

BỘ Y TẾ

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

Số: /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

DỰ THẢO
xin ý kiến các cơ
quan/tổ chức

QUYẾT ĐỊNH
Ban hành Hướng dẫn quốc gia xét nghiệm HIV

*Căn cứ Nghị định số 95/2022/NĐ-CP ngày 15 tháng 11 năm 2022 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;
Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Phòng, chống HIV/AIDS;
Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành Hướng dẫn quốc gia xét nghiệm HIV.*

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này “Hướng dẫn quốc gia xét nghiệm HIV”.

Điều 2. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký, ban hành.

Điều 3. Quyết định này thay thế Quyết định số 2674/QĐ-BYT ngày 17/04/2018 của Bộ Y tế về việc ban hành Hướng dẫn quốc gia về xét nghiệm HIV.

Điều 4. Trường hợp các văn bản quy phạm pháp luật và các quy định được viện dẫn trong Quyết định này có sự thay đổi, bổ sung hoặc được thay thế thì áp dụng theo văn bản quy phạm pháp luật mới.

Điều 5. Các ông/bà: Chánh Văn phòng Bộ, Cục trưởng, Vụ trưởng, Thủ trưởng các đơn vị trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh/thành phố trực thuộc Trung ương và Thủ trưởng các đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều 5;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng (để biết);
- Lưu: VT, AIDS (2).

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG

Nguyễn Thị Liên Hương

BỘ Y TẾ

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

HƯỚNG DẪN QUỐC GIA XÉT NGHIỆM HIV

*(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BYT, ngày tháng năm 2023
của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

Phần I

QUY ĐỊNH CHUNG

1. Phạm vi áp dụng

1.1. Hướng dẫn này quy định về việc thực hiện các kỹ thuật xét nghiệm HIV, đảm bảo chất lượng xét nghiệm.

1.2. Hướng dẫn này áp dụng đối với việc thực hiện xét nghiệm sàng lọc tại cộng đồng và xét nghiệm tại cơ sở y tế.

2. Mục đích xét nghiệm

2.1. Đảm bảo an toàn trong truyền máu, cấy ghép mô, bộ phận cơ thể người và thụ tinh nhân tạo.

2.2. Giám sát trọng điểm HIV

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

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

3. Nguyên tắc xét nghiệm

3.1. Đảm bảo tính bí mật, tự nguyện, chỉ thực hiện xét nghiệm HIV bắt buộc để phục vụ chẩn đoán và điều trị cho người bệnh trong một số trường hợp nhất định theo quy định của Luật Phòng, chống HIV/AIDS.

3.2. Cung cấp thông tin trước và tư vấn sau xét nghiệm.

3.3. Tuân thủ chiến lược, phương cách, quy trình xét nghiệm.

3.4. Đảm bảo chất lượng xét nghiệm và an toàn sinh học.

3.5. Kết nối với các chương trình dự phòng và chăm sóc điều trị.

3.6. Xét nghiệm HIV có thể thực hiện trong hoặc ngoài cơ sở y tế. Tuy nhiên, chỉ những cơ sở được các cơ quan có thẩm quyền cấp 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.

4. Phân loại phương pháp, kỹ thuật xét nghiệm HIV

Các xét nghiệm phát hiện nhiễm HIV được chia thành các phương pháp chính:

4.1. Phương pháp xét nghiệm huyết thanh học: sử dụng các kỹ thuật phát hiện sự hiện diện của kháng thể kháng HIV và/hoặc kháng nguyên HIV trong máu hoặc các dịch tiết để xác định tình trạng nhiễm HIV ở người lớn và trẻ em trên 18 tháng tuổi. Nhóm phương pháp này có các kỹ thuật sau:

- Kỹ thuật xét nghiệm nhanh/đơn giản: các kỹ thuật nhanh (miễn dịch sắc ký, miễn dịch lọc, chấm – thấm) và ngưng kết hạt vi lượng;
- Kỹ thuật miễn dịch đánh dấu: các kỹ thuật ELISA, hóa/điện hóa phát quang.

4.2. Phương pháp xét nghiệm sinh học phân tử (NAT): sử dụng các kỹ thuật phát hiện sự hiện diện vật liệu di truyền của HIV (RNA/DNA) trong máu hoặc các dịch tiết.

Phương pháp và kỹ thuật xét nghiệm HIV được hướng dẫn cụ thể tại phụ lục VI ban hành kèm theo Hướng dẫn này.

