiễm chéo giữa các mẫu bệnh phẩm, lây nhiễm cho bệnh nhân và nhân viên y tế.

- Giải thích rõ về mục đích lấy máu cho bệnh nhân.

1.1.2. Tiến hành lấy mẫu

- Hỏi lại tên tuổi bệnh nhân và đối chiếu với phiếu xét nghiệm; Yêu cầu bệnh nhân hoặc người nhà bệnh nhân làm ấm bàn tay bằng cách xoa hai tay với nhau hoặc rửa tay bằng nước ấm để tăng lưu thông máu.

- Xác định vị trí lấy máu: Vị trí lấy máu tốt nhất là mặt bên (trái hoặc phải của ngón tay thứ 3 (ngón giữa) hoặc thứ 4 (ngón áp út).

- Yêu cầu bệnh nhân duỗi bàn tay xuống phía dưới.

- Sát khuẩn vị trí lấy máu bằng cồn 70° và để khô trong vòng 30 giây.

- Ấn kim chích một cách chắc chắn trên ngón tay và chích nhanh, mạnh, dứt khoát. Đảm bảo mỗi kim chích chỉ sử dụng cho 1 người.

- Lau bỏ giọt máu đầu tiên (vì giọt máu đầu tiên thường chứa dịch tổ chức, tế bào, như vậy sẽ không phù hợp cho xét nghiệm).

- Đợi cho đến khi máu chảy thành giọt lớn, dùng ống mao quản hút đủ thể tích yêu cầu (không bóp nặn vùng chích máu để tạo ra dịch tổ chức làm ảnh hưởng đến chất lượng mẫu).

- Đặt miếng bông gạc vô trùng vào vị trí chích máu và băng lại bằng băng dính cá nhân (nếu cần).

- Nhỏ máu từ ống mao quản vào thanh thử và thực hiện xét nghiệm theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Thải bỏ kim chích vào hộp đựng các vật sắc nhọn và ống mao quản đã dùng để hút mẫu máu vào hộp đựng rác thải y tế.

1.2. Lấy mẫu máu tĩnh mạch

Lấy máu sử dụng cho tất cả các loại sinh phẩm xét nghiệm yêu cầu huyết thanh/ huyết tương: sinh phẩm nhanh, ELISA, miễn dịch hóa phát quang, miễn dịch điện hóa phát quang, miễn dịch huỳnh quang, xét nghiệm sinh học phân tử....

1.2.1. Chuẩn bị dụng cụ

Bơm kim tiêm vô trùng loại 5ml (đầu kim cỡ 21-23G) hoặc bộ dụng cụ lấy máu bằng ống hút chân không (vacutainer, kim, giá đỡ), ống nghiệm nhựa có nắp đậy hoặc ống nghiệm chân không, ống nghiệm có chất chống đông (khi cần thu thập mẫu huyết tương) hoặc không có chất chống đông (khi cần thu thập huyết thanh), găng tay, khẩu trang, dây ga rô, bông thấm nước vô trùng, cồn 70°, bút dạ (loại mực chịu nước), giá để ống nghiệm, thùng đựng các vật sắc nhọn và rác thải y tế.

1.2.2. Chuẩn bị trước khi lấy mẫu

- Điền đầy đủ các thông tin về bệnh nhân (họ tên/mã số, năm sinh/tuổi) và ngày lấy mẫu trên phiếu xét nghiệm, ống đựng mẫu.

- Dán mã vạch (barcode) lên trên phiếu xét nghiệm và ống nghiệm lấy mẫu (nếu có).

- Rửa tay và đeo găng tay (mỗi bệnh nhân thay một găng tay mới), thao tác an toàn tránh lây nhiễm chéo giữa các mẫu bệnh phẩm, lây nhiễm cho bệnh nhân và nhân viên y tế.

1.2.3. Tiến hành lấy mẫu

- Hỏi tên, tuổi bệnh nhân, đối chiếu với ống máu và phiếu xét nghiệm.

- Xác định vị trí lấy máu (tĩnh mạch), **thường lấy máu ở nếp gấp khuỷu tay (hệ thống M tĩnh mạch).**

- **Đặt gối kê tay dưới vị trí lấy máu, buộc dây ga rô phía trên vị trí lấy máu khoảng 5cm.**

- Sát khuẩn bằng cồn 70° và để khô trong vòng 30 giây.

Lấy máu bằng bơm kim tiêm thường:

- Đưa kim vào vị trí lấy máu với góc xiên 25-30°
- Kéo xi lanh lấy đủ thể tích máu theo yêu cầu.
- Thể tích yêu cầu của từng loại xét nghiệm như sau:

Loại xét nghiệm	Thể tích mẫu yêu cầu	Loại ống nghiệm
Huyết thanh học HIV	3 ml	Có hoặc không có chất chống đông EDTA
Tải lượng vi rút	4-5 ml	Có chất chống đông EDTA
Xét nghiệm chẩn đoán sớm (EID)	2ml	Có chất chống đông EDTA

- Tháo bỏ dây ga rô
- Rút kim ra, đặt miếng bông gạc vô trùng vào vị trí chích máu và băng lại bằng băng dính cá nhân (nếu cần).
- Dùng pank tháo đầu kim bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn, để bơm tiêm chếch 45° với thành ống nghiệm và bơm từ từ cho máu chảy theo thành ống nghiệm tránh làm vỡ hồng cầu. Bơm tiêm sau khi sử dụng loại bỏ vào túi đựng chất thải lây nhiễm.
- Với ống chống đông bằng EDTA thì lượng máu lấy vào ống nghiệm đúng theo vạch trên ống nghiệm, không nên lấy nhiều quá vạch. Trộn đều lượng máu với lượng EDTA trong ống bằng cách úp lộn ngược nhẹ nhàng 8-10 lần. Kiểm tra hạn sử dụng của ống nghiệm EDTA.

Lấy máu bằng ống hút chân không:

- Lắp kim vào giá đỡ
- Đưa kim vào vị trí lấy máu với góc xiên 25-30°
- Lắp ống nghiệm vào đầu kim còn lại, máu sẽ tự động lấy đủ theo thể tích cho phép của ống và tự ngừng.
- Rút ống nghiệm ra.
- Tháo bỏ dây ga rô
- Rút kim ra, đặt miếng bông gạc vô trùng vào vị trí chích máu và băng lại bằng băng dính cá nhân (nếu cần).
- Loại bỏ kim vào hộp đựng vật sắc nhọn.

- Với ống có chất chống đông cần trộn máu với lượng chất chống đông cho đều bằng cách úp lộn ngược nhẹ nhàng 8-10 lần.

1.3. Lấy mẫu nước bọt

- Sử dụng cho một số sinh phẩm xét nghiệm nhanh như Oraquick HIV test.
- Mẫu nước bọt của bệnh nhân sẽ được lấy cho vào ống nghiệm và chuyển *nhANH NHẤT TỚI PHÒNG XÉT NGHIỆM*.

1.4. Lấy mẫu giọt máu khô [2]

1.4.1. Chuẩn bị dụng cụ

- Bộ dụng cụ lấy giọt máu khô (DBS): Bao gồm tấm DBS; găng tay (không có bột); dụng cụ chích máu; bông, gạc tiệt trùng; cồn 70%; túi giấy nén; 3-5 gói chống ẩm; túi nhựa có khóa; thẻ chỉ thị độ ẩm; giá xét nghiệm; phong bì sẫm màu (không dùng phong bì có màu sáng).

1.4.2. Chuẩn bị lấy mẫu

- Điền thông tin vào tấm DBS.
- Rửa tay và đi găng.
- Động viên an ủi bệnh nhân.
- Xác định vị trí lấy máu: gót chân hoặc ngón chân cái hoặc ngón tay.

1.4.3. Tiến hành lấy mẫu

Sử dụng bộ dụng cụ lấy giọt máu khô (DBS):

- Yêu cầu bệnh nhân xoa làm ấm vùng lấy máu.
- Sát khuẩn bằng cồn 70⁰ vị trí chích máu, để khô ít nhất 30 giây.
- Chích máu và bỏ giọt máu đầu tiên.
- Khi máu tạo thành giọt to, thấm trực tiếp từng giọt vào trung tâm từng vòng tròn của tấm DBS; Lưu ý mỗi tấm DBS cần tối thiểu 3 vòng tròn đạt tiêu chuẩn.
- Đặt tấm DBS lên giá xét nghiệm, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong thời gian tối thiểu 4 giờ.
- Sau đó, đặt mỗi tấm DBS vào một túi giấy nén và đặt túi giấy nén cùng các gói chống ẩm, tấm thẻ chỉ thị độ ẩm vào túi nilon có khóa (túi bảo quản bệnh phẩm).

2. Đóng gói và vận chuyển mẫu

2.1. Đóng gói mẫu

- Đeo găng tay đóng chặt các nắp của ống mẫu và xếp tất cả các ống mẫu theo phương thẳng đứng vào trong giá đựng mẫu. Dùng băng dính cố định các ống mẫu

trong giá đựng mẫu. Cho mẫu đã được cố định và vật liệu thấm hút (bông hoặc giấy thấm nước) để trong túi nylon dán kín.

- Đặt túi nylon có chứa mẫu và cho đủ vật liệu thấm hút (bông hoặc giấy thấm nước) vào thùng vận chuyển mẫu.

- Đặt các túi tích lạnh vào thùng đựng mẫu để đảm bảo mẫu được bảo quản từ 2-8°C trong quá trình vận chuyển.

- Đóng nắp thùng đựng mẫu và chốt khoá lại. Trường hợp không có chốt khoá thì dùng băng dính dán xung quanh.

- Dán hoặc in ký hiệu nguy hiểm sinh học và số điện thoại liên hệ trong trường hợp khẩn cấp bên ngoài của hộp đựng mẫu bệnh phẩm.



2.2. Vận chuyển mẫu bệnh phẩm

- Liên hệ gửi mẫu: nơi gửi mẫu cần gọi điện báo trước cho phòng xét nghiệm biết thời gian mẫu bệnh phẩm sẽ tới để phòng xét nghiệm bố trí cán bộ tiếp nhận. Khi vận chuyển mẫu phải kèm theo "Phiếu xét nghiệm sinh học phân tử HIV " và "Phiếu chuyển gửi mẫu xét nghiệm sinh học phân tử HIV".

- Thời gian gửi mẫu:

- + Đối với mẫu máu toàn phần: mẫu máu cần được chuyển đến phòng xét nghiệm trong vòng **6 giờ** kể từ khi lấy máu.

- + Đối với mẫu huyết tương: mẫu cần chuyển trong vòng **48 giờ** kể từ khi tách huyết tương.

- Phương tiện vận chuyển: tốt nhất là bằng xe ô-tô chuyên dụng. Trong trường hợp điều kiện không cho phép, có thể sử dụng xe gắn máy để vận chuyển nhưng phải buộc hộp chứa mẫu bệnh phẩm cẩn thận, gọn gàng vào giá chở hàng và tránh đổ, vỡ.

- Người vận chuyển mẫu bệnh phẩm: phải là cán bộ của cơ sở y tế hoặc cộng tác viên đã qua tập huấn. Khi vận chuyển cần mang theo găng tay và các dụng cụ an toàn để xử lý khi gặp sự cố (chất tẩy trùng, khử khuẩn như cồn 70°, Cloramin B...); vật liệu thấm hút để lau chùi, giấy lau mềm; túi nylon dày chuyên dụng.

2.3. Tiếp nhận, thực hiện xét nghiệm, lưu giữ mẫu bệnh phẩm

- Sau khi nhận được thông báo của đơn vị gửi mẫu, phòng xét nghiệm tiếp nhận mẫu bệnh phẩm phải sắp xếp để tiếp nhận kịp thời. Khi nhận mẫu bệnh phẩm phải ghi ngày, thời gian nhận, tên người tiếp nhận và ghi lại tình trạng chất lượng bệnh phẩm lúc nhận được.

- Tiến hành xét nghiệm theo các quy trình kỹ thuật đối với từng loại bệnh phẩm và mục đích xét nghiệm.

- Các mẫu bệnh phẩm được lưu giữ để phục vụ cho mục đích nghiên cứu phải được bảo quản đúng qui định đối với từng loại tác nhân gây bệnh, kiểm tra thường xuyên nhiệt độ và tình trạng mẫu.

3. Bảo quản mẫu

Tùy theo loại mẫu, kỹ thuật xét nghiệm và sinh phẩm xét nghiệm điều kiện bảo quản mẫu khác nhau.

- Mẫu huyết tương/huyết thanh để xét nghiệm huyết thanh học HIV cần bảo quản tại 2-8°C theo đúng thời gian chi tiết của từng loại sinh phẩm sử dụng. Xem bảng về thời gian bảo quản của một số loại sinh phẩm:

TT	Tên sinh phẩm	Thời gian bảo quản tại 2-8°
1	Murex HIV Ag/Ab	72 giờ
2	Murex HIV 1.2.O	7 ngày
3	SD Bioline HIV 1/2 3.0 EIA	3 ngày
4	Determine HIV 1/2	7 ngày
5	SD Bioline HIV 1/2 3.0	3 ngày
6	Vikia HIV 1/2	5 ngày

Trong trường hợp không thực hiện được xét nghiệm trong thời gian yêu cầu, mẫu phải bảo quản tại nhiệt độ tối thiểu -20°C. Mẫu đã đông không được tan đông quá 3 lần.

- Mẫu máu toàn phần chống đông EDTA dùng cho xét nghiệm tải lượng HIV bảo quản ở 2-8°C trong vòng 6 giờ. Mẫu huyết tương xét nghiệm tải lượng HIV bảo quản ở 2-8°C trong vòng 5 ngày, bảo quản ở -80°C từ 1-5 năm.

- Lưu mẫu huyết tương/huyết thanh dương tính hoặc nghi ngờ ở nhiệt độ đông lạnh tối thiểu -20°C trong thời gian ít nhất 2 năm.

- Các ống nghiệm lưu mẫu ở nhiệt độ đông lạnh phải là các ống nghiệm chuyên dụng có nắp xoáy chặt, xếp trong hộp chuyên dụng. Phải ghi rõ thông tin về mẫu trên ống nghiệm bằng loại mực không xóa được, hoặc nhãn dán không bị bong khi để đông lạnh.

- Các mẫu khi lưu phải có mã số và ghi chép trong sổ lưu mẫu.

4. Tiêu chuẩn chấp nhận và loại bỏ mẫu

4.1. Chấp nhận mẫu

4.1.1. Chấp nhận về hồ sơ

- Đảm bảo đủ hồ sơ: giấy xét nghiệm, giấy đồng ý tự nguyện xét nghiệm.

- Đảm bảo đối chiếu tên, tuổi, mã số ống máu với hồ sơ trùng khớp.

4.1.2. Chấp nhận mẫu bệnh phẩm

Mẫu sau khi tách huyết thanh/ huyết tương phải:

- Đủ thể tích với từng loại mẫu, với xét nghiệm huyết thanh học thể tích là 1,5 ml.

- Không tán huyết.

- Không có cục đông hoặc các sợi fibrin.

- Không bị nấm mốc.

- Nhiệt độ bảo quản và vận chuyển phù hợp với từng loại mẫu theo quy định.

- Thời gian kể từ khi thu thập đến khi tiếp nhận được bảo quản đúng quy định đối với loại sinh phẩm sử dụng tại đơn vị.

4.2. Loại bỏ mẫu

Khi mẫu không đạt một trong các tiêu chuẩn chấp nhận mẫu được trình bày ở trên.

5. Nguyên nhân ảnh hưởng tới chất lượng mẫu, giải pháp khắc phục

5.1. Nguyên nhân ảnh hưởng đến chất lượng mẫu

- Mẫu để quá lâu, không tách huyết thanh, huyết tương gây tan máu, hoặc lấy máu làm tan máu;

- Huyết thanh, huyết tương để quá lâu ở ngoài nhiệt độ phòng gây nhiễm khuẩn, nấm mốc.
- Mẫu ly tâm không đủ lắng fibrin, còn nhiều fibrin lơ lửng.
- Mẫu đông - tan quá nhiều lần.

5.2. Giải pháp khắc phục

- Thực hiện kỹ thuật lấy máu đúng;
- Tách huyết thanh/ huyết tương trong ngày nếu chưa xét nghiệm;
- Bảo quản huyết thanh/ huyết tương vào tủ lạnh khi không xét nghiệm;
- Ly tâm mẫu đúng thời gian và tốc độ. Nếu thấy có hiện tượng đông thì ly tâm lại hoặc chuyển huyết thanh/ huyết tương vào ống chuyên dụng để ly tâm tốc độ tối thiểu 10.000 vòng/10 phút.
- Mẫu không tan đông quá 3 lần.