5. Giải thích từ ngữ

Nhiễm HIV cấp (nhiễm cấp): là giai đoạn từ khi một người bị phơi nhiễm HIV đến lúc kháng thể kháng HIV có thể phát hiện được bằng kỹ thuật huyết thanh học.

Nhiễm mới HIV: trường hợp nhiễm HIV được xác định sau khi HIV xâm nhập vào cơ thể đến trước 12 tháng hoặc được xác định theo các dấu ấn sinh học quan sát được. Xét nghiệm phát hiện nhiễm mới HIV là xét nghiệm để phân loại một trường hợp nhiễm mới hay nhiễm lâu.

Phần II

HƯỚNG DẪN XÉT NGHIỆM HIV

Chương I

XÉT NGHIỆM HUYẾT THANH HỌC

Mục 1

Chiến lược, phương cách, sinh phẩm xét nghiệm

1. Các chiến lược xét nghiệm

Xét nghiệm huyết thanh học HIV được tiến hành theo những chiến lược khác nhau tùy thuộc vào mục đích xét nghiệm, tỷ lệ hiện nhiễm HIV của quần thể xét nghiệm.

Sơ đồ thực hiện các chiến lược xét nghiệm áp dụng theo hướng dẫn quy định tại phụ lục I ban hành kèm theo Hướng dẫn này.

1.1. Chiến lược I:

- Áp dụng cho xét nghiệm sàng lọc nhiễm HIV trong an toàn truyền máu, người cho mô và bộ phận cơ thể, tình trùng, noãn và phôi. Đối với an toàn truyền máu tuân thủ theo các quy định hiện hành về hoạt động truyền máu và sàng lọc đơn vị máu an toàn.

- Mẫu được coi là dương tính theo chiến lược I khi kết quả xét nghiệm mẫu đó có phản ứng với sinh phẩm có độ nhạy cao.

1.2. Chiến lược II:

- Áp dụng cho giám sát trọng điểm HIV.
- Mẫu được coi là dương tính theo chiến lược II khi kết quả xét nghiệm mẫu bằng cả hai loại sinh phẩm có nguyên lý hoặc chuẩn bị kháng nguyên khác nhau có phản ứng.
- Kết quả xét nghiệm HIV theo chiến lược II chỉ dùng cho mục đích giám sát dịch tễ, không thông báo cho người được làm xét nghiệm.
- Đối với các mẫu giám sát trọng điểm, tiến hành tư vấn và kết nối, chuyển gửi khách hàng đến các cơ sở xét nghiệm để xét nghiệm chẩn đoán theo quy định khi kết quả có phản ứng với sinh phẩm thứ nhất.

1.3. Chiến lược III:

- Áp dụng cho xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV đối với các trường hợp ≥ 18 tháng tuổi.
- Mẫu được coi là dương tính theo chiến lược III khi kết quả xét nghiệm mẫu có phản ứng với cả ba loại sinh phẩm có nguyên lý hoặc chuẩn bị kháng nguyên khác nhau.

2. Phương cách xét nghiệm HIV

- Phương cách xét nghiệm là tổ hợp các sinh phẩm đã được lựa chọn để thực hiện xét nghiệm theo thứ tự nhất định.
- Thứ tự thực hiện xét nghiệm bằng các sinh phẩm được lựa chọn trong một phương cách xét nghiệm cần bảo đảm nguyên tắc: (i) sinh phẩm sàng lọc đầu tiên phải có độ nhạy cao nhất; (ii) các sinh phẩm bổ sung phải có độ đặc hiệu cao và ưu tiên các sinh phẩm có độ nhạy cao; (iii) cần lựa chọn các sinh phẩm không có hoặc ít có cùng nhược điểm như cùng âm tính giả hoặc cùng dương tính giả trong một phương cách.
- Lựa chọn phương cách xét nghiệm tùy thuộc vào: (i) mục đích xét nghiệm; (ii) số lượng mẫu; (iii) yêu cầu thời gian trả lời kết quả; (iv) tỷ lệ nhiễm HIV; (v) điều kiện và năng lực thực tế của cơ sở xét nghiệm.
- Nên lựa chọn phương cách xét nghiệm theo khuyến cáo phương cách xét nghiệm HIV quốc gia. Trong trường hợp không thực hiện theo khuyến cáo cần xây dựng, xem xét phương cách xét nghiệm của đơn vị tùy thuộc vào tình hình thực tế và số lượng mẫu thực hiện xét nghiệm tại cơ sở xét nghiệm.

3. Sinh phẩm xét nghiệm HIV

3.1. Các sinh phẩm xét nghiệm (viết tắt là SP) phải được Bộ Y tế cấp phép lưu hành hoặc cho phép sử dụng.

3.2. Các sinh phẩm xét nghiệm đáp ứng các tiêu chuẩn sau:

a) Các sinh phẩm sử dụng cho an toàn truyền máu hoặc cấy ghép mô, nội tạng phải tuân thủ theo các quy định chuyên môn về an toàn truyền máu.

b) Các sinh phẩm dùng trong xét nghiệm HIV cho chiến lược II, III phải có đặc điểm sau:

TT	Đặc điểm sinh phẩm thực hiện ¹	Yêu cầu tối thiểu
1	Độ nhạy	
-	Sinh phẩm sàng lọc (SP1)	≥ 99,5% đối với SP nhanh 100% với SP miễn dịch đánh dấu
-	Sinh phẩm bổ sung (SP2, SP3)	≥ 99,5% đối với SP nhanh 100% với SP miễn dịch đánh dấu
2	Độ đặc hiệu	
-	Sinh phẩm sàng lọc (SP1)	≥ 98% đối với SP nhanh và SP miễn dịch đánh dấu
-	Sinh phẩm bổ sung (SP2, SP3)	≥ 99% đối với SP nhanh và SP miễn dịch đánh dấu

- Độ nhạy, độ đặc hiệu của sinh phẩm xét nghiệm được lựa chọn dựa trên kết quả đánh giá chất lượng sinh phẩm của Quốc gia hoặc các tổ chức quốc tế như Tổ chức Y tế Thế giới (TCYTTG), Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ, Phòng thí nghiệm quốc gia Úc (NRL) – là phòng thí nghiệm tham chiếu khu vực của TCYTTG hoặc các tổ chức có uy tín khác.

c) Sinh phẩm áp dụng cho xét nghiệm tại cộng đồng phải có những đặc điểm sau:

TT	Đặc điểm sinh phẩm thực hiện	Yêu cầu tối thiểu
1	Độ nhạy	
-	Sinh phẩm sử dụng dịch miệng	> 99,0%
-	Sinh phẩm sử dụng máu đầu ngón tay/máu toàn phần	> 99,5%
2	Độ đặc hiệu	> 98%

3.3. Các sinh phẩm xét nghiệm 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; hoặc có thể phát hiện đồng thời kháng nguyên và kháng thể kháng HIV 1/2.

3.4. Bảo quản, sử dụng sinh phẩm xét nghiệm thực hiện theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

¹ Tham khảo Hướng dẫn xét nghiệm HIV của Tổ chức Y tế thế giới 2015, 2021

Mục 2

Thực hiện xét nghiệm

I. Xét nghiệm sàng lọc tại cộng đồng

Bao gồm các hình thức xét nghiệm sau:

- Tự xét nghiệm.
- Xét nghiệm do những người không làm trong phòng xét nghiệm HIV thực hiện).
- Xét nghiệm do nhân viên cơ sở xét nghiệm thực hiện.

1. Tự xét nghiệm

1.1. Khái niệm: Tự xét nghiệm HIV là quá trình người được xét nghiệm tự thực hiện tất cả các bước của việc xét nghiệm HIV bao gồm: tự lấy mẫu, tự làm xét nghiệm và tự đọc kết quả.

1.2. Quy trình thực hiện:

1.2.1. Thu thập mẫu bệnh phẩm

a. Lấy dịch miệng

- Không ăn hoặc uống trước 15 phút, không sử dụng sản phẩm chăm sóc răng miệng trước 30 phút.
- Kiểm tra ngày hết hạn, tính nguyên vẹn của thanh xét nghiệm và các dung dịch đi kèm.
- Lấy thanh xét nghiệm ra khỏi túi, tránh chạm tay vào phần bông thu thập mẫu.
- Kiểm tra túi giữ ỉm đi kèm, nếu không có túi giữ ỉm, loại bỏ thanh xét nghiệm.
- Đặt đầu lấy mẫu vào phần thấp của má và phần nướu răng, quét nhẹ nhàng 1 vòng quanh nướu răng cả hàm trên và hàm dưới.