5.3. Nếu các mẫu không đạt chất lượng thì phải thông báo với bệnh nhân để lấy lại mẫu xét nghiệm.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

1. Khi lấy máu đầu ngón tay, tại sao phải lau bỏ giọt máu đầu tiên?
 - a. Giọt máu đầu tiên thường chứa dịch tổ chức, tế bào.
 - b. Giọt máu đầu tiên nhiễm khuẩn.
 - c. Giọt máu đầu tiên không đủ thể tích.
 - d. Giọt máu đầu tiên bị đông.
2. Tại sao lại phải hỏi lại tên, tuổi bệnh nhân khi lấy mẫu?
 - a. Tránh nhầm lẫn.
 - b. Có sự giao tiếp với bệnh nhân khi lấy mẫu.
 - c. Để đối chiếu bệnh nhân và ống máu, giấy xét nghiệm.
 - d. Tất cả các ý trên.
3. Thời gian để sát khuẩn bề mặt bàn, dụng cụ lấy mẫu với dung dịch khử khuẩn cloramin 5% là bao nhiêu?
 - a. 10 phút
 - b. 20 phút
 - c. 30 phút
 - d. 40 phút
4. Lấy mẫu cho mỗi bệnh nhân điều dưỡng phải thay một đôi găng tay vì sao?
 - a. Tránh lây nhiễm giữa các bệnh nhân.
 - b. Tránh lây nhiễm giữa các mẫu xét nghiệm.
 - c. Phục vụ bệnh nhân tốt hơn.
 - d. Tất cả các ý trên
5. Tách mẫu huyết thanh ở tốc độ ly tâm và thời gian tối thiểu là bao nhiêu?
 - a. Tốc độ 3500 vòng/ 10 phút
 - b. Tốc độ 3000 vòng/ 10 phút
 - c. Tốc độ 2000 vòng/ 10 phút
 - d. Tốc độ 3500 vòng/ 5 phút
6. Tách mẫu huyết tương ở tốc độ ly tâm tốc độ và thời gian tối thiểu là bao nhiêu?
 - a. Tốc độ 2000 vòng / 2 phút
 - b. Tốc độ 2500 vòng/ 5 phút
 - c. Tốc độ 3000 vòng/ 2 phút
 - d. Tốc độ 3500 vòng/ 5 phút

7. Khi đóng gói mẫu vận chuyển cần đóng gói riêng biệt:

a. Lớp thứ nhất (tube, chai, lọ đựng mẫu bệnh phẩm): phải đảm bảo không thấm nước, không rò rỉ.

b. Lớp thứ nhất (tube, chai, lọ đựng mẫu bệnh phẩm): phải đảm bảo không thấm nước, không rò rỉ, chịu được nhiệt độ trong khoảng từ âm 40⁰C đến 55⁰C.

c. Lớp thứ nhất (tube, chai, lọ đựng mẫu bệnh phẩm): phải đảm bảo bằng vật liệu bền, không thấm nước, không rò rỉ, chịu được nhiệt độ trong khoảng từ âm 40⁰C đến 55⁰C.

d. Lớp thứ nhất (tube, chai, lọ đựng mẫu bệnh phẩm): phải đảm bảo cứng, chịu được áp lực, giữa 2 lớp có 1 lớp đệm để chống va đập. Kích thước bên ngoài tối thiểu mỗi chiều là 10cm.

8. Khi đựng nhiều mẫu (đã được đóng gói lớp thứ nhất) trong lớp thứ hai các mẫu cần phải:

a. Được để thẳng đứng.

b. Được tách riêng để ngăn sự tiếp xúc giữa chúng.

c. Được cố định vào giá để mẫu

d. Được có lớp đệm.

9. Các thông tin cần ghi nhãn trên bao bì vận chuyển:

a. Mã số quy định của Liên hợp quốc UN3373.

b. Tên địa chỉ người nhận.

c. Nhiệt độ bảo quản yêu cầu.

d. Tất cả ý trên.

10. Tiếp nhận mẫu bệnh phẩm, cần:

a. Phải ghi ngày, thời gian nhận.

b. Phải ghi tên người tiếp nhận.

c. Phải ghi tình trạng chất lượng bệnh phẩm lúc nhận được.

d. Tất cả ý trên.

BÀI 4. QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có thể hiểu và trình bày được:

1. Một số khái niệm về chất lượng.
2. Các thành tố trong quản lý chất lượng phòng xét nghiệm (12 thành tố).

THỜI GIAN HỌC TẬP: 120 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức về quản lý, đảm bảo chất lượng xét nghiệm. Trước tiên bài viết đề cập đến các khái niệm liên quan tới quản lý đảm bảo chất lượng xét nghiệm.

1. Các khái niệm về chất lượng

1.1. Chất lượng (Quality)

Là mức độ của tập hợp các đặc tính vốn có đáp ứng các yêu cầu.

1.2. Quản lý chất lượng (Quality Management)

Quản lý chất lượng là một loạt các hoạt động có phối hợp để định hướng và kiểm soát một *tổ chức về chất lượng*. Việc định hướng và kiểm soát về chất lượng một tổ chức nói chung bao gồm: chính sách chất lượng; mục tiêu chất lượng; hoạch định chất lượng; kiểm soát chất lượng; đảm bảo chất lượng và cải tiến chất lượng.

1.3. Chính sách chất lượng (Quality Policy)

Ý đồ và định hướng chung của một *tổ chức* có liên quan đến *chất lượng* được *lãnh đạo cao nhất* công bố chính thức.

1.4. Mục tiêu chất lượng (Quality Objective)

Điều định tìm kiếm hay nhằm tới có liên quan đến *chất lượng*.

1.5. Hoạch định chất lượng (Quality Planning)

Một phần của *quản lý chất lượng* tập trung vào việc lập *mục tiêu chất lượng* và qua định các quá trình tác nghiệp cần thiết và các nguồn lực có liên quan để thực hiện các mục tiêu chất lượng.

1.6. Kiểm soát chất lượng (Quality Control)

Một phần của *quản lý chất lượng* tập trung vào thực hiện các *yêu cầu chất lượng*.

1.7. Đảm bảo chất lượng (Quality Assurance-QA)

Một phần của *quản lý chất lượng* tập trung vào cung cấp lòng tin rằng các *yêu cầu* chất lượng sẽ được thực hiện.

1.8. Cải tiến chất lượng (Quality Improvement)

Một phần của *quản lý chất lượng* tập trung vào nâng cao khả năng thực hiện các *yêu cầu* chất lượng.

2. Tổng quan của hệ thống quản lý chất lượng

Chất lượng phòng xét nghiệm y tế có thể định nghĩa là sự chính xác

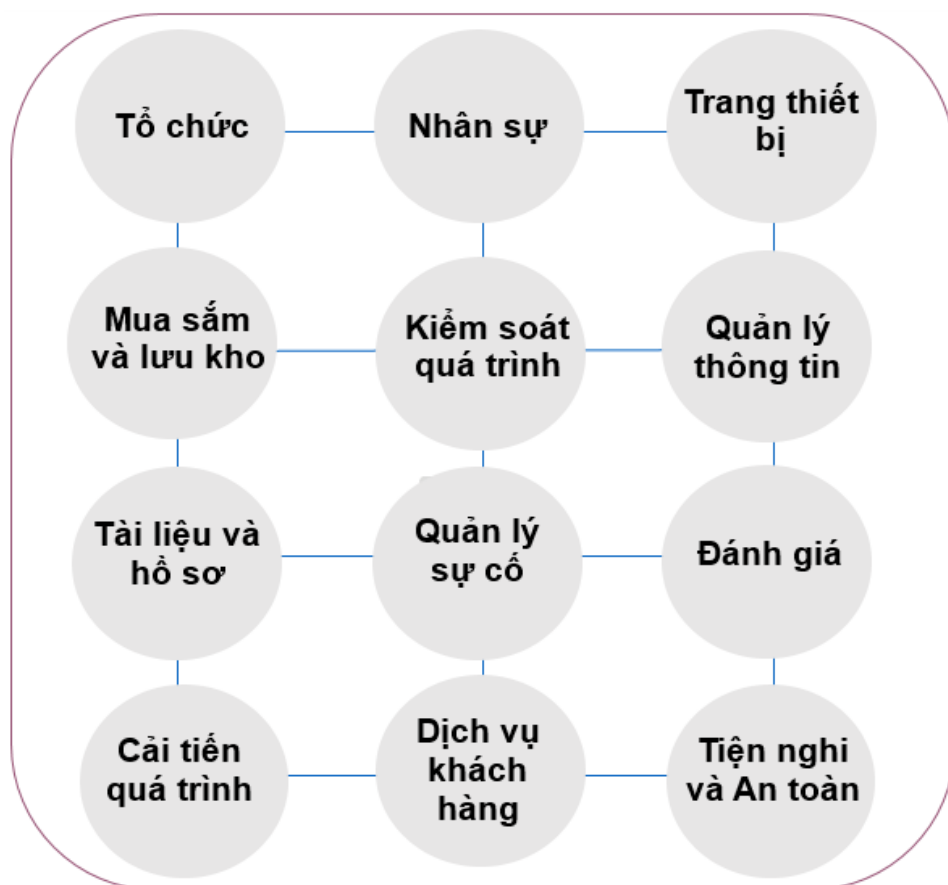
- Hệ thống quản lý chất lượng có thể được định nghĩa là "hoạt động phối hợp chỉ đạo và kiểm soát một tổ chức về chất lượng". Định nghĩa này được Tổ chức Tiêu chuẩn hoá Quốc tế (ISO) và Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm (CLSI) sử dụng.

- Trong hệ thống quản lý chất lượng, các hoạt động của phòng xét nghiệm (PXN) bao gồm cơ cấu tổ chức, các quá trình, quy trình cần xây dựng để áp dụng đảm bảo chất lượng.

3. Các thành tố trong quản lý chất lượng phòng xét nghiệm

Khi các quy trình hoạt động của phòng xét nghiệm được thiết lập dễ hiểu và phù hợp với thực tế sẽ làm tăng hiệu quả quản lý chất lượng phòng xét nghiệm. Để thuận lợi cho việc áp dụng tiêu chuẩn quốc tế trong quản lý chất lượng phòng xét nghiệm, Viện Tiêu chuẩn Phòng xét nghiệm và lâm sàng Mỹ đã xây dựng mô hình quản lý chất lượng với 12 thành tố chính của hệ thống quản lý chất lượng và cũng tương ứng với quy định đề cập trong tiêu chuẩn ISO. Các thành tố chính của hệ thống chất lượng là tập hợp các hoạt động liên kết hình thành một khối cấu trúc để thực hiện quản lý chất lượng. Việc tiếp cận và trình tự thực hiện 12 thành tố trong hệ thống quản lý chất lượng khác nhau tùy tình hình thực tế của mỗi phòng xét nghiệm.

Tính chính xác và độ tin cậy của kết quả xét nghiệm được đánh giá thông qua chuỗi đường đi công việc và phụ thuộc vào việc quản lý tốt tất cả các thành tố của hệ thống quản lý chất lượng.



Hình 16. Mô hình 12 thành tố chính trong hệ thống quản lý chất lượng

3.1. Tổ chức

- Để có được một hệ thống quản lý chất lượng phù hợp với thực tế, phòng xét nghiệm phải có cơ cấu tổ chức và xây dựng quy trình quản lý để có thể thực hiện được các chính sách chất lượng đã ban hành.

- Phòng xét nghiệm y tế hoặc tổ chức mà phòng xét nghiệm là một đơn vị trực thuộc, phải có khả năng chịu trách nhiệm về mặt pháp lý.

- Dịch vụ phòng xét nghiệm y tế phải bao gồm cả dịch vụ tư vấn (giải thích đáp ứng được các nhu cầu của bệnh nhân và các bác sỹ lâm sàng trong công tác chăm sóc sức khỏe cho người bệnh).

- Lãnh đạo phòng xét nghiệm phải chịu trách nhiệm về thiết kế, thực hiện, duy trì và cải tiến hệ thống quản lý chất lượng bao gồm:

+ Xây dựng sổ tay chất lượng là tài liệu mô tả hệ thống quản lý chất lượng của phòng xét nghiệm, trong đó nêu rõ chính sách và mục tiêu của hệ thống chất lượng, cam kết của lãnh đạo phòng xét nghiệm nhằm đạt được mục tiêu chất lượng đã đề ra.

+ Xây dựng, ban hành cũng như tổ chức hướng dẫn cho nhân viên để họ tuân thủ theo hệ thống tài liệu quản lý chất lượng.

+ Bổ nhiệm vị trí cấp phó cho các vị trí chủ chốt để đảm bảo có người thay thế khi cấp trưởng vắng mặt.

+ Bổ nhiệm các vị trí chủ chốt trong hệ thống chất lượng: quản lý chất lượng, quản lý kỹ thuật...

3.2. Nhân sự

- Nhân sự là nguồn lực quan trọng nhất của phòng xét nghiệm. Nhân viên phòng xét nghiệm cần có vốn kiến thức phù hợp và có đủ kinh nghiệm để thực hiện các nhiệm vụ được giao. Phòng xét nghiệm cần có đủ nhân viên để đáp ứng công việc được giao cũng như thực hiện các chức năng khác của hệ thống quản lý chất lượng.

- Lãnh đạo phòng xét nghiệm cần xây dựng sơ đồ tổ chức, chính sách về nhân sự và bản mô tả công việc, xác định trình độ và nhiệm vụ cho từng nhân viên.

- Lãnh đạo phòng xét nghiệm cần duy trì hồ sơ về trình độ chuyên môn, đào tạo, kinh nghiệm và năng lực của tất cả các nhân viên.

- Lãnh đạo phòng xét nghiệm cần phân công nhân viên thực hiện nhiệm vụ cụ thể như: lấy mẫu, xét nghiệm và vận hành thiết bị cụ thể, thực hiện kiểm tra đánh giá chất lượng xét nghiệm, nhân viên sử dụng hệ thống máy tính (có thể tiếp cận vào dữ liệu của bệnh nhân) và nhân viên có thẩm quyền tiếp cận và sửa đổi kết quả của bệnh nhân, hoặc thay đổi chương trình máy tính.

- Nhân viên phòng xét nghiệm cần được đào tạo về đảm bảo chất lượng và quản lý chất lượng đối với dịch vụ xét nghiệm của phòng xét nghiệm.

- Lãnh đạo phòng xét nghiệm cần xây dựng chương trình đào tạo liên tục cho nhân viên ở mọi cấp.

- Nhân viên phòng xét nghiệm phải được đào tạo để phòng ngừa hoặc ngăn chặn ảnh hưởng của sự cố bất lợi.

- Nhân viên mới phải được tham gia lớp định hướng và đào tạo trước khi được phân công nhiệm vụ. Sau khi đào tạo, nhân viên được đánh giá năng lực để chứng tỏ đã thực hiện thành thạo thì mới chính thức làm việc độc lập. Ngoài ra việc đào tạo cũng được áp dụng khi có thay đổi phương pháp mới hoặc thay đổi thiết bị sử dụng...

- Phòng xét nghiệm cần thực hiện đánh giá năng lực của mỗi nhân viên trước khi phân công nhiệm vụ cụ thể bằng hình thức đánh giá sau khi đào tạo và định kỳ đánh giá hàng năm.

- Nhân viên được phân công phân tích và nhận định kết quả xét nghiệm cần được đào tạo ban đầu về lý thuyết phù hợp cũng như có kinh nghiệm thực tế.

- Tất cả các nhân viên phải cam kết bảo mật thông tin liên quan tới bệnh nhân.

3.3. Trang thiết bị

- Phòng xét nghiệm cần trang bị đủ các thiết bị đảm bảo dịch vụ xét nghiệm (bao gồm lấy mẫu ban đầu và chuẩn bị mẫu, quá trình xử lý, xét nghiệm và lưu giữ).

- Khi sử dụng thiết bị cần tính đến việc tiêu thụ năng lượng và thanh lý trong tương lai.

- Phòng xét nghiệm cần thiết lập chương trình bảo trì, phòng ngừa và ghi lại việc bảo trì, phòng ngừa, tối thiểu chương trình bảo trì phải tuân thủ theo khuyến nghị của nhà sản xuất.

- Chỉ những nhân viên được phân công mới được vận hành thiết bị. Cần sẵn có những hướng dẫn vận hành và bảo trì thiết bị cập nhật cho nhân viên sử dụng (bao gồm các sổ tay và hướng dẫn sử dụng thích hợp do nhà sản xuất thiết bị cung cấp).

- Thiết bị cần được duy trì trong tình trạng làm việc an toàn. Nhân viên được phân công kiểm tra an toàn điện, cách dùng khẩn cấp và bảo quản và xử lý an toàn hóa chất, chất phóng xạ và sinh học.

- Khi phát hiện thiết bị bị hỏng, không sử dụng, cần dán nhãn rõ ràng và được lưu giữ thích hợp cho đến khi thiết bị này được sửa chữa và được hiệu chuẩn, kiểm định hoặc được chạy thử đáp ứng các tiêu chuẩn đã được quy định. Phòng xét nghiệm phải kiểm tra ảnh hưởng của việc hư hỏng này đối với việc xét nghiệm trước đó.

- Tất cả các thiết bị thuộc kiểm soát của phòng xét nghiệm cần phải hiệu chuẩn hoặc kiểm định phải được dán nhãn hoặc đánh dấu nhận biết chỉ tình trạng hiệu chuẩn hoặc kiểm định và ngày cần hiệu chuẩn lại hoặc kiểm định lại.

- Khi thiết bị nằm ngoài tầm kiểm soát trực tiếp, phòng xét nghiệm phải đảm bảo thiết bị được kiểm tra và đạt yêu cầu trước khi thiết bị này được sử dụng lại.

- Thiết bị bao gồm cả phần cứng, phần mềm, chất chuẩn, vật liệu tiêu dùng, thuốc thử và hệ thống phân tích cần được bảo vệ an toàn tránh điều chỉnh hoặc can thiệp có thể làm cho kết quả xét nghiệm không có giá trị.