b. Lấy máu đầu ngón tay

- Chuẩn bị dụng cụ: Kim/lưỡi chích (lancet) có lấy dùng một lần chuyên dụng, ống mao quản có thể tích phù hợp.
- Chuẩn bị lấy máu
 - + Điền thông tin về người được làm xét nghiệm (họ tên hoặc mã số lên thanh xét nghiệm (trong trường hợp cần thiết).
- Tiến hành lấy máu
 - + Người được làm xét nghiệm làm ấm bàn tay bằng cách xoa hai tay với nhau hoặc rửa tay bằng nước ấm;
 - + Xác định vị trí chích máu: Vị trí chích máu tốt nhất là mặt bên (trái hoặc phải) của ngón tay thứ 3 (ngón giữa) hoặc thứ 4 (ngón áp út);

- + Người được làm xét nghiệm duỗi bàn tay xuống phía dưới;
- + Sát khuẩn vị trí lấy máu bằng cồn 70 độ và để khô trong vòng 30 giây;
- + Dùng kim/lưỡi chích vuông góc với mặt da đầu ngón tay, ấn nhẹ lấy nhanh, dứt khoát. Đảm bảo giữ kim chích đúng góc và không làm nghiêng;
- + Lau bỏ giọt máu đầu tiên (tùy thuộc vào sinh phẩm sử dụng);
- + 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 tiết ra dịch tổ chức mô xung quanh sẽ ảnh hưởng đến chất lượng mẫu); trong trường hợp lượng máu không đủ, nhẹ nhàng tạo áp lực không liên tục gần vị trí vết chích để có lượng mẫu yêu cầu.
- + Ống mao quản sau khi lấy đủ thể tích được chuyển vào ống bảo quản mẫu hoặc nhỏ trực tiếp vào thanh xét nghiệm tùy thuộc sinh phẩm sử dụng.
- + Sát trùng lại vị trí đã lấy máu bằng cồn 70 độ và băng lại;
- + Kim chích, ống mao quản đã sử dụng được bỏ vào bao nhôm đựng thanh xét nghiệm, đóng túi zip, bỏ vào thùng rác sinh hoạt;
- + Mẫu sau khi lấy thực hiện xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất;

1.2.2. Thực hiện xét nghiệm và biện luận kết quả theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kết quả xét nghiệm chỉ nhằm mục đích sàng lọc ban đầu, không được sử dụng để chẩn đoán nhiễm HIV. Trường hợp kết quả xét nghiệm có phản ứng, người tự xét nghiệm cần đến cơ sở y tế để thực hiện xét nghiệm khẳng định HIV theo quy định.

2. Xét nghiệm do người không làm trong phòng xét nghiệm HIV thực hiện (Xét nghiệm không chuyên).

2.1. Khái niệm: Là hình thức xét nghiệm được cung cấp tại cộng đồng, bên ngoài cơ sở y tế, thực hiện bởi nhân viên tiếp cận cộng đồng/y tế thôn bản/nhân viên y tế đã được tập huấn về xét nghiệm HIV.

2.2. Quy trình thực hiện:

Việc tư vấn, lấy mẫu xét nghiệm phải thực hiện tại khu vực sạch sẽ, đủ ánh sáng và bảo đảm riêng tư cho khách hàng.

2.2.1. Thu thập mẫu bệnh phẩm: thực hiện theo quy định tại điểm 1.2.1 phần 1 Tiểu mục I Mục 2 của chương này.

2.2.2. Thực hiện xét nghiệm, biện luận kết quả theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.3. Trả kết quả

- Nếu kết quả xét nghiệm âm tính, thực hiện tư vấn và thông báo kết quả cho khách hàng.

- Nếu kết quả xét nghiệm có phản ứng, thực hiện tư vấn và giới thiệu khách hàng đến cơ sở y tế để xét nghiệm khẳng định HIV theo quy định.

2.3. Bảo đảm chất lượng xét nghiệm

- Tuân thủ việc lấy mẫu, thực hiện xét nghiệm, đọc và biện luận kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Thực hiện xét nghiệm tại khu vực sạch, đủ ánh sáng, tránh gió, bằng phẳng và dễ khử khuẩn.
- Bảo quản và sử dụng sinh phẩm xét nghiệm theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất. Trong trường hợp sinh phẩm bảo quản tại nhiệt độ phòng cần lưu ý để sinh phẩm ở những nơi thoáng mát, tránh ánh sáng chiếu trực tiếp.
- Luôn sử dụng đồng hồ đo thời gian khi thực hiện xét nghiệm.