3.4. Mua sắm và lưu kho

Lãnh đạo phòng xét nghiệm cần xác định và xây dựng chính sách, quy trình lựa chọn và sử dụng dịch vụ mua từ bên ngoài. Phòng xét nghiệm phải đánh giá nhà cung cấp các hóa chất, sinh phẩm, hàng hóa, vật tư có ảnh hưởng đến chất lượng xét nghiệm và phải duy trì hồ sơ việc đánh giá cũng như danh sách nhà cung cấp được chấp nhận.

Các hạng mục được mua phải đáp ứng yêu cầu về chất lượng. Phòng xét nghiệm cũng cần thiết lập quy trình kiểm tra, chấp nhận/ từ chối và bảo quản vật tư tiêu hao. Thiết bị, sinh phẩm và vật tư tiêu hao cần được kiểm tra phù hợp với các quy định kỹ thuật trước khi đưa vào sử dụng. Duy trì hồ sơ chất lượng của dịch vụ, ghi lại số lô của tất cả các thuốc thử, kiểm tra chất lượng, ngày nhập và ngày được đưa vào sử dụng. Phòng xét nghiệm cần thiết lập hệ thống kiểm kê hàng hóa cung cấp từ bên ngoài. Tất cả hồ sơ chất lượng này luôn sẵn có để Lãnh đạo phòng xét nghiệm xem xét.

3.5. Kiểm soát quá trình

Kiểm soát quá trình bao gồm các thành tố quan trọng đảm bảo chất lượng trong quá trình xét nghiệm. Các thành tố này bao gồm: Kiểm soát chất lượng; quản lý mẫu phù hợp (gồm lấy mẫu và nhận mẫu) và kiểm tra, thẩm định quy trình xét nghiệm.

Kiểm soát chất lượng là một thực hành chất lượng đầu tiên được phòng xét nghiệm sử dụng và đóng vai trò quan trọng trong quá trình đảm bảo tính chính xác của xét nghiệm.

Phòng xét nghiệm phải xây dựng hướng dẫn cách lấy mẫu và cung cấp tới các đơn vị sử dụng dịch vụ xét nghiệm.

Việc quản lý mẫu ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm và ảnh hưởng tới công tác chăm sóc người bệnh. Vì vậy, phòng xét nghiệm cần xây dựng và hướng dẫn thực hiện bảo quản mẫu, xử lý mẫu bệnh phẩm. Phòng xét nghiệm phải đảm bảo các quy định này đều được tuân thủ chặt chẽ và đảm bảo có thể truy xuất nguồn gốc của mẫu đang được lưu giữ tại phòng xét nghiệm trong trường hợp cần thiết.

Tất cả các quy trình xét nghiệm cần được thẩm định để đảm bảo phù hợp với mục đích sử dụng trước khi quy trình này được ban hành.

Kiểm soát chất lượng nội bộ: Lãnh đạo phòng xét nghiệm phải xây dựng và ban hành chính sách, quy trình kiểm soát chất lượng nội bộ. Tổ chức đào tạo nhân viên theo đúng các chính sách và quy trình được đưa ra áp dụng. Lãnh đạo phòng xét nghiệm chỉ định từng cá nhân chịu trách nhiệm việc giám sát và xem xét các quá trình đảm bảo chất lượng. Theo đó, tất cả các lô thuốc thử mới trước khi đưa vào sử dụng phải được kiểm tra bằng việc sử dụng các mẫu và/ hoặc chất liệu tham chiếu có sẵn trên thị trường. Các dụng cụ, thiết bị sử dụng trong quá trình trước, trong và sau xét nghiệm cần phải được duy trì và kiểm soát để đảm bảo các điều kiện về dụng cụ thiết bị xét nghiệm luôn chính xác. Tất cả các xét nghiệm cần chạy kiểm tra chất lượng (QC) song song với mỗi lần chạy mẫu xét nghiệm lâm sàng. Thực hiện việc giám sát, theo dõi kết quả chạy QC. Nếu kết quả QC vượt khỏi giới hạn cho phép, nhân viên xét nghiệm không được trả kết quả cho bệnh nhân và phải báo ngay với người có thẩm quyền để có hành động hiệu chỉnh thích hợp. Chỉ trả kết quả cho bệnh nhân khi sự cố đã được giải quyết. Tất cả các kết quả chạy kiểm tra chất lượng cũng như hành động khắc phục khi có sự cố đều phải lưu lại hồ sơ và dễ truy cập khi cần thiết.

3.6. Quản lý thông tin

Sản phẩm của phòng xét nghiệm là kết quả báo cáo trong phiếu kết quả xét nghiệm. Vì vậy, dữ liệu (thông tin) trong phòng xét nghiệm cần được quản lý cẩn thận đảm bảo tính bảo mật thông tin. Thông tin có thể được quản lý dưới hình thức lưu giữ bằng bản cứng hoặc được lưu giữ trong hệ thống máy tính hoặc cả hai.

Quản lý thông tin là hệ thống kết hợp chặt chẽ toàn bộ quá trình thực hiện bao gồm thông tin đầu vào (mẫu bệnh phẩm) và thông tin đầu ra (kết quả xét nghiệm). Phòng xét nghiệm cần xây dựng hệ thống mã hóa mẫu bệnh phẩm của bệnh nhân. Biểu mẫu yêu cầu xét nghiệm, sổ ghi chép cũng rất quan trọng trong hệ thống quản lý thông tin cũng cần phải được chuẩn hóa. Cần áp dụng hệ thống kiểm tra để ngăn ngừa sai sót có thể xảy ra. Phòng xét nghiệm cần có kế hoạch và đào tạo trước khi áp dụng hệ thống quản lý thông tin để đạt được hiệu quả cao.

Một hệ thống quản lý thông tin tốt sẽ:

- Đảm bảo quản lý tốt tất cả các sản phẩm cuối cùng của phòng xét nghiệm - kết quả xét nghiệm;

- Xem xét đến các phương thức sử dụng dữ liệu của phòng xét nghiệm khi lập kế hoạch hệ thống quản lý thông tin;
- Đảm bảo dễ tiếp cận, chính xác, kịp thời và an toàn của dữ liệu;
- Đảm bảo bảo mật thông tin cá nhân của bệnh nhân.

3.7. Tài liệu và hồ sơ

Phòng xét nghiệm cần xác định, lập văn bản và duy trì quy trình kiểm soát tất cả các tài liệu và thông tin thuộc hệ thống chất lượng (các tài liệu nội bộ hoặc có nguồn gốc từ bên ngoài). Thiết lập một danh mục tình trạng ban hành hiện thời mới nhất của từng tài liệu. Xác định thời gian lưu giữ và phải được người có thẩm quyền xem xét và phê chuẩn trước khi sử dụng, phân phối tài liệu trong hệ thống quản lý (hồ sơ phải được lưu giữ tối thiểu là 5 năm). Phòng xét nghiệm phải sẵn có tài liệu có hiệu lực hiện thời thích hợp để sử dụng tại các vị trí liên quan.

Các tài liệu của phòng xét nghiệm cần được định kỳ soát xét bởi những người có thẩm quyền. Các tài liệu không còn hiệu lực hoặc lỗi thời phải bị thu hồi ở tất cả các nơi ban hành.

Phòng xét nghiệm cần thiết lập và duy trì qui trình nhận biết, tập hợp, đánh số, tiếp cận, lập file (tệp), lưu trữ, và thanh lý các hồ sơ chất lượng và kỹ thuật.

Tất cả các hồ sơ phải rõ ràng, được lưu giữ và được bảo quản sao cho có thể dễ dàng truy tìm. Các hồ sơ có thể được lưu giữ theo cách thích hợp phù hợp với các quy định của địa phương hoặc quốc gia. Hệ thống tài liệu và hồ sơ cần được lưu giữ ở nơi thích hợp để ngăn chặn hư hỏng, phòng ngừa mất mát hoặc những người không có thẩm quyền truy cập.

Phòng xét nghiệm cần xác định thời gian lưu hồ sơ của hệ thống quản lý chất lượng và kết quả xét nghiệm, dựa vào tính chất của xét nghiệm hoặc chủng loại và thông tin trong từng hồ sơ.

3.8. Quản lý sự cố

Quản lý sự cố hoặc giải quyết sai sót đều quan trọng để đảm bảo chất lượng trong phòng xét nghiệm. Quản lý sự cố là một trong 12 thành tố chất lượng cần được phòng xét nghiệm áp dụng trong hệ thống quản lý chất lượng.

Phòng xét nghiệm nên thiết lập hệ thống điều tra ngay các sai sót bao gồm các bước sau:

- Thiết lập quá trình phát hiện sự cố. Lưu giữ hồ sơ tất cả các vấn đề đã phát hiện. Điều tra và phân tích nguyên nhân của sự cố, thực hiện hành động cần thiết

(khắc phục, sửa chữa), nếu vấn đề được phát hiện trước khi xảy ra cần thực hiện hành động phòng ngừa;

- Cung cấp thông tin tới những người có liên quan và những người bị ảnh hưởng từ sự cố đã xảy ra.

Chủ động tìm sai sót tiềm ẩn để ngăn ngừa trước khi xảy ra sai sót trong thực tế. Cuối cùng, cần lưu giữ đầy đủ hồ sơ việc đã thực hiện điều tra và thực hiện hành động khắc phục.

Sự khác biệt giữa một phòng xét nghiệm áp dụng hệ thống quản lý chất lượng so với phòng xét nghiệm không áp dụng hệ thống quản lý chất lượng phù hợp là phòng xét nghiệm áp dụng hệ thống quản lý chất lượng phát hiện được vấn đề, thực hiện điều tra và thực hiện hành động khắc phục.

3.9. Đánh giá

3.9.1. Đánh giá nội bộ

Để kiểm tra lại năng lực hoạt động và nhận biết các lĩnh vực cần cải tiến, Phòng xét nghiệm cần thiết lập các công cụ đánh giá, áp dụng các tiêu chuẩn nội bộ hay bên ngoài (chuẩn quốc gia hay quốc tế) để đánh giá hoạt động của phòng xét nghiệm (Phòng xét nghiệm có thể tham khảo “tiêu chí đánh giá chất lượng bệnh viện” ban hành kèm theo Quyết định số 4858/QĐ-BYT ngày 03/12/2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế). Việc đánh giá nội bộ và kiểm tra hệ thống quản lý chất lượng thực hiện định kỳ, ít nhất 12 tháng một lần. Để đánh giá nội bộ, lãnh đạo phòng xét nghiệm phải thành lập nhóm đánh giá. Nhóm đánh giá có nhiệm vụ lên kế hoạch và thông báo tới bộ phận nội dung sẽ được đánh giá bao gồm:

Kiểm tra các hoạt động đang tiếp tục phù hợp với hệ thống quản lý chất lượng, đánh giá nội bộ tất cả các yếu tố của hệ thống quản lý và kỹ thuật.

Áp dụng các tiêu chuẩn nội bộ hay bên ngoài để đánh giá hệ thống và đưa ra hành động khắc phục hoặc phòng ngừa khi cần thiết.

Sau khi đánh giá, nhóm đánh giá phải trình kết quả đánh giá lên ban lãnh đạo xem xét và đưa ra hành động khắc phục cần thiết.

3.9.2 Đánh giá từ bên ngoài

Đánh giá là một thành tố quan trọng của quản lý chất lượng phòng xét nghiệm. Quản lý chất lượng có thể được thực hiện dưới nhiều hình thức. Một trong những hình thức phổ biến là đánh giá chất lượng bên ngoài (EQA).

Phòng xét nghiệm cần phải tham gia vào các chương trình đánh giá chất lượng bên ngoài (EQAS) nhằm mục đích giúp phòng xét nghiệm so sánh năng lực của mình với phòng xét nghiệm khác và kiểm soát để đảm bảo chất lượng quá trình thử nghiệm. Nếu những xét nghiệm nào không có sẵn trong chương trình EQA tại Việt Nam, phòng xét nghiệm có thể tham gia vào các chương trình của Quốc tế hoặc thực hiện so sánh liên phòng xét nghiệm với các phòng xét nghiệm khác. Các kết quả đánh giá từ bên ngoài cần phải được lãnh đạo phòng xem xét và lưu hồ sơ.

Thử nghiệm thành thạo: Đây là một hình thức của chương trình đánh giá chất lượng từ bên ngoài (EQA). Tổ chức bên ngoài cung cấp mẫu tới nhiều phòng xét nghiệm để thực hiện xét nghiệm và phân tích, so sánh đánh giá và báo cáo kết quả tới các phòng xét nghiệm đã tham gia. EQA là hệ thống kiểm tra khách quan năng lực kỹ thuật của phòng xét nghiệm do tổ chức bên ngoài thực hiện. Tất cả các phòng xét nghiệm tham gia EQA cho tất cả các chỉ tiêu xét nghiệm đã thực hiện. Phòng xét nghiệm được công nhận cũng được yêu cầu tham gia EQA.

3.9.3 Đánh giá từ tổ chức công nhận

Tổ chức công nhận: Tổ chức có thẩm quyền thực hiện hoạt động công nhận.

Công nhận: Xác nhận sự phù hợp của bên thứ 3 đối với tổ chức đánh giá sự phù hợp để thể hiện sự thừa nhận chính thức năng lực tiến hành hoạt động đánh giá sự phù hợp cụ thể của tổ chức đó.

Công nhận cung cấp mức đảm bảo cao nhất phòng xét nghiệm có năng lực kỹ thuật và kết quả xét nghiệm là tin cậy và chính xác thông qua hoạt động đánh giá và công nhận. Công nhận là một trong các bước quan trọng của cải tiến liên tục hệ thống quản lý chất lượng.

3.10. Cải tiến quá trình

Lãnh đạo phòng xét nghiệm phải xây dựng và ban hành chính sách và quy trình cải tiến liên tục trong đó bao gồm xây dựng kế hoạch và mục tiêu chất lượng thông qua giám sát kết quả đánh giá nội bộ, đánh giá từ bên ngoài, đánh giá chất lượng, kiểm soát chất lượng để từ đó tìm cơ hội cải tiến:

Phòng xét nghiệm tham gia vào các hoạt động *Cải tiến* liên tục đối với các lĩnh vực có liên quan đến hệ thống quản lý chất lượng. Lãnh đạo phòng xét nghiệm chịu trách nhiệm thực hiện quá trình *Cải tiến* liên tục và giao nhiệm vụ cho nhân viên *Quản lý chất lượng* chịu trách nhiệm giám sát quá trình.

Hàng năm, lãnh đạo phòng xét nghiệm phải họp xem xét định kỳ hệ thống quản lý chất lượng và các tài liệu khác để cập nhật kịp thời các thay đổi về công nghệ cũng như xem xét một cách có hệ thống quá trình xét nghiệm đánh giá các tiêu chuẩn chỉ số chất lượng như: Thời gian trả kết quả xét nghiệm, độ chính xác của kết quả, số lượng khiếu nại thu được, kết quả ngoại kiểm (EQA), các hồ sơ đào tạo... để phân loại những thay đổi cần được *Cải tiến* và ưu tiên cho những vấn đề chính và có khả năng thực hiện, đánh giá các giải pháp thay thế.

Xây dựng và thực hiện các công cụ theo dõi việc cải tiến (như các chỉ số chất lượng, kiểm tra nội bộ và bên ngoài, đánh giá sự hài lòng của khách hàng, đảm bảo chất lượng, xem xét của lãnh đạo).

Bên cạnh đó lãnh đạo phòng xét nghiệm phải tạo cơ hội học tập và đào tạo cho tất cả nhân viên, đây là một phần của cải tiến chất lượng.

Lưu giữ hồ sơ kế hoạch cải tiến chất lượng, quy trình thực hiện cải tiến chất lượng, khung thời gian thực hiện, các biện pháp thực hiện.

3.11. Dịch vụ khách hàng

Dịch vụ khách hàng là một phần không thể thiếu của hệ thống quản lý chất lượng. Phòng xét nghiệm phải xây dựng chính sách, quy trình và cung cấp các dịch vụ tư vấn cho khách hàng. Lãnh đạo phòng xét nghiệm chỉ định các nhân viên có trình độ làm nhiệm vụ tư vấn cho khách hàng về việc lựa chọn các xét nghiệm. và có thể diễn giải kết quả xét nghiệm cho khách hàng. Lãnh đạo phòng xét nghiệm sẽ chịu trách nhiệm cung cấp thêm thông tin hoặc bất cứ vấn đề gì khi khách hàng có yêu cầu.

Phòng xét nghiệm phải xây dựng chính sách và quy trình giải quyết khiếu nại của khách hàng. Tất cả nhân viên đều có trách nhiệm báo cáo những khiếu nại từ khách hàng thông qua văn bản hay qua lời nói. Các khiếu nại sẽ được ghi nhận, điều tra và đưa ra *Hành động khắc phục* (nếu cần thiết).

Hàng năm, phòng xét nghiệm cần thực hiện khảo sát sự hài lòng của khách hàng nhằm thu thập thông tin ở mọi khía cạnh bao gồm các đề xuất.

3.12. Tiện nghi và an toàn

Khu vực làm việc và điều kiện môi trường của phòng xét nghiệm phải được thiết kế phù hợp để ngăn ngừa những tác động bất lợi đến chất lượng xét nghiệm cũng như an toàn cho nhân viên. Kiểm soát lối ra vào khu vực xét nghiệm cũng như

đảm bảo bệnh nhân và các mẫu bệnh phẩm không đi chung đường. Khu vực xét nghiệm luôn được duy trì sạch sẽ và ngăn nắp nhằm ngăn ngừa việc nhiễm bẩn từ mẫu bệnh phẩm.

Các khu vực có hoạt động không tương thích phải được bố trí tách biệt để không làm ảnh hưởng đến chất lượng xét nghiệm, phải có hệ thống dự trữ điện cho các thiết bị quan trọng. Giám sát và ghi lại điều kiện môi trường nếu trong quy định kỹ thuật yêu cầu hoặc những nơi có ảnh hưởng đến chất lượng kết quả xét nghiệm. Ngừng thực hiện xét nghiệm khi điều kiện môi trường không phù hợp hoặc có thể ảnh hưởng bất lợi đến việc kiểm soát chất lượng.

Lãnh đạo phòng xét nghiệm phải xây dựng và ban hành chính sách, quy trình bảo vệ an toàn và sức khỏe cho tất cả nhân viên theo tiêu chuẩn quốc gia và các phòng ngừa chung về an toàn: an toàn chung, an toàn lây nhiễm, an toàn hóa chất, biện pháp kiểm soát những mẫu bệnh phẩm nguy hiểm, biện pháp kiểm soát sự nguy hiểm, biện pháp phòng ngừa...

Định hướng và đào tạo cho tất cả nhân viên về quy trình làm việc phù hợp với các chính sách và quy trình về an toàn phòng xét nghiệm. Thực hiện đánh giá và kiểm tra định kỳ về an toàn phòng xét nghiệm.

Các dữ liệu về những tai nạn, bệnh tật hoặc thương tổn xảy ra trong phòng xét nghiệm cần phải lưu thành hồ sơ và được xem xét ở cuộc họp lãnh đạo phòng xét nghiệm.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

1. Điền vào chỗ trống:

Quản lý chất lượng là một loạt các hoạt động có phối hợp để định hướng và kiểm soát một về

2. Hoạch định chất lượng là một phần của quản lý chất lượng tập trung vào việc lập và qua định các quá trình tác nghiệp cần thiết và các nguồn lực có liên quan để thực hiện các mục tiêu chất lượng.

3. Hệ thống quản lý chất lượng (Quality Management System - QMS) là:

a. Những phép đo bắt buộc trong quá trình xét nghiệm nhằm kiểm định xem các phép đo có đúng hay không.

b. Chương trình tổng thể nhằm đảm bảo rằng kết quả xét nghiệm cuối cùng là đúng.

c. Các hoạt động phối hợp chỉ đạo và kiểm soát một tổ chức về chất lượng

4. Khi thực hiện quản lý chất lượng cho phép phòng xét nghiệm:

a. Phân biệt được phương pháp xét nghiệm định lượng và định tính .

b. Đảm bảo không xảy ra các sai sót/lỗi trong quá trình thực hiện.

c. Phòng ngừa, phát hiện lỗi/sự cố trong quá trình hoạt động qua đó đảm bảo kết quả xét nghiệm là chính xác và đáng tin cậy.

d. Giúp lãnh đạo phòng xét nghiệm quản lý dễ dàng các hoạt động của phòng xét nghiệm.

5. Hệ thống quản lý chất lượng bao gồm bao nhiêu thành tố?

a. 6

b. 8

c. 10

d. 12

6. Thành tố nào dưới đây không thuộc trong 12 thành tố của hệ thống quản lý chất lượng:

a. Quản lý trang thiết bị

b. Quản lý nhân sự

c. Lựa chọn khách hàng

d. Kiểm soát quá trình

7. Ví dụ nào dưới đây thuộc tài liệu:

- a. Bảng theo dõi nhiệt độ tủ lạnh đã điền thông tin
- b. Sổ tay chất lượng
- c. Sổ xét nghiệm đã ghi kết quả

8. Thiết kế phòng xét nghiệm quan trọng vì:

- a. Ngăn ngừa lây nhiễm chéo và đảm bảo an toàn cho nhân viên.
- b. Không lây bệnh cho bên ngoài cộng đồng.
- c. Giảm thiểu các sai sót trong quá trình xét nghiệm.

9. Kiểm soát tài liệu là:

- a. Cơ chế đảm bảo chỉ giữ lại và áp dụng các phiên bản mới nhất của một văn bản đã được phê duyệt.
- b. Cơ chế kiểm soát các văn bản cũ và mới. Trong đó, văn bản mới nhất đã phê duyệt được áp dụng vào hoạt động của phòng xét nghiệm, văn bản cũ hơn được lưu giữ để tra cứu.
- c. Cơ chế đảm bảo chỉ giữ lại và áp dụng các phiên bản mới nhất của một văn bản đã được phê duyệt và loại bỏ các văn bản đã lỗi thời.

10. Chương trình ngoại kiểm tra đánh giá độ thành thạo (EQA-PT) là chương trình:

- a. Được cán bộ phòng xét nghiệm thực hiện để giám sát kết quả xét nghiệm của các ngày khác nhau.
- b. Được thực hiện bởi một cơ quan bên ngoài triển khai để đánh giá định kỳ và mang tính hồi cứu việc thực hiện của phòng xét nghiệm.
- c. Được thực hiện bởi một đơn vị độc lập của đơn vị triển khai để đánh giá định kỳ và mang tính hồi cứu việc thực hiện của phòng xét nghiệm.
- d. Được thực hiện bởi ban giám đốc của đơn vị để đánh giá năng lực của cán bộ xét nghiệm.

11. Lãnh đạo phòng xét nghiệm phải chịu trách nhiệm về thiết kế, thực hiện, duy trì và cải tiến hệ thống quản lý chất lượng?

- a. Đúng
- b. Sai

12. Thiết bị được bảo dưỡng và vận hành tốt nhằm đảm bảo:

- a. Kéo dài tuổi thọ thiết bị và ngăn ngừa sự cố về thiết bị
- b. Kéo dài tuổi thọ thiết bị và đảm bảo thiết bị không bị hỏng
- c. Kết quả xét nghiệm chính xác và tin cậy
- d. Câu (a) và (c)
- e. Cả (a), (b) và (c)

BÀI 5. TIÊU CHUẨN PHÒNG XÉT NGHIỆM VÀ SẮP XẾP BỐ TRÍ PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có thể:

1. Trình bày các tiêu chuẩn phòng xét nghiệm.
2. Thực hành sắp xếp bố trí phòng xét nghiệm.

THỜI GIAN HỌC TẬP: 90 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức về cách thức thiết lập một phòng xét nghiệm tiêu chuẩn. Trước hết bài viết trình bày về các quy tắc cơ bản thiết kế phòng xét nghiệm, sau đó bài viết đề cập các nội dung liên quan tới sắp xếp, bố trí trang thiết bị trong phòng xét nghiệm.

1. Tiêu chuẩn phòng xét nghiệm

1.1. Mở đầu

Không gian làm việc và cơ sở hạ tầng của phòng xét nghiệm phải được sắp đặt sao cho khối lượng công việc của phòng xét nghiệm có thể được thực hiện mà không ảnh hưởng đến chất lượng công việc cũng như sự an toàn cho nhân viên phòng xét nghiệm, nhân viên chăm sóc sức khỏe khác, bệnh nhân và cộng đồng. Học phần này sẽ mô tả các yếu tố cần thiết cho thiết kế nhằm ngăn chặn và kiểm soát việc tiếp xúc với các nguy hiểm vật lý, hóa học và sinh học trong phòng xét nghiệm.

Nguyên tắc chung, tất cả các phòng xét nghiệm chẩn đoán cần được thiết kế và tổ chức ở mức an toàn sinh học cấp 2, hoặc cao hơn.

Thiết kế phòng xét nghiệm rất quan trọng để bảo đảm sức khỏe của nhân viên và bệnh nhân, để bảo vệ trang thiết bị phòng xét nghiệm, cơ sở vật chất và bảo vệ môi trường.

Đảm bảo chất lượng và an toàn trong quá trình xét nghiệm là mối quan tâm rất lớn của các nhà quản lý phòng xét nghiệm. Thông thường, các phòng xét nghiệm được thiết kế bởi kiến trúc sư và/hoặc nhà quản lý có ít kiến thức về nhu cầu phòng xét nghiệm cụ thể, làm cho công việc của người quản lý phòng xét nghiệm khó khăn hơn.

1.2. Trách nhiệm

1.2.1. Với vai trò phụ trách phòng xét nghiệm, điều quan trọng là:

- Tích cực tham gia vào thiết kế và quy hoạch cho phòng xét nghiệm mới;
- Đánh giá tất cả các nguy cơ tiềm ẩn và áp dụng các dự phòng cơ bản để cung cấp một môi trường thích hợp và an toàn cho hoạt động phòng xét nghiệm, bao gồm cả việc phục vụ bệnh nhân;
- Xem xét việc tổ chức phòng xét nghiệm khi phát triển các hoạt động mới hoặc các kỹ thuật chẩn đoán mới trong phòng xét nghiệm.

1.2.2. Với vai trò một quản lý chất lượng (hoặc nhân viên an toàn được chỉ định), cần lưu ý:

- Xây dựng bản mô tả chi tiết các quy tắc an toàn cơ bản và đảm bảo rằng nhân viên được đào tạo đúng với nhiệm vụ cụ thể của họ khi hoạt động hoặc các kỹ thuật mới được triển khai tại phòng xét nghiệm;
- Nắm những nguyên tắc cơ bản về quản lý an toàn sinh học và an toàn khi làm việc với hóa chất và các tác nhân gây bệnh;
- Biết cách tiến hành đánh giá nguy cơ mở rộng khi phát triển các hoạt động mới trong phòng xét nghiệm;
- Tiến hành kiểm tra an toàn phòng xét nghiệm.

1.2.3. Với vai trò một nhân viên phòng xét nghiệm, điều quan trọng là:

- Nhận thức được các quy tắc và quy trình thực hành an toàn cơ bản;
- Hiểu nguyên lý của vấn đề quản lý an toàn sinh học và an toàn khi làm việc với hóa chất độc hại, các mẫu sinh học, môi nguy vật lý và khi tiếp xúc với bệnh nhân.

Như vậy, tất cả mọi người trong phòng xét nghiệm đều chịu trách nhiệm về chất lượng và an toàn.

1.3. Nguyên tắc chung

Khi thiết kế một phòng xét nghiệm hoặc luồng công việc, cần đảm bảo rằng bệnh nhân và các mẫu bệnh phẩm không có đường đi chung. Luồng công việc nên được thiết kế sao cho tiếp xúc giữa vật liệu thông thường và sinh học chỉ có thể xảy ra tại phòng lấy mẫu. Các bàn tiếp nhận, nơi bệnh nhân đến đăng ký phải được đặt càng gần cửa ra - vào càng tốt.

Ra - vào phòng phân tích mẫu và nơi lưu trữ hóa chất độc hại hoặc các vật liệu khác cần được giới hạn, thường chỉ có nhân viên kỹ thuật của phòng xét nghiệm và nhân viên bảo trì mới được phép ra - vào.

Hạn chế ra - vào có thể được thực hiện bằng cách dán nhãn cảnh báo trên cửa ra - vào, khóa khi thích hợp, và bảng tên nhân viên.

2. Hướng dẫn thiết kế phòng xét nghiệm

2.1. Luồng công việc

Để xác định những cải tiến cần thiết trong thiết kế phòng xét nghiệm để ngăn chặn hoặc làm giảm nguy cơ lây nhiễm chéo, đi theo con đường của mẫu khi di chuyển qua các phòng xét nghiệm qua các giai đoạn trước, trong và sau xét nghiệm; cần đánh giá:

- Các khu vực lấy mẫu: bố trí khu vực tiếp nhận bệnh nhân và lấy mẫu ngay tại lối ra - vào nhằm tiết kiệm thời gian và năng lượng.

- Khu vực xử lý mẫu: Mẫu được ly tâm và phân chia cho các thử nghiệm khác nhau nếu cần, rồi phân bổ đến các vị trí thích hợp của phòng xét nghiệm để phân tích. Nếu có thể, bố trí vị trí khu vực xử lý mẫu cách biệt nhưng gần các khu vực thử nghiệm.

- Đường đi của các mẫu sinh học giữa các khu vực của phòng xét nghiệm: cần được xem xét với mục đích giảm nguy cơ lây nhiễm đến mức tối thiểu. Nếu có thể, cần thiết kế sao cho vật liệu sạch và bẩn trong phòng xét nghiệm không đi chung đường và chất thải nhiễm nên có đường đi cách biệt.

- Đường đi sau phân tích: Kết quả phải được ghi chép chính xác và chuyển đúng thời hạn đến đúng người. Hệ thống thông tin cần phù hợp với quy mô phòng xét nghiệm và việc trao đổi thông tin một cách hiệu quả và đáng tin cậy cũng nên được xem là một phần của thiết kế phòng xét nghiệm.

Lưu ý: để việc thiết kế hiệu quả nhất, tất cả các dịch vụ liên quan nên được đặt gần nhau.

2.2. Phân phối công việc

Khi sắp xếp không gian làm việc trong phòng xét nghiệm, cần phân chia thành các khu vực kiểm soát ra - vào khác nhau để tránh bệnh nhân tiếp xúc với các mẫu sinh học.

Để có sắp xếp tối ưu cho phòng xét nghiệm, cần xem xét:

- Có ranh giới cho các hoạt động khác nhau: chú ý đến cả nhóm hoạt động trong một phòng duy nhất, hoặc phân định rõ ranh giới khu vực bàn làm việc cho các hoạt động cụ thể. Phải có biện pháp để ngăn ngừa nhiễm chéo mẫu.

- Vị trí các phòng sấy rửa và khử trùng, phòng chuẩn bị môi trường nuôi cấy nên được đặt trong một khu vực trung tâm để giảm thiểu khoảng cách và thuận tiện cho việc di chuyển của các vật liệu, mẫu và dụng cụ khác. Cần chỉ định một nhân viên chịu trách nhiệm để giám sát việc vệ sinh và bảo trì thiết bị các phòng này.

- Vị trí của các hoạt động với yêu cầu cụ thể, ví dụ như:

+ Sinh học phân tử: cần phải được bố trí trong một không gian riêng biệt, có ít nhất hai phòng, để việc tách chiết DNA không được thực hiện trong cùng phòng mà các bước tiếp theo (chuẩn bị hỗn hợp phản ứng và khuếch đại DNA) được thực hiện;

+ Kính hiển vi huỳnh quang đòi hỏi một phòng tối với thông gió thích hợp, nó không được sử dụng làm kho vật liệu và hóa chất khác;

+ Hệ thống UV cho chụp ảnh trên gel đòi hỏi một phòng tối và thiết bị bảo vệ mắt thích hợp.

2.3. Vị trí cho trang thiết bị

Phụ trách phòng xét nghiệm và cán bộ an toàn phải xem xét yêu cầu đặc biệt của các thiết bị khi thiết kế không gian phòng xét nghiệm. Một số điều cần xem xét là:

- Di chuyển thiết bị để lắp đặt và bảo trì: đảm bảo kích thước cửa, kích thước thang máy, ... đủ rộng cho việc di chuyển khi lắp đặt và bảo trì thiết bị.

- Nguồn điện: cần có một nguồn cung cấp điện ổn định cho các thiết bị nhạy cảm và một nguồn cung cấp điện dự phòng hoặc máy phát điện khẩn cấp trong trường hợp nguồn điện chính của phòng xét nghiệm bị cắt.

- Quản lý chất thải lỏng từ thiết bị: xử lý hóa chất, các sản phẩm và chất thải lỏng từ các thiết bị và quy trình làm việc của phòng xét nghiệm là một mối quan tâm lớn. Khi lắp đặt thiết bị trong phòng xét nghiệm, phải lưu ý đến cách xử lý các chất thải lỏng. Điều quan trọng là phải nhận thức được và tuân thủ các yêu cầu của địa phương và quốc gia về xử lý chất thải lỏng, để ngăn ngừa ô nhiễm hệ thống nước thải công cộng với tác nhân gây bệnh hoặc hoá chất độc hại.

2.4. Các yếu tố vật lý

Phòng xét nghiệm phải được thiết kế để đảm bảo thông gió thích hợp xuyên suốt, với một hệ thống thông gió hoạt động, đủ không gian cho việc di chuyển của nhân viên và xe đẩy hàng (mẫu và dụng cụ).

Phòng nên có trần cao để đảm bảo thông gió thích hợp, tường và trần nhà được sơn với sơn bóng, lau chùi được hoặc phủ bằng một loại vật liệu có thể làm sạch và khử trùng. Sàn nhà cũng phải dễ làm sạch và khử trùng, không có gờ giữa các tường và sàn nhà.

2.5. Bàn làm việc

Bàn làm việc phòng xét nghiệm phải bằng vật liệu có độ bền cao và dễ khử trùng. Nếu ngân sách cho phép, gạch men là vật liệu tốt để sử dụng cho bàn làm việc vì dễ làm sạch, chịu được các chất khử trùng và các sản phẩm làm sạch mạnh. Tuy nhiên, cần lưu ý khoảng kẽ giữa các tấm gạch có thể chứa nguồn vi sinh vật, do đó phải được khử trùng thường xuyên.

Không nên sử dụng gỗ cho mặt bàn làm việc vì khó làm sạch hoặc khử trùng và sẽ xấu đi theo thời gian khi liên tục tiếp xúc với thuốc khử trùng và chất tẩy rửa. Gỗ cũng nuôi dưỡng sự phát triển của tác nhân gây nhiễm khi bị ướt hoặc bị hư hỏng.

Bất lợi của việc sử dụng thép cho mặt bàn làm việc là thép sẽ bị rỉ sét khi khử khuẩn bằng Clo.

Sắp xếp bàn làm việc theo loại xét nghiệm thực hiện, có đủ chỗ cho các thiết bị và các SOPs, các hướng dẫn công việc. Trong khu vực làm xét nghiệm vi sinh, bàn làm việc nên được phân ra thành các khu vực theo loại mẫu hoặc tác nhân gây bệnh để giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm chéo.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

1. Nguyên tắc chung thiết kế phòng xét nghiệm chẩn đoán:

- a) Tổ chức ở mức An toàn sinh học cấp 1 trở lên.
- b) Tổ chức ở mức An toàn sinh học cấp 2 trở lên
- c) Sắp đặt sao cho khối lượng công việc của phòng xét nghiệm có thể được thực hiện.

d) Bảo đảm sự an toàn cho nhân viên phòng xét nghiệm là đủ.

2. Về trách nhiệm:

a) Tất cả nhân viên phòng xét nghiệm phải tích cực tham gia vào thiết kế và quy hoạch cho phòng xét nghiệm mới.

b) Nhân viên an toàn phải đánh giá tất cả các nguy cơ tiềm ẩn và áp dụng các dự phòng cơ bản để cung cấp một môi trường thích hợp và an toàn cho hoạt động phòng xét nghiệm.

c) Trưởng phòng xét nghiệm phải xây dựng bản mô tả chi tiết các quy tắc an toàn cơ bản và đảm bảo rằng nhân viên được đào tạo đúng với nhiệm vụ cụ thể của họ khi hoạt động hoặc các kỹ thuật mới được triển khai tại phòng xét nghiệm.

d) Tất cả mọi người trong phòng xét nghiệm đều chịu trách nhiệm về chất lượng và an toàn.

3. Về luồng công việc: chọn tương ứng chéo:

a) Cần được xem xét với mục đích giảm nguy cơ lây nhiễm đến mức tối thiểu.

b) Nên được đặt trong một khu vực trung tâm để giảm thiểu khoảng cách và thuận tiện cho việc di chuyển của các vật liệu, mẫu và dụng cụ khác.

c) Nên bố trí ngay tại lối ra - vào nhằm tiết kiệm thời gian và năng lượng.

d) Nên bố trí vị trí cách biệt nhưng gần các khu vực thử nghiệm.

i. Khu vực lấy mẫu

ii. Khu vực xử lý mẫu

iii. Đường đi của mẫu sinh học

iv. Các phòng sấy rửa và khử trùng, phòng chuẩn bị môi trường nuôi cấy.

4. Mặt bàn làm việc phòng xét nghiệm nên bằng chất liệu nào?

a) Gỗ

b) Thép

c) Gạch men

d) Đá granit nguyên tấm.

BÀI 6. QUẢN LÝ THÔNG TIN VÀ HỆ THỐNG BIỂU MẪU BÁO CÁO

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có thể:

1. Trình bày được quá trình quản lý, lưu giữ thông tin xét nghiệm.
2. Hoàn thiện hệ thống biểu mẫu báo cáo theo đúng quy định.
3. Quản lý và lưu giữ thông tin, hồ sơ, sổ sách theo đúng quy định.

THỜI GIAN HỌC TẬP: 90 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức về quản lý thông tin phòng xét nghiệm. Trước hết bài viết trình bày các khái niệm có liên quan và tầm quan trọng của quản lý thông tin trong xét nghiệm HIV, sau đó bài viết đề cập các loại thông tin và hệ thống biểu mẫu sử dụng cho xét nghiệm HIV.

1. Khái niệm và tầm quan trọng của thông tin trong xét nghiệm HIV

1.1. Khái niệm

- Thông tin là sự phản ánh sự vật, sự việc, hiện tượng của thế giới khách quan và các hoạt động của con người trong đời sống xã hội.

- Thông tin trong xét nghiệm HIV là những thông tin mô tả về các yếu tố liên quan tới xét nghiệm HIV bao gồm cơ sở xét nghiệm, cán bộ thực hiện xét nghiệm, thông tin bệnh nhân được làm xét nghiệm, quá trình lấy mẫu, đóng gói, vận chuyển, chuẩn bị xét nghiệm, thực hiện xét nghiệm và trả lời kết quả.

- Quản lý thông tin là một hoạt động nhằm quản lý các sự kiện, hiện tượng. Quản lý thông tin một cách khoa học giúp cho việc tra cứu, chia sẻ và bảo mật trở nên nhanh chóng, dễ dàng và đơn giản hơn. Hệ thống quản lý thông tin là hệ thống cung cấp thông tin cho công tác quản lý của tổ chức. Nó bao gồm con người, thiết bị và quy trình thu thập, phân tích, đánh giá và phân phối những thông tin cần thiết, kịp thời, chính xác cho những người có thẩm quyền trong các quyết định về tổ chức và triển khai thực hiện.

1.2. Tầm quan trọng thông tin trong xét nghiệm HIV

- Phản ánh hiện trạng và những công việc đã làm trong suốt quá trình thực hiện xét nghiệm HIV cho bệnh nhân bao gồm: Trước xét nghiệm, trong xét nghiệm và sau xét nghiệm.

- Đánh giá tiến độ thực hiện và phối hợp các hoạt động.

- Lựa chọn loại dịch vụ cần thiết phù hợp với bệnh nhân nhằm giảm chi phí.
- Giúp cho cán bộ quản lý giám sát, kiểm tra quá trình xét nghiệm , lựa chọn mục tiêu, lựa chọn ưu tiên, hoạch định chính sách, xây dựng tiêu chuẩn để điều phối các hoạt động.
- Quản lý, lưu giữ tốt thông tin của bệnh nhân được thực hiện xét nghiệm HIV là tư liệu tốt để:
 - + Tiết kiệm thời gian tìm kiếm trong quá trình tra cứu thông tin.
 - + Sao chép kết quả hoặc tái thiết thông tin liên quan đến toàn bộ quá trình xét nghiệm HIV cho bệnh nhân.
 - + Kích hoạt tính năng theo dõi chi tiết và xử lý sự cố.
 - + Làm căn cứ cho việc báo cáo, nghiên cứu khoa học và xây dựng kế hoạch.

2. Các loại thông tin và yêu cầu đối với thông tin trong xét nghiệm HIV

2.1. Các loại thông tin

- Thông tin thường xuyên: Được thu thập qua các sổ sách ghi chép và biểu mẫu báo cáo định kỳ.
- Thông tin không thường xuyên: Được thu thập qua các báo cáo giám sát, báo cáo kỹ thuật, đánh giá, nghiên cứu từ nhiều khía cạnh khác nhau.

2.2. Những yêu cầu đối với thông tin về xét nghiệm HIV

- Thông tin phải đầy đủ, toàn diện.
- Thông tin phải chính xác.
- Thông tin phản ánh cả số lượng và chất lượng.

2.3. Các giai đoạn thu thập thông tin trong xét nghiệm HIV

- Giai đoạn trước xét nghiệm: bao gồm các thông tin về quá trình lấy mẫu, đóng gói và vận chuyển (chi tiết tham khảo bài “Lấy mẫu, đóng gói, vận chuyển mẫu bệnh phẩm trong xét nghiệm HIV”).
- Giai đoạn xét nghiệm: bao gồm các thông tin về xử lý mẫu bệnh phẩm , phân tích kết quả, thực hiện nội kiểm chứng (nếu có).
- Giai đoạn sau xét nghiệm : bao gồm các thông tin về sao chép kết quả xét nghiệm từ máy hoặc phiếu kết quả vào sổ xét nghiệm, phiếu kết quả trả cho bác sĩ/ bệnh nhân, việc trao đổi của cán bộ xét nghiệm với bác sỹ lâm sàng và người quản lý, việc lưu giữ thông tin về toàn bộ quá trình xét nghiệm HIV cho bệnh nhân và báo cáo tình hình xét nghiệm HIV.

3. Hệ thống biểu mẫu báo cáo

Thực hiện theo quy định của Bộ Y tế

3.1. Biểu mẫu sổ sách dành cho cơ sở thực hiện xét nghiệm sàng lọc HIV

3.1.1. Phiếu gửi mẫu xét nghiệm HIV mẫu HIV

Bộ (Sở) Y Tế.....

Tên đơn vị.....

Kính gửi:

PHIẾU GỬI MẪU XÉT NGHIỆM HIV

(Dùng cho đơn vị gửi mẫu xét nghiệm)

STT	HỌ TÊN (MÃ SỐ)	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ	ĐỐI TƯỢNG	NGÀY LẤY MẪU	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM	TÌNH TRẠNG MẪU KHI NHẬN	MÃ SỐ PXN	GHI CHÚ
		Nam	Nữ				SP (ghi rõ tên sp)			
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(9)	(12)	(13)	(14)

Ghi chú:

1. Đề nghị gửi kèm bản phô tô kết quả bản đọc của đơn vị gửi mẫu (trong trường hợp xét nghiệm ELISA).

2. Phiếu này lập thành 02 bản, mỗi bên giữ 01 bản.

Ngày tháng năm

NGƯỜI LẬP PHIẾU

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm

NGƯỜI GIAO MẪU

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm

NGƯỜI NHẬN MẪU XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

3.1.2. Sổ xét nghiệm HIV

Đơn vị.....
Khoa.....

SỔ XÉT NGHIỆM HIV

Bắt đầu từ.....
đến.....

SỐ XÉT NGHIỆM HIV

STT	THÔNG TIN KHÁCH HÀNG						NGÀY LẤY MẪU	Ngày xét nghiệm	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM (ghi rõ kết quả và ngày xét nghiệm)	KẾT LUẬN	KẾT QUẢ KHÁNG ĐỊNH	GHI CHÚ
	HO TÊN	MÃ SỐ	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ	ĐỐI TƯỢNG			SP (ghi rõ tên sinh phẩm)			
			Nam	Nữ								
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)		(9)	(10)	(11)	(12)	(13)

3.1.3. Kết quả xét nghiệm kháng thể kháng HIV

Tên đơn vị.....

Phòng xét nghiệm HIV

Địa chỉ.....

Điện thoại.....

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM KHÁNG THỂ KHÁNG HIV

(Dùng để trả cho người được làm xét nghiệm)

Họ và tên: Giới tính:

Năm sinh:

Địa chỉ:

Số chứng minh thư nhân dân (nếu có):

Ngày xét nghiệm:

Sinh phẩm xét nghiệm:

Kết luận (Ghi rõ bằng chữ): Âm tính.

Ngày.....tháng năm

PHỤ TRÁCH PHÒNG XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

3.2. Biểu mẫu sổ sách dành cho cơ sở thực hiện xét nghiệm kháng định các trường hợp HIV dương tính

3.2.1. Phiếu gửi mẫu xét nghiệm HIV mẫu HIV

BỘ (SỞ) Y TẾ.....
 Tên đơn vị.....

Kính gửi:

PHIẾU GỬI MẪU XÉT NGHIỆM HIV

(Dùng cho đơn vị gửi mẫu xét nghiệm)

STT	HỌ TÊN (MÃ SỐ)	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ	ĐỐI TƯỢNG	NGÀY LẤY MẪU	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM	TÌNH TRẠNG MẪU KHI NHẬN	MÃ SỐ PXN	GHI CHÚ
		Nam	Nữ				SP (ghi rõ tên sp)			
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(9)	(12)	(13)	(14)

Ghi chú:

1. Đề nghị gửi kèm bản photo kết quả bản đọc của đơn vị gửi mẫu (trong trường hợp xét nghiệm ELISA).

2. Phiếu này lập thành 02 bản, mỗi bên giữ 01 bản.

Ngày tháng năm

NGƯỜI LẬP PHIẾU

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm

NGƯỜI GIAO MẪU

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm

NGƯỜI NHẬN MẪU XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

3.2.2. Sổ nhận mẫu và trả kết quả xét nghiệm HIV

Đơn vị.....
 Khoa.....

**SỔ NHẬN MẪU VÀ TRẢ KẾT QUẢ
 XÉT NGHIỆM HIV**

Bắt đầu từ.....
 đến.....

SỐ XÉT NGHIỆM HIV

STT	THÔNG TIN KHÁCH HÀNG (từ cơ sở gửi mẫu)					ĐƠN VỊ GỬI MẪU	Ngày xét nghiệm	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM (ghi rõ kết quả và ngày xét nghiệm)				KẾT LUẬN	MÃ SỐ BN của PXN	GHI CHÚ	
	HỌ TÊN	MÃ SỐ	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ			ĐỐI TƯỢNG	SP 1 (ghi rõ tên sinh phẩm)	SP 2 (ghi rõ tên sinh phẩm)	SP 3 (ghi rõ tên sinh phẩm)				Kỹ thuật khác
			Nam	Nữ											
(1)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(10)		(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)	(18)

3.2.4. Sổ lưu mẫu dương tính và không xác định

Đơn vị.....
 Khoa.....

SỐ LƯU MẪU
DƯƠNG TÍNH VÀ KHÔNG XÁC ĐỊNH

Bắt đầu từ.....
 đến.....

SỐ LƯU MẪU DƯƠNG TÍNH VÀ KHÔNG XÁC ĐỊNH

[illegible]

3.2.5. Phiếu trả lời kết quả xét nghiệm HIV

BỘ (SỞ) Y TẾ.....

Tên đơn vị.....

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Ngàytháng năm 20...

Kính gửi:

PHIẾU TRẢ LỜI KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM HIV

(Dùng trả cho đơn vị gửi mẫu xét nghiệm)

Ngày nhận mẫu:

Ngày xét nghiệm :

[illegible]

(Chú ý: Đi kèm phiếu này là trích lục từng kết quả xét nghiệm cho bệnh nhân).

PHỤ TRÁCH PHÒNG XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

NGƯỜI LÀM XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

3.2.6. Kết quả xét nghiệm HIV

Tên đơn vị.....

Phòng xét nghiệm HIV

Địa chỉ.....

Điện thoại.....

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM HIV

(Dùng để trả cho người được làm xét nghiệm)

Họ và tên: Giới tính:.....

Năm sinh:.....

Địa chỉ:.....

Số chứng minh thư nhân dân (nếu có):

Ngày xét nghiệm: (ghi ngày xét nghiệm kết luận cuối cùng)

Kết luận (Ghi rõ bằng chữ Dương tính, Âm tính, Nghi ngờ):.....

Ngày tháng năm

Người làm xét nghiệm

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày..... tháng năm

PHỤ TRÁCH PHÒNG XN

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ghi chú: Phiếu trả lời kết quả phải đóng dấu treo của đơn vị hoặc dấu của phòng xét nghiệm

3.3. Biểu mẫu dành cho xét nghiệm sinh học phân tử HIV

ĐƠN VỊ...

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc Lập - Tự Do - Hạnh Phúc

Kính gửi:

PHIẾU GỬI MẪU XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN SƠM NHIỄM HIV CHO TRẺ DƯỚI 18 THÁNG TUỔI

TT	Họ và tên/Mã số	Ngày sinh		Địa chỉ	Kết quả XN sàng lọc kháng thể kháng HIV (nếu có)	Chỉ định XN PCR			Ngày lấy mẫu DBS	Ghi chú
		Nam	Nữ			Lần 1	Lần 2	Khác		

Ngày tháng năm

Người lập phiếu

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm

Người nhận

(Ký, ghi rõ họ tên)

ĐƠN VỊ...

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc Lập - Tự Do - Hạnh Phúc

Ngày tháng năm

Kính gửi:

BÁO CÁO KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN SƠM NHIỄM HIV CHO TRẺ DƯỚI 18 THÁNG TUỔI

TT	Họ tên/Mã số của trẻ	Ngày tháng năm sinh		Tên đơn vị gửi mẫu	PCR lần 1				PCR lần 2				Ghi chú
		Nam	Nữ		Ngày lấy mẫu DBS	Ngày nhận mẫu	Ngày thực hiện XN PCR	Kết quả	Ngày lấy mẫu DBS	Ngày nhận mẫu	Ngày thực hiện XN PCR	Kết quả	

Cán bộ báo cáo

(Ký, ghi rõ họ tên)

Phụ trách khoa/phòng xét nghiệm

(Ký, ghi rõ họ tên)

Lãnh đạo đơn vị

(Ký, đóng dấu)

PHIẾU XÉT NGHIỆM PCR ĐỊNH TÍNH HIV CHO TRẺ > 18 THÁNG TUỔI VÀ NGƯỜI LỚN

PHẦN DÀNH CHO CƠ SỞ CHỈ ĐỊNH XÉT NGHIỆM				
1.	Họ tên bệnh nhân:		MSBN:	
2	Ngày/tháng/năm sinh	Giới tính	☐ Nam	☐ Nữ
3	Địa chỉ cư trú:			
4	Lý do chỉ định:			
5	Điều trị ARV: ☐ Có ☐ Không Thời gian điều trị ARV (nếu có) :			
6	T-CD4 (TB/mm3) (nếu có)		Tải lượng HIV lần gần nhất (bản sao/ml) (nếu có)	
	T-CD4 trước điều trị ARV			
	T-CD4 cao nhất trong quá trình điều trị ARV		Ngày XN.....	
	T-CD4 lần gần nhất			
8	Kết quả xét nghiệm huyết thanh học HIV			
10	Thời gian yêu cầu xét nghiệm:		Bác sĩ yêu cầu xét nghiệm sinh học phân tử HIV	
	Ngày.....thángnăm ...		(Tên, chữ ký)	
PHẦN DÀNH CHO ĐƠN VỊ LẤY MẪU				
1	Giờ lấy mẫu	Sáng..... Chiều	2. Ngày lấy mẫu:	3. Nhiệt độ vận chuyển:
			Ngày ..thángnăm	
2	Giờ tách huyết tương	Sáng..... Chiều.....	5. Nhiệt độ:	
PHẦN DÀNH CHO PHÒNG XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ HIV				
1	Giờ nhận mẫu	Sáng..... Chiều.....	2. Ngày nhận mẫu:	3.Loại mẫu:
			Ngày.....thángnăm	☐ DBS ☐ Huyết tương ☐ Máu toàn phần
4	Tình trạng mẫu		5. Số lượng ống mẫu:	6.Thể tích:
7	- Kỹ thuật xét nghiệm/tên sinh phẩm: - Ngưỡng phát hiện (nếu có):			- Kết quả:
8	Ngày trả kết quả	Ngày tháng năm		
9	Người làm xét nghiệm:		10. Phụ trách khoa, phòng xét nghiệm:	

**PHIẾU CHUYỂN MẪU XÉT NGHIỆM PCR ĐỊNH TÍNH HIV CHO
TRẺ > 18 THÁNG TUỔI VÀ NGƯỜI LỚN**

Đơn vị gửi mẫu :

Ngày chuyển mẫu :

Ngày, giờ nhận mẫu:

Nhiệt độ vận chuyển:

Đơn vị nhận mẫu :

STT	Mã số BN tại PKNT	Năm sinh		Loại mẫu (DBS/Máu toàn phần/ huyết tương)	Giờ, ngày lấy mẫu	Giờ, ngày tách huyết tương	Thể tích	Số lượng ống	Tình trạng mẫu	Nhiệt độ bảo quản	Giờ, ngày gửi mẫu	Ghi chú
		Nam	Nữ									

Mẫu phiếu sử dụng cho đơn vị chuyển gửi mẫu

Ngày tháng năm 20....
Người giao

Ngày tháng năm 20....
Người nhận

3.9. Sổ theo dõi lý lịch máy

- Các thông tin về máy, thời gian bảo trì sửa chữa.
- Cơ sở thực hiện theo hướng dẫn và lưu tại phòng.

LÝ LỊCH MÁY

Tên thiết bị:..... Mã số:.....
 Nơi sử dụng:.....
 Ngày nhận máy:.....
 Ngày đưa vào sử dụng:.....
 Nhân hiệu máy (Model):.....
 Nước sản xuất:..... Công suất:.....
 Số máy (Serial):.....
 Nguồn cấp máy:.....
 Phụ kiện của máy nếu có (dụng cụ và phụ tùng kèm theo)

STT	Tên phụ tùng	Quy cách	Số lượng	Ghi chú

STT	Ngày, tháng, năm	Mô tả chi tiết hoạt động bảo trì, bảo dưỡng, sửa chữa	Hướng giải quyết	Người thực hiện (ký và ghi rõ họ tên)	Người quản lý thiết bị (ký và ghi rõ họ tên)	Ghi chú

3.10. Báo cáo tình hình xét nghiệm

- Cơ sở xét nghiệm thực hiện báo cáo định kỳ hàng tháng gửi về Trung tâm Phòng, chống HIV/AIDS trước ngày cuối cùng của tháng;
- Trung tâm Phòng, chống HIV/AIDS gửi báo cáo về Cục Phòng, chống HIV/AIDS trước ngày 05 hàng tháng.

3.11. Phiếu theo dõi nhiệt độ

ĐƠN VỊ:.....
 Tên PXN:

BẢNG THEO DÕI NHIỆT ĐỘ TỦ LẠNH
 Tháng:/20.....

Tên tủ lạnh:..... Nhiệt độ cài đặt: 5°C
 Mã thiết bị:..... Khoảng dao động cho phép: 2-8°C
 Vị trí đặt:.....
 Người chịu trách nhiệm:.....

Ngày t°C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	Ghi chú
-2																																
-1																																
0																																
1																																
2																																
3																																
4																																
5																																
6																																
7																																
8																																
9																																
10																																

Cơ sở xét nghiệm thực hiện việc theo dõi độ ẩm , nhiệt độ phòng, nhiệt độ tủ lạnh lưu giữ hóa chất, sinh phẩm theo quy định.

3.12. Hồ sơ theo dõi nội kiểm (IQC), ngoại kiểm tra (EQA)

Phòng xét nghiệm phải thực hiện theo dõi kết quả nội kiểm , ngoại kiểm và lưu giữ theo quy định. Những hồ sơ này được xem xét bởi người có thẩm quyền.

4. Chế độ lưu giữ thông tin

- Cơ sở y tế có trách nhiệm lưu giữ hồ sơ , sổ sách theo đúng quy định của nhà nước về Quy định lưu giữ thông tin tại Thông tư số 09/2011/TT BNV ngày 03/6/2012 của Bộ Nội Vụ về “Quy định về thời hạn bảo quản hồ sơ , tài liệu hình ảnh phổ biến trong hoạt động của các cơ quan tổ chức .

- Hồ sơ lưu giữ là những tài liệu cụ thể rõ ràng ở dạng văn bản viết, văn bản in hay văn bản điện tử cho thấy bằng chứng của quá trình hoạt động xét nghiệm HIV trong phòng xét nghiệm.

- Toàn thể nhân viên làm việc tại phòng xét nghiệm có trách nhiệm lưu giữ hồ sơ, sổ sách trong phạm vi được phân công quản lý.

- Toàn bộ hồ sơ, sổ sách được cất giữ trong những bìa, hộp thích hợp, có chỉ mục rõ ràng, sắp xếp và bảo quản dễ dàng tiếp cận.

- Quy định về thời gian lưu giữ hồ sơ xét nghiệm: 5 năm

- Quy định về thời gian lưu giữ hồ sơ trang thiết bị: Đến khi thanh lý máy, các phiếu theo dõi nhiệt độ lưu giữ 1 năm.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

Lựa chọn 1 đáp án đúng cho các câu hỏi sau:

1. Thông tin về xét nghiệm HIV:

- a. Phản ánh hiện trạng và những công việc đã làm trong suốt quá trình thực hiện (trước, trong và sau) xét nghiệm HIV cho bệnh nhân.
- b. Đánh giá tiến độ hoạt động và phối hợp các hoạt động, chọn loại dịch vụ cần thiết phù hợp với bệnh nhân và giảm chi phí.
- c. Giúp cho cán bộ quản lý giám sát, kiểm tra quá trình xét nghiệm, lựa chọn mục tiêu, chọn ưu tiên, hoạch định chính sách, xây dựng tiêu chuẩn để điều phối dịch vụ.
- d. Cả 3 ý trên đều đúng

2. Lưu giữ tốt thông tin của bệnh nhân làm xét nghiệm HIV để:

- a. Sao chép kết quả hoặc tái thiết thông tin liên quan đến toàn bộ quá trình xét nghiệm HIV cho bệnh nhân, theo dõi chi tiết và xử lý sự cố, tối ưu hóa việc chẩn đoán và theo dõi khách hàng xét nghiệm HIV.
- b. Sao chép kết quả hoặc tái thiết thông tin liên quan đến toàn bộ quá trình xét nghiệm HIV cho bệnh nhân, kích hoạt tính năng theo dõi chi tiết và xử lý sự cố, tối ưu hóa việc chẩn đoán và điều trị bệnh nhân HIV/AIDS.
- c. Cả a và b đều đúng.

3. Thông tin về xét nghiệm HIV là:

- a. Những thông tin mô tả về các yếu tố liên quan đến cơ sở xét nghiệm, người thực hiện xét nghiệm, các kỹ thuật thực hiện xét nghiệm và thông tin khách hàng làm xét nghiệm HIV.
- b. Những thông tin này mô tả cả các yếu tố khác nhau trong ngành y tế và ngoài ngành y tế có liên quan đến xét nghiệm HIV.
- c. Cả a và b đều đúng.

4. Những sổ sau đây cần lưu giữ trong giai đoạn trước xét nghiệm (đánh dấu vào câu trả lời đúng)

- a. Sổ giao nhận mẫu
- b. Sổ xét nghiệm
- c. Sổ lưu mẫu

5. Hồ sơ xét nghiệm phải lưu giữ trong bao lâu?

- a) 2 năm
 - b) 3 năm
 - c) 5 năm
 - d) lưu vĩnh viễn
6. Hồ sơ trang thiết bị lưu giữ trong bao lâu
- a) 2 năm
 - b) 3 năm
 - c) 5 năm
 - d) lưu hết đời máy
7. Những biểu mẫu quản lý thông tin phòng xét nghiệm (sổ nhận mẫu, sổ xét nghiệm, sổ lưu mẫu...) áp dụng ở:
- a) Phòng xét nghiệm sàng lọc.
 - b) Phòng xét nghiệm khẳng định.
 - c) Phòng xét nghiệm khối bệnh viện.
 - d) Tất cả các phòng.
8. Sổ xét nghiệm có thể lưu giữ ở các dạng:
- a) Dạng sổ điện tử lưu trên máy.
 - b) Dạng sổ điện tử lưu trên máy và in ra lưu bản giấy.
 - c) Dạng sổ bằng giấy ghi chép bằng tay.
 - d) Cả b và c.
9. Sau khi nhận được kết quả ngoại kiểm từ nhà cung cấp phòng xét nghiệm cần làm gì (lựa chọn 1 phương án phù hợp nhất):
- a) Cán bộ nhận kết quả và trình người có thẩm quyền xem xét kết quả.
 - b) Cán bộ nhận bản kết quả và lưu giữ cẩn thận để trình các đoàn kiểm tra .
 - c) Cán bộ nhận bản kết quả kiểm tra kết quả của phòng xét nghiệm và lưu giữ vào hồ sơ của phòng xét nghiệm.
 - d) Cán bộ nhận bản kết quả, kiểm tra kết quả của phòng xét nghiệm và trình người có thẩm quyền xem xét kết quả.
10. Các kỹ thuật xét nghiệm nhanh có cần lưu giữ sơ đồ xét nghiệm không? Tại sao?

BÀI 7. AN TOÀN SINH HỌC TRONG XÉT NGHIỆM HIV

MỤC TIÊU BÀI HỌC:

Sau khi học xong bài này, học viên có thể trình bày được:

1. Phân loại tác nhân gây bệnh, các cấp độ an toàn sinh học.
2. Các quy định về an toàn phòng xét nghiệm và xử lý chất thải.
3. Các quy định và hướng dẫn giải quyết sự cố khi xảy ra tai nạn nghề nghiệp (phơi nhiễm).

THỜI GIAN HỌC TẬP: 180 phút

NỘI DUNG:

Bài này cung cấp kiến thức an toàn sinh học xét nghiệm HIV. Trước hết bài viết trình bày về các khái niệm, nguyên tắc an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm và đảm bảo an toàn sinh học trong xét nghiệm, sau đó bài viết đề cập tới cách thức xử lý sự cố an toàn sinh học và quản lý mẫu bệnh phẩm. Bài viết cũng trình bày các cách thức dự phòng sau phơi nhiễm HIV trong xét nghiệm.

1. Một số nguyên tắc chung về an toàn sinh học phòng xét nghiệm

1.1. Phân loại các vi sinh vật gây bệnh theo nhóm nguy cơ

Việc phân loại các vi sinh vật gây bệnh theo nhóm nguy cơ dựa vào các yếu tố sau:

- Khả năng gây bệnh của sinh vật.
- Phương thức lan truyền và vật chủ của vi sinh vật.
- Các biện pháp phòng chống hiệu quả sẵn có tại chỗ.
- Các biện pháp điều trị hiệu quả sẵn có tại chỗ.

Tùy theo mức độ nguy hiểm, các loại vi sinh vật gây bệnh được chia thành 4 nhóm nguy cơ:

1.1.1. Nhóm nguy cơ 1

Nhóm nguy cơ 1 là các tác nhân gây bệnh (TNGB) không có hoặc có nguy cơ lây nhiễm thấp cho cá thể và cộng đồng. Các TNGB nhóm này ít có khả năng gây bệnh cho người hoặc động vật. Ví dụ: *Bacillus subtilis*, *Naegleria gruberi*, vi rút viêm gan nhiễm trùng. Một số tác nhân ban đầu không gây bệnh cho người, tuy nhiên một số TNGB cơ hội có thể gây bệnh cho người độ tuổi thanh niên, tuổi già và người suy giảm hệ miễn dịch. Chúng vắc xin không được coi là tác nhân gây bệnh.

1.1.2. Nhóm nguy cơ 2

Nhóm nguy cơ 2 là các TNGB có nguy cơ lây nhiễm cho cá thể ở mức độ vừa phải nhưng nguy cơ lây nhiễm cho cộng đồng thấp. TNGB nhóm này có khả năng gây bệnh cho người hoặc động vật, nhưng không có khả năng trở thành mối nguy hiểm lớn đối với cán bộ xét nghiệm (CBXN), cộng đồng, vật nuôi hay môi trường. Những phơi nhiễm trong phòng xét nghiệm có khả năng gây bệnh nặng nhưng có phương pháp phòng, điều trị hiệu quả và khả năng lây truyền thấp. Ví dụ: *Vi rút Viêm gan B, HIV, Salmonella...*

Riêng HIV trong các thử nghiệm nuôi cấy, phân lập vi rút thì xếp vào nhóm nguy cơ 3.

1.1.3. Nhóm nguy cơ 3

Nhóm nguy cơ 3 là các TNGB có nguy cơ lây nhiễm cho cá thể cao và có nguy cơ lây nhiễm cho cộng đồng thấp. TNGB nhóm này thường gây bệnh nặng cho người và động vật, tuy nhiên trong điều kiện bình thường thì không lây nhiễm từ cá thể này sang cá thể khác. Hiện nay, chúng ta đã có các biện pháp điều trị và phòng chống hiệu quả các tác nhân gây bệnh này? Phương pháp điều trị hiệu quả và các biện pháp ngăn chặn có thể không sẵn có.. Ví dụ: *Vi khuẩn than, vi rút H5N1, SARS...*

1.1.4. Nhóm nguy cơ 4

Nhóm nguy cơ 4 là các TNGB có nguy cơ lây nhiễm cao cho cả cá thể và cộng đồng. TNGB nhóm này thường gây bệnh nặng cho người và động vật, đồng thời dễ lây truyền trực tiếp hay gián tiếp từ cá thể này sang cá thể khác. Các biện pháp điều trị và phòng chống hiệu quả chưa được xác định. Ví dụ: *Vi rút Ebola, t Marburg, Congo-Crimean hemorrhagic...*

1.2. Xác định cấp độ an toàn sinh học cho phòng xét nghiệm

Xác định cấp độ an toàn sinh học (ATSH) cho phòng xét nghiệm phải xét đến TNGB, thiết bị sẵn có cũng như các tiêu chuẩn thực hành và các quy trình cần thiết để tiến hành công việc trong phòng xét nghiệm một cách an toàn.

Nhóm nguy cơ	Cấp độ ATSH	Áp dụng	Tiêu chuẩn thực hành	Cơ sở vật chất/ trang thiết bị ATSH
1 (không có hoặc nguy cơ lây nhiễm cá thể và cộng đồng thấp)	Cấp 1 (BSL1)	Nghiên cứu và giảng dạy cơ bản	Kỹ thuật vi sinh tốt (GMT)	Không có gì yêu cầu gì đặc biệt, bàn làm xét nghiệm thông thường
2 (có nguy cơ lây nhiễm cho cá thể nhưng ít có nguy cơ lây nhiễm cho cộng đồng)	Cấp 2 (BSL2)	Dịch vụ chăm sóc sức khỏe ban đầu; cơ sở chẩn đoán và nghiên cứu cứu	GMT và sử dụng quần áo bảo hộ, có các biển báo nguy hiểm sinh học	Bàn xét nghiệm; tủ ATSH khi thực hiện xét nghiệm có nguy cơ tạo khí dung
3 (nguy cơ lây nhiễm cho cá thể cao, nguy cơ lây nhiễm cho cộng đồng thấp)	Cấp 3 (BSL3)	Dịch vụ chẩn đoán đặc biệt, nghiên cứu cứu	Như cấp độ 2 và sử dụng thêm áo quần bảo hộ đặc biệt, kiểm soát lối vào, luồng khí định hướng	Tủ ATSH và/hoặc dụng cụ cơ bản cho tất cả các hoạt động
4 (nguy cơ lây nhiễm cho cá thể và cộng đồng cao)	Cấp 4 (BSL4)	Đơn vị có bệnh phẩm thật nguy hiểm	Như cấp 3 và có thêm lối vào khóa khí, tắm trước khi ra, loại bỏ chất thải chuyên dụng	Tủ ATSH cấp 3 hoặc quần áo bảo hộ áp lực dương cùng với tủ ATSH cấp 2, nôi hấp hai cửa, lọc khí cấp, khí thải

Bảng 1. Mối liên quan giữa các nhóm nguy cơ vi sinh vật với cấp độ an toàn sinh học phòng xét nghiệm

Các yêu cầu trang thiết bị cho phòng xét nghiệm ở các cấp độ an toàn sinh học khác nhau được trình bày ở bảng 2.

Yêu cầu trang thiết bị	Cấp độ an toàn sinh học			
	1	2	3	4
Phòng xét nghiệm riêng biệt ^a	Không	Không	Có	Có
Phòng có thể bịt kín để tiết trùng	Không	Không	Có	Có
Thông gió				
- <i>Hướng khí vào trong</i>	Không	Nên có	Có	Có
- <i>Hệ thống thông gió có điều khiển</i>	Không	Nên có	Có	Có
- <i>Bộ lọc khí thải HEPA</i>	Không	Không	Có/không ^b	Có
Lối vào cửa 2 lớp	Không	Không	Có	Có
Khóa khí liên động	Không	Không	Không	Có
Vòi tắm trong trường hợp khẩn cấp	Không	Không	Không	Có
Phòng trước (anteroom)	Không	Không	Có	Có
Phòng trước có vòi tắm	Không	Không	Có/không ^c	Có
Xử lý nước thải	Không	Không	Có/không ^c	Có
Nồi hấp tiết trùng (Autoclave)				
- <i>Trong cùng tòa nhà</i>	Không	Có	Có	Có
- <i>Trong phòng xét nghiệm</i>	Không	Không	Nên có	Có
- <i>Nồi hấp hai cửa</i>	Không	Không	Nên có	Có
Tủ an toàn sinh học	Không	Nên có	Có	Có
Biện pháp kiểm soát an toàn cho nhân viên ^d	Không	Không	Nên có	Có

Bảng 2. Tóm tắt các yêu cầu trang thiết bị cho các cấp độ phòng xét nghiệm

^a Cách ly với nơi đông người qua lại.

^b Tùy thuộc vào vị trí của ống thoát khí.

^c Phụ thuộc vào tác nhân sử dụng trong phòng xét nghiệm.

^d Ví dụ như cửa sổ, hệ thống camera, liên lạc hai chiều.

2. Bảo đảm an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm

2.1. Phòng xét nghiệm

Phòng xét nghiệm (PXN) là nơi thực hiện các xét nghiệm về sinh học, vi khuẩn, vi rút, miễn dịch, hoá học, huyết học, miễn dịch huyết học, sinh lý học, tế bào học và bệnh học liên quan với bệnh phẩm từ người, cho mục đích cung cấp những thông tin về chẩn đoán, điều trị và phòng ngừa bệnh hoặc đánh giá tình trạng sức khoẻ của người, còn là nơi hỗ trợ để điều tra về tình hình về bệnh và những định hướng điều tra thích hợp khác tiếp theo.

2.2. An toàn sinh học phòng xét nghiệm (ATSH PXN)

An toàn sinh học phòng xét nghiệm (ATSH PXN): Là thuật ngữ được sử dụng để mô tả những nguyên tắc, kỹ thuật và thực hành cần thiết để ngăn ngừa những phơi nhiễm không mong muốn hoặc làm thất thoát tác nhân gây bệnh (TNGB) và độc tố.

Nhân viên phòng xét nghiệm luôn phải đối mặt với nguy cơ bị lây nhiễm tác nhân gây bệnh. Do vậy phòng xét nghiệm phải bảo đảm các điều kiện an toàn sinh học phù hợp với từng cấp độ và chỉ được tiến hành xét nghiệm trong phạm vi chuyên môn sau khi được cơ quan thẩm quyền về y tế cấp giấy chứng nhận đạt tiêu chuẩn an toàn sinh học.

Nhân viên phòng xét nghiệm tiếp xúc với tác nhân gây bệnh truyền nhiễm phải được đào tạo về kiến thức chuyên môn, kỹ năng thực hành và trang bị phòng hộ cá nhân để phòng lây nhiễm tác nhân gây bệnh truyền nhiễm.

2.3. Quy định đối với nhân viên làm trong phòng xét nghiệm

Nhân viên phải mặc áo choàng của phòng xét nghiệm, áo khoác dài hoặc đồng phục trong suốt thời gian làm việc trong phòng xét nghiệm.

- Nhân viên phải đeo găng tay trong quá trình làm xét nghiệm và sau khi sử dụng, găng tay phải được tháo bỏ đúng cách (lộn trái) và phải rửa tay.

- Nhân viên phải rửa tay kỹ bằng xà phòng/dung dịch rửa có phổ kháng khuẩn rộng sau mỗi lần thao tác và trước khi rời khỏi khu vực làm việc trong phòng xét nghiệm.

- Sử dụng kính bảo hộ, mặt nạ hoặc các thiết bị bảo hộ khác khi thực hiện xét nghiệm để tránh dung dịch xét nghiệm hoặc mẫu xét nghiệm bắn vào mắt, mặt.

- Nghiêm cấm việc mặc quần áo phòng hộ ra ngoài phòng thí nghiệm, ví dụ như ở nhà ăn, phòng nghỉ, phòng giải lao, nơi làm việc, thư viện, phòng họp, phòng nhân viên và phòng vệ sinh.

- Áo quần nhiễm trùng phải được khử trùng bằng phương pháp thích hợp.

- Không được dùng giày, dép hở ngón chân trong phòng xét nghiệm.

- Nghiêm cấm ăn, uống, hút thuốc lá, sử dụng mỹ phẩm, đeo và tháo kính áp tròng trong phòng xét nghiệm.

- Các quần áo bảo hộ được sử dụng không được để chung vào ngăn hoặc tủ đựng quần áo sạch và quần áo mặc thông thường.

2.4. Sự cố an toàn sinh học

Xử lý sự cố và khắc phục hậu quả sự là tình trạng có lỗi về tính năng của thiết bị an toàn trong phòng xét nghiệm hoặc rò rỉ, phát tán vi sinh vật trong phòng xét nghiệm hoặc từ phòng xét nghiệm ra bên ngoài. Sự cố an toàn sinh học bao gồm hai mức độ:

Sự cố an toàn sinh học mức độ ít nghiêm trọng là sự cố xảy ra trong phạm vi phòng xét nghiệm nhưng ít có nguy cơ làm lây nhiễm cho nhân viên phòng xét nghiệm và phòng xét nghiệm có đủ khả năng để kiểm soát.

Sự cố an toàn sinh học mức độ nghiêm trọng là sự cố xảy ra trong phạm vi phòng xét nghiệm nhưng có nguy cơ cao làm lây nhiễm cho nhân viên phòng xét nghiệm và cộng đồng hoặc sự cố mà phòng xét nghiệm không có đủ khả năng để kiểm soát.

Cán bộ xét nghiệm phải được cảnh báo về các sự cố có thể xảy ra và được hướng dẫn xử lý các sự cố. Các hướng dẫn cụ thể sẽ được đề cập trong khóa huấn luyện về an toàn sinh học. Nguyên tắc xử lý trong trường hợp xảy ra sự cố như sau:

- Xử lý tại chỗ theo đúng quy trình.

- Ghi chép lại sự cố, biện pháp xử lý đã thực hiện.

- Báo cáo người phụ trách phòng xét nghiệm về sự cố này.

2.4.1. Xử lý sự cố bị vật sắc nhọn đâm vào tay trong khi làm việc với tác nhân gây bệnh

- Báo với đồng nghiệp làm việc gần đó (nếu có).

- Xả nước tối thiểu trong vòng 5 phút (không nặn máu)

- Sử dụng băng gạc để che vết thương.

- Rời khỏi phòng xét nghiệm.

- Ghi chép và báo cáo sự việc với người chịu trách nhiệm quản lý phòng xét nghiệm.

2.4.2. Xử lý sự cố làm đổ dung dịch chứa tác nhân gây bệnh trong tủ an toàn sinh học

Các phòng xét nghiệm nên chuẩn bị trước hộp dụng cụ xử lý đánh đổ dung dịch có chứa TNGB. Trong hộp này cần có dung dịch khử nhiễm, giấy thấm, panh, kẹp, túi đựng chất thải lây nhiễm, trang bị bảo hộ cá nhân phù hợp. Các dụng cụ này phải làm bằng các vật liệu không bị ăn mòn bởi các hóa chất trong phòng xét nghiệm.

Khi đánh đổ dung dịch chứa TNGB trong tủ ATSH, người làm xét nghiệm không được tắt tủ và tiến hành các bước sau:

- Báo với đồng nghiệp đang làm việc gần đó (nếu có).
- Để cho tủ hoạt động 10 phút trước khi tiến hành các biện pháp xử lý đảm bảo cho tất cả các khí dung đã được lọc qua màng lọc HEPA của tủ.
- Thay găng tay sạch và đi lấy bộ xử lý sự cố đổ mẫu.
- Dùng giấy thấm phủ lên dung dịch bị đổ, đổ hóa chất khử trùng (dung dịch NaClO 0,5%), để khoảng 30 phút cho chất khử trùng phát huy tác dụng.
- Thu nhặt vật sắc nhọn (nếu có) bằng kẹp bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn.
- Dùng kẹp thu nhặt giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm để tiệt trùng.
- Lau bề mặt làm việc của tủ ATSH.
- Kết thúc quá trình xử lý.
- Sau khi kết thúc xét nghiệm và ra khỏi phòng xét nghiệm, phải ghi chép, báo cáo sự việc với người phụ trách ATSH và người quản lý phòng xét nghiệm.

2.4.3. Xử lý sự cố đổ dung dịch chứa tác nhân gây bệnh lên sàn nhà hoặc bàn xét nghiệm

Khi đánh đổ dung dịch chứa tác nhân gây bệnh lên sàn nhà hoặc mặt bàn xét nghiệm, cán bộ xét nghiệm cần tiến hành các bước xử lý như sau:

- Ngay lập tức cảnh báo cho đồng nghiệp đang làm việc trong cùng phòng xét nghiệm.
- Thay găng tay sạch và quần áo bảo hộ nếu dung dịch máu bắn lên quần áo.
- Nhặt các vật sắc nhọn nếu có bằng kẹp.

- Phủ giấy thấm lên toàn bộ bề mặt có dung dịch bị đổ theo trình tự từ ngoài vào trong.

- Đổ hóa chất khử trùng (dung dịch Bleach pha loãng 10 lần hoặc NaClO 0,5%) lên chỗ đã được phủ giấy thấm theo chiều từ ngoài vào trong.

- Đợi 30 phút.

- Thu giấy thấm và các vật dụng lây nhiễm cho vào túi đựng rác thải để tiệt trùng.

- Vệ sinh xả nhiều nước vào khu vực mẫu bị đổ (nếu cần thiết lặp lại từ bước 2 đến 5), lau sạch khu vực bị đổ vỡ.

- Vệ sinh thùng vận chuyển với cùng loại chất khử trên và nước.

- Kết thúc quá trình xử lý và báo cáo sự cố với người có thẩm quyền và thông báo với họ rằng khu vực có mẫu bị tràn đã được tẩy trùng.

3. An toàn hóa học, lửa, điện, bức xạ và trang thiết bị

Nhân viên phòng xét nghiệm vi sinh vật không những bị phơi nhiễm vi sinh vật gây bệnh mà còn có khả năng nhiễm các loại hóa chất. Để phòng vệ cho người thực hiện xét nghiệm cũng như cho cộng đồng, cần phải có trang thiết bị bảo hộ cho người làm xét nghiệm phù hợp đối với từng loại tác nhân gây bệnh khác nhau. Ngoài ra, cũng cần có trang thiết bị bảo hộ để tránh các tai nạn có thể xảy ra trong quá trình làm việc, hạn chế đến mức thấp nhất các sai sót có thể xảy ra trong quá trình xét nghiệm, cần tuân thủ các nguyên tắc thực hành tốt trong phòng xét nghiệm với ba giai đoạn của xét nghiệm là: (1) giai đoạn trước xét nghiệm; (2) giai đoạn xét nghiệm; (3) giai đoạn sau xét nghiệm.

- Nhân viên phòng xét nghiệm cần có những kiến thức về tính độc của những loại hoá chất này, kiểu tiếp xúc và những mối nguy hiểm có thể xảy ra khi sử dụng và bảo quản. Dữ liệu an toàn nguyên vật liệu hay thông tin về các hoá chất nguy hiểm đều được các nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp đưa ra. Khi thực hiện xét nghiệm liên quan đến sinh phẩm, hoá chất, người làm xét nghiệm cần sử dụng sinh phẩm và hoá chất theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất, không sử dụng lẫn lộn sinh phẩm, hoá chất của bộ sinh phẩm này lẫn với sinh phẩm và hoá chất của bộ sinh phẩm khác. Các phòng xét nghiệm có sử dụng những hóa chất nguy hiểm cần tìm hiểu những thông tin này.

- Sau một thời gian sử dụng, sự sai lệch không an toàn của một số dụng cụ, trang thiết bị sử dụng trong phòng xét nghiệm có thể xảy ra. Việc kiểm tra thường

xuyên tất cả, định kỳ độ chính xác của dụng cụ, trang thiết bị sử dụng trong phòng xét nghiệm, các thiết bị điện, kể cả hệ thống nối đất là rất cần thiết. Tất cả thiết bị điện và hệ thống đường dây điện cần tuân thủ các tiêu chuẩn và quy định về an toàn điện quốc gia.

- Ngoài ra, cần lắp đặt đường dây điện, ổ cắm phải cao hơn nền phòng xét nghiệm khoảng 40 cm, không gần chỗ có vòi nước. Mỗi phòng xét nghiệm cần có cầu dao, cầu chì hay automat để có thể cắt điện khi cần thiết.

4. Quản lý mẫu bệnh phẩm

Phòng xét nghiệm phải đáp ứng các tiêu chuẩn về thu thập, vận chuyển, bảo quản, lưu giữ, sử dụng, nghiên cứu, trao đổi và tiêu hủy mẫu bệnh phẩm liên quan đến tác nhân gây bệnh truyền nhiễm và phải tuân thủ quy định về chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm. Phòng xét nghiệm phải có đủ điều kiện mới được bảo quản, lưu giữ, sử dụng, nghiên cứu, trao đổi và tiêu hủy mẫu bệnh phẩm của bệnh truyền nhiễm, áp dụng theo Thông tư số 43/2011/TT-BYT, ngày 05/12/2011 của Bộ Y tế về việc Quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm.

5. Xử lý chất thải

- Rác thải y tế bao gồm mẫu bệnh phẩm loại bỏ trong quá trình xét nghiệm, chất thải trong quá trình xét nghiệm cần được phân loại và xử lý theo đúng quy định về an toàn sinh học để tránh lây lan trong phòng xét nghiệm và làm ô nhiễm trong cộng đồng.

- Việc phân loại, trang bị dụng cụ đựng rác và xử lý các loại chất thải từ phòng xét nghiệm phải đáp ứng các tiêu chuẩn về xử lý chất thải bệnh viện, áp dụng theo Quyết định số 43/2007/QĐ-BYT, ngày 30/11/2007 của Bộ Y tế về việc ban hành quy chế quản lý chất thải y tế.

6. Quy trình kỹ thuật về an toàn sinh học phòng xét nghiệm

- Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm quy định cụ thể quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về những kỹ thuật xét nghiệm thực hành tại phòng xét nghiệm.

- Các cơ sở xét nghiệm đã hoạt động trước cần có kế hoạch cải tạo đáp ứng đủ các điều kiện an toàn sinh học phù hợp với từng cấp độ theo quy định, cơ sở xét nghiệm xây dựng mới phải đáp ứng đúng các điều kiện quy định an toàn sinh học phù hợp với từng cấp độ theo quy định này.

- Tham khảo Thông tư 25/2012/TT-BYT, ngày 29/11/2012 của Bộ Y tế về việc Ban hành quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về thực hành và an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm.

7. Tổ chức, quản lý

- Lãnh đạo Trung tâm, phụ trách phòng xét nghiệm và tất cả những nhân viên y tế trong phòng xét nghiệm phải có chứng chỉ đã được đào tạo về an toàn sinh học. Tùy theo yêu cầu công việc phải có đủ kiến thức hoặc kỹ năng cần thiết.

- Trên cơ sở các quy định của Nhà nước và Bộ Y tế, mỗi phòng xét nghiệm cần ban hành quy định an toàn sinh học của phòng xét nghiệm và thực hiện đúng các quy định này.

- Cần phân công một người phụ trách về an toàn sinh học. Người phụ trách ATSH có nhiệm vụ lập kế hoạch bảo đảm an toàn sinh học, theo dõi, giám sát và định kỳ báo cáo lãnh đạo phòng xét nghiệm về các vấn đề liên quan đến ATSH.

- Cán bộ, nhân viên phòng xét nghiệm cần được kiểm tra sức khỏe trước khi vào làm việc tại PXN và định kỳ hằng năm, được tiêm phòng hoặc khuyến cáo về việc tiêm phòng các bệnh truyền nhiễm mà họ có nguy cơ bị phơi nhiễm khi làm việc trong PXN.

- Trường hợp nghi ngờ bị phơi nhiễm hoặc nhiễm bệnh phải được theo dõi, điều trị, báo cáo, chăm sóc, cách ly... theo hướng dẫn của ngành Y tế.

8. Thực hành tốt trong phòng xét nghiệm

8.1. Yêu cầu về an toàn sinh học

Nhân viên phòng xét nghiệm cần được đào tạo về an toàn sinh học, nắm vững được bảng phân loại các tác nhân sinh học. Hiểu rõ được mức độ nguy hiểm về khía cạnh an toàn sinh học, liên quan đến tác nhân gây bệnh trong các giai đoạn thực hiện của quá trình xét nghiệm.

8.2. Yêu cầu về kỹ năng thực hành của phòng xét nghiệm

Tất cả nhân viên phòng xét nghiệm cần được đào tạo về kỹ thuật chuyên môn, cũng như kiến thức cần thiết khác liên quan đến việc sử dụng dụng cụ, trang thiết bị phòng xét nghiệm để có thể làm chủ được dụng cụ, trang thiết bị trong quá trình thực hiện xét nghiệm.

Mặt khác, đào tạo để có kiến thức về các quy định đảm bảo chất lượng phòng xét nghiệm và quản lý chất lượng phòng xét nghiệm.

Phòng xét nghiệm đảm bảo chất lượng xét nghiệm bằng cách thực hiện xét nghiệm trong một điều kiện được kiểm soát, bao gồm:

- Triển khai các quy trình trước xét nghiệm một cách thích hợp.
- Điều kiện về môi trường, thiết bị, vật liệu và hệ thống thông tin.
- Sử dụng các quy trình đã được chấp nhận.
- Đánh giá chất lượng xét nghiệm nhằm xác định những vấn đề sai sót có thể xảy ra, kiểm soát tính phù hợp của kết quả, duy trì và củng cố chất lượng xét nghiệm cho tất cả xét nghiệm.

Trên đây là những cơ sở cho xét nghiệm viên có thể hiểu chức năng, nhiệm vụ và chấp hành các quy trình chuyên môn kỹ thuật và ATSH trong công tác xét nghiệm để hoàn thành nhiệm vụ, phòng lây nhiễm tác nhân gây bệnh truyền nhiễm, đảm bảo an toàn trong lĩnh vực hoạt động được giao .

9. Dự phòng sau phơi nhiễm HIV

9.1. Các dạng phơi nhiễm

Nhân viên y tế đang thi hành nhiệm vụ bị phơi nhiễm HIV khi: *Tiếp xúc trực tiếp với máu, sản phẩm máu và các dịch tiết của cơ thể người nhiễm HIV, có nguy cơ bị phơi nhiễm HIV.*

Các dạng phơi nhiễm với HIV khi đang thi hành nhiệm vụ:

- Máu, sản phẩm máu, chất dịch cơ thể của người nhiễm HIV bắn vào các vùng da bị tổn thương (chàm, bỏng, vết loét, xây xước từ trước) hoặc bắn vào niêm mạc (mắt, mũi, họng ...).
- Tổn thương qua da do các ống đựng máu hoặc chất dịch của người nhiễm HIV bị vỡ đâm vào.
- Vết thương do bị bơm kim tiêm hoặc các dụng cụ sắc nhọn đã hoặc đang dùng cho người nhiễm HIV đâm vào.

9.2. Quy trình xử trí sau phơi nhiễm: Bao gồm các bước sau:

- Bước 1: Xử lý vết thương tại chỗ.
- Bước 2: Báo cáo người phụ trách và làm biên bản (chú ý ghi đầy đủ các thông tin yêu cầu trong Hồ sơ phơi nhiễm).
- Bước 3: Đánh giá nguy cơ phơi nhiễm theo mức độ tổn thương và diện tích tiếp xúc.
- Bước 4: Xác định tình trạng HIV của nguồn gây phơi nhiễm.
- Bước 5: Xác định tình trạng HIV của người bị phơi nhiễm.

- Bước 6: Tư vấn cho người bị phơi nhiễm.
- Bước 7: Điều trị dự phòng bằng thuốc ARV.

9.2.1. Xử lý vết thương tại chỗ

- Tổn thương da chảy máu:
 - + Xối ngay vết thương dưới vòi nước.
 - + Để vết thương tự chảy máu trong một thời gian ngắn, không nặn bóp vết thương.
 - + Rửa kỹ bằng xà phòng và nước sạch,
- Phơi nhiễm qua niêm mạc mắt: Rửa mắt bằng nước cất hoặc nước muối NaCl 0,9% liên tục trong 5 phút.
- Phơi nhiễm qua miệng, mũi:
 - + Rửa, nhỏ mũi bằng nước cất hoặc dung dịch NaCl 0,9 %.
 - + Xúc miệng bằng dung dịch NaCl 0,9 % nhiều lần.

9.2.2. Báo cáo người phụ trách và làm biên bản

Nêu rõ ngày giờ, hoàn cảnh xảy ra, đánh giá vết thương, mức độ nguy cơ của phơi nhiễm. Lấy chữ ký của những người chứng kiến và chữ ký của người phụ trách.

9.2.3. Đánh giá nguy cơ phơi nhiễm

- Có nguy cơ:
 - + Tổn thương do kim có chứa máu đâm xuyên qua da gây chảy máu: kim nông rộng cỡ to, chứa nhiều máu, đâm sâu thì nguy cơ cao hơn kim nông nhỏ, chứa ít máu và đâm xuyên nông.
 - + Tổn thương da sâu do dao mổ hoặc các ống nghiệm chứa máu và chất dịch cơ thể của người bệnh bị vỡ đâm phải.
 - + Máu và chất dịch cơ thể của người bệnh bắn vào các vùng da, niêm mạc bị tổn thương viêm loét hoặc xây sát từ trước (thậm chí ngay cả khi không biết có bị viêm loét hay không): nếu viêm loét hoặc xây sát rộng thì nguy cơ cao hơn.
- Không có nguy cơ: Máu và dịch cơ thể của người bệnh bắn vào vùng da lành.

9.2.4. Xác định tình trạng HIV của nguồn gây phơi nhiễm

- Bệnh nhân đã được xác định HIV dương tính (+): Tìm hiểu các thông tin về tiền sử và đáp ứng đối với thuốc ARV.

- Nếu chưa biết về tình trạng HIV của nguồn gây phơi nhiễm: Tư vấn và lấy máu xét nghiệm HIV.

- Trường hợp không thể xác định được (ví dụ: bị phơi nhiễm trong trường hợp đang làm nhiệm vụ, đối tượng trốn thoát).

9.2.5. Xác định tình trạng HIV của người bị phơi nhiễm

- Tư vấn trước và sau khi xét nghiệm HIV theo quy định.

- Nếu ngay sau khi bị phơi nhiễm, người bị phơi nhiễm có HIV(+): đã bị nhiễm HIV từ trước, không phải do phơi nhiễm.

- Nếu HIV (-): kiểm tra lại sau 3 và 6 tháng.

9.2.6. Tư vấn cho người bị phơi nhiễm

- Nguy cơ nhiễm HIV, viêm gan B, C.

- Người bị phơi nhiễm cần được cung cấp các thông tin và được tư vấn thích hợp về dự phòng phơi nhiễm, lợi ích và nguy cơ.

- Giới thiệu các tác dụng phụ của thuốc và triệu chứng của nhiễm trùng tiên phát: sốt, phát ban, buồn nôn hoặc nôn, thiếu máu, nổi hạch v.v...

- Tư vấn Phòng lây nhiễm cho người khác: người bị phơi nhiễm có thể làm lây truyền HIV cho người khác dù xét nghiệm HIV âm tính (thời kỳ cửa sổ), vì vậy cần phải thực hiện các biện pháp dự phòng lây nhiễm.

- Tư vấn tuân thủ điều trị và hỗ trợ tâm lý.

9.2.7. Điều trị dự phòng bằng thuốc ARV

Điều trị dự phòng khi:

- Người gây phơi nhiễm được xác định là nhiễm HIV.

- Người gây phơi nhiễm hiện có kết quả XN HIV (-): nhưng là đối tượng có nguy cơ cao, có thể trong giai đoạn cửa sổ.

- Không xác định được tình trạng HIV của nguồn lây.

Nguyên tắc quan trọng điều trị dự phòng bằng ARV càng sớm càng tốt. Tốt nhất trong vòng 2-6 giờ đầu và trước 72 giờ.

Điều trị dự phòng phơi nhiễm bằng thuốc ARV theo các hướng dẫn hiện hành. Thông thường là phối hợp 03 loại thuốc và trong thời gian 28 ngày.

Ngoài ra cần chú ý điều trị dự phòng các bệnh khác như HBV, HCV ...

Tóm tắt các yếu tố thuận lợi dễ xảy ra tai nạn nghề nghiệp:

- Không tuân thủ nguyên tắc an toàn sinh học chung.

- Kỹ thuật, biện pháp xử trí cơ bản còn hạn chế.
- Tâm lý cá nhân bị ức chế, căng thẳng, mệt mỏi, chủ quan.
- Hệ thống quy trình, điều kiện nhân sự vật chất chưa phù hợp.

Biện pháp khắc phục:

- Luôn tuân thủ nguyên tắc an toàn sinh học chung.
- Thường xuyên nâng cao huấn luyện kiểm tra bổ sung các kỹ thuật, biện pháp xử trí cơ bản.
- Có nhiều kỹ năng hình thức hỗ trợ giải quyết tâm lý cá nhân.
- Xây dựng, xác lập, thực hiện giám sát và điều chỉnh thích ứng hệ thống quy trình chăm sóc điều trị bệnh, xử lý vệ sinh y tế, chất thải độc hại.
- Tổ chức tạo điều kiện nhân sự ,vật chất phù hợp nhu cầu công việc.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

Lựa chọn 1 đáp án đúng cho các câu hỏi sau:

1. Để đảm bảo an toàn sức khỏe cho nhân viên
 - a. Nhân viên phải được đào tạo để tuân thủ thực hành an toàn sinh học.
 - b. Có chương trình chủng ngừa thích hợp với công việc cho nhân viên phòng thí nghiệm.
 - c. Có hộp y tế sơ cứu ở những vị trí quan trọng.
 - d. Nhân viên PXN được khuyến khích báo cáo các trường hợp phơi nhiễm tiềm tàng.
 - e. Tất cả đều đúng.
2. Để xử lý vật liệu nhiễm trùng, câu nào chưa đúng
 - a. Có chất khử trùng thích hợp.
 - b. Bất cứ nhân viên nào cũng có thể thực hiện việc vận chuyển chất nhiễm trùng.
 - c. Vật liệu nhiễm trùng thải bỏ được mang đi hàng ngày hoặc thường xuyên hơn một cách an toàn.
 - d. Tất cả nhân viên phải có kiến thức về quy trình xử lý các vật liệu nhiễm trùng đổ vỡ, tràn.
 - e. Có đầy đủ phương tiện để xử lý khi sự cố xảy ra.
3. Để phòng và chữa cháy trong phòng xét nghiệm, câu nào chưa đúng
 - a. Các dung dịch hóa chất dễ cháy phải được dán nhãn và cất giữ trong các bình chứa và các nơi thích hợp.
 - b. Khu vực dễ cháy phải được cảnh báo rõ ràng.
 - c. Chỉ những người chịu trách nhiệm về phòng/chữa cháy của đơn vị mới có trách nhiệm và được tập huấn, diễn tập về công tác này.
 - d. Hệ thống phát hiện cháy phải đang hoạt động tốt và thường xuyên được kiểm tra.
 - e. Các bình chữa cháy di động luôn được nạp đầy, luôn hoạt động tốt và để đúng chỗ theo quy định.
4. Hãy nêu những lợi ích khi hàng năm phải tiến hành đánh giá về an toàn sinh học trong phòng thí nghiệm?

5. Khi bị sự cố đổ dung dịch chứa tác nhân gây bệnh lên bàn xét nghiệm, câu trả lời nào sau đây là đúng nhất:

- Đổ hóa chất khử trùng lên vùng bị đổ theo chiều từ ngoài vào trong và chờ trong 30 phút.
- Đổ hóa chất khử trùng lên vùng bị đổ theo chiều từ trong ra ngoài và chờ trong 30 phút
- Đổ hóa chất khử trùng lên vùng bị đổ theo chiều từ ngoài vào trong và chờ trong tối thiểu 20 phút
- Đổ hóa chất khử trùng lên vùng bị đổ theo chiều từ trong ra ngoài và chờ trong tối thiểu 20 phút.

6. Có mấy cấp độ an toàn sinh học?

7. Lựa chọn nhóm nguy cơ phù hợp của các vi sinh vật dưới đây (Đánh dấu $\checkmark$ vào ô thích hợp).

STT	Tác nhân gây bệnh	Nhóm nguy cơ			
		1	2	3	4
1	Vi rút cúm A/H5N1				
2	Vi rút viêm gan B				
3	Vi rút gây suy giảm miễn dịch mắc phải ở người - HIV				
4	Vi khuẩn Bacillus subtilis				
5	Vi khuẩn than				

8. Căn cứ vào đâu để xác định cấp độ ATSH của một phòng xét nghiệm?

THỰC HÀNH

BÀI 5: TIÊU CHUẨN PHÒNG XÉT NGHIỆM VÀ SẮP XẾP BỐ TRÍ PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV

1. Vẽ sơ đồ hiện tại Phòng xét nghiệm của đơn vị (20 phút).
2. Bố trí lại Phòng xét nghiệm theo các tiêu chuẩn và nguyên tắc vừa học (20 phút)

ĐÁP ÁN CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

BÀI 3: LẤY MẪU, ĐÓNG GÓI, VẬN CHUYỂN VÀ BẢO QUẢN MẪU BỆNH PHẪM

1. a 2. d 3. c 4. d 5. a 6. a 7. b 8. b 9. d 10. d

BÀI 4: QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV

1. a (Tổ chức), b (Chất lượng) 2. Mục tiêu chất lượng 3. c 4. c 5. d
6. c 7. b 8. a 9. c 10. b 11. a 12. d

BÀI 5: TIÊU CHUẨN PHÒNG XÉT NGHIỆM VÀ SẮP XẾP BỐ TRÍ PHÒNG XÉT NGHIỆM HIV

1. b 2. d 3. a: iii b: iv c: i d. ii 4. c

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. National guideline for HIV testing. A manual for laboratory practices. Thai ministry of Public Health 2007.
2. Thông tư 43/2011/TT-BYT ngày 5/12/2011 ban hành quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm.
3. Program for Appropriate Technology in Health PATH 6-2005, Collecting, Processing, and Handling Venous, Capillary, and Blood Spot Samples.

CÁC VĂN BẢN, HƯỚNG DẪN LIÊN QUAN ĐẾN XÉT NGHIỆM HIV

1. Nghị định số 75/2016/NĐ-CP ngày 01/7/2016 của Chính phủ ban hành Quy định điều kiện xét nghiệm HIV.
3. Thông tư số 01/2015/TT-BYT ngày 27/2/2015 của Bộ Y tế Hướng dẫn tư vấn phòng, chống HIV/AIDS tại cơ sở y tế.
4. Quyết định số 909/QĐ-BYT ngày 21/3/2013 của Bộ Y tế về việc ban hành Kế hoạch hoạt động xét nghiệm trong công tác phòng, chống HIV/AIDS, giai đoạn 2013-2017.
5. Quyết định số 1098/QĐ-BYT ngày 04/4/2013 của Bộ Y tế về Hướng dẫn Quốc gia về xét nghiệm huyết thanh học HIV
6. Quyết định số 1099/QĐ-BYT ngày 04/4/2013 của Bộ Y tế về Điều kiện thực hiện và đảm bảo chất lượng xét nghiệm đếm tế bào T-CD4.
7. Quyết định số 1921/QĐ-BYT ngày 05/6/2013 của Bộ Y tế về việc ban hành Hướng dẫn Thực hiện xét nghiệm tải lượng HIV1 trong theo dõi điều trị HIV/AIDS.
8. Quyết định số 1053/QĐ-BYT ngày 02/04/2010 của Bộ Y tế về chẩn đoán sớm ở trẻ sinh ra từ bà mẹ nhiễm HIV.
9. Thông tư số 33/2011/TT-BYT ngày 26/8/2011 của Bộ Y tế quy định việc bắt buộc xét nghiệm HIV trong một số trường hợp cần thiết để chẩn đoán và điều trị cho người bệnh.
11. Thông tư số 01/2010/TT-BYT ngày 06/01/2010 của Bộ Y tế quy định trách nhiệm, trình tự thông báo kết quả xét nghiệm HIV dương tính.
12. Thông tư số 33/2011/TT-BYT ngày 26/8/2011 của Bộ Y tế quy định việc bắt buộc xét nghiệm HIV trong một số trường hợp cần thiết để chẩn đoán và điều trị cho người bệnh.

13. Nghị định số 103/2016/NĐ-CP ngày 01 tháng 7 năm 2016 của Chính phủ Quy định về đảm bảo an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm
14. Thông tư số 43/2011/TT-BYT ngày 05 tháng 12 năm 2011 của Bộ Y tế quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm.
15. Quyết định số 43/2007/QĐ-BYT ngày 30 tháng 11 năm 2007 của Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế Quản lý chất thải y tế.