2.4. An toàn sinh học:

- Người thực hiện xét nghiệm cần được hướng dẫn, phổ biến kiến thức về an toàn sinh học, kiểm soát phòng ngừa nguy cơ lây nhiễm và xử trí khi có sự cố và phơi nhiễm...
- Chuẩn bị đầy đủ túi rác y tế, hộp đựng vật sắc nhọn.
- Đeo găng tay khi thực hiện xét nghiệm và rửa tay hoặc sát khuẩn tay ngay sau khi tháo găng tay, kết thúc quy trình xét nghiệm.
- Thực hiện vệ sinh, khử nhiễm bề mặt khu vực lấy mẫu, xét nghiệm bằng cồn 70 độ.
- Thu gom chất thải phát sinh trong quá trình thu thập mẫu, thực hiện xét nghiệm vào các vật dụng chứa phù hợp và xử lý theo quy định về thực hành an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm do Bộ Y tế ban hành.

3. Xét nghiệm do nhân viên phòng xét nghiệm HIV thực hiện

3.1. Khái niệm: Là hình thức xét nghiệm được thực hiện bởi nhân viên xét nghiệm thuộc các cơ sở xét nghiệm đã được tập huấn về xét nghiệm HIV.

3.2. Quy trình thực hiện:

Việc tư vấn, lấy mẫu xét nghiệm phải thực hiện tại khu vực sạch sẽ, thoải mái, đủ ánh sáng và bảo đảm riêng tư cho khách hàng.

3.2.1. Thu thập và bảo quản mẫu bệnh phẩm

a) Việc lấy mẫu bệnh phẩm dịch miệng hoặc máu đầu ngón tay thực hiện theo quy định tại điểm 1.2.1 phần 1 tiêu mục I Mục 2 của chương này.

b) Trong trường hợp lấy máu tĩnh mạch, bệnh phẩm cần được thu thập như sau:

- Chuẩn bị dụng cụ: bơm kim tiêm vô trùng hoặc bộ dụng cụ lấy máu bằng ống hút chân không (vacutainer, kim, giá đỡ), pipet nhựa dùng 1 lần (nếu cần), ống nghiệm có nắp đậy, ống nghiệm có chất chống đông (khi cần thu thập mẫu huyết tương), găng tay, khẩu trang, dây ga rô, bông y tế, cồn 70 độ, bút dạ, giá để ống nghiệm, thùng đựng các vật sắc nhọn và rác thải y tế.
- Chuẩn bị lấy máu

+ Điền đầy đủ các thông tin về người được làm xét nghiệm (họ tên/mã số và năm sinh/tuổi) và ngày lấy mẫu trên phiếu xét nghiệm và ống đựng mẫu.

+ Rửa tay và đeo găng tay.

- Tiến hành lấy máu

+ Xác định vị trí lấy máu (tĩnh mạch) và sát khuẩn bằng cồn 70 độ và để khô trong vòng 30 giây.

+ Đưa kim vào tĩnh mạch lấy tối thiểu 4 ml máu cho vào ống đựng máu. Có thể dùng bơm kim tiêm loại 5ml (đầu kim cỡ 21G - 23G) để lấy máu hoặc dùng bộ dụng cụ lấy máu với ống hút chân không (vacutainer). Nếu dùng bơm kim tiêm để lấy máu thì sau khi lấy máu tháo đầu kim ra, để bơm tiêm chếch 45 độ với thành ống nghiệm và bơm từ từ cho máu chảy theo thành ống nghiệm tránh làm vỡ hồng cầu.

+ Tháo bỏ đầu kim vào hộp đựng các vật sắc nhọn, bơm tiêm đã qua sử dụng bỏ vào thùng đựng rác thải y tế;

+ Sát trùng lại vị trí lấy máu bằng cồn 70 độ và băng lại.

+ Với ống có chất chống đông cần trộn đều máu với chất chống đông bằng cách đảo ngược ống máu nhẹ nhàng 8-10 lần.

- Tách huyết thanh/huyết tương:

+ Sau khi lấy máu phải để ống máu ổn định 30 phút và không quá 2 giờ ở nhiệt độ phòng, tiến hành tách huyết thanh/huyết tương. Trường hợp không tách được huyết thanh/huyết tương trong vòng 2 giờ, để mẫu ổn định ở nhiệt độ phòng 30 phút, sau đó bảo quản ở nhiệt độ 4 - 8°C và tách huyết thanh/huyết tương trong vòng 24 giờ.

+ Trước khi ly tâm phải để thẳng bằng các ống máu trong máy ly tâm. Tiến hành ly tâm tốc độ 2000 - 2500 vòng/phút trong vòng 10-20 phút. Sử dụng pipet tách phần huyết thanh/huyết tương vào ống nghiệm đựng mẫu với mã số tương ứng rồi đóng chặt nắp.

+ Không có máy ly tâm: Để ống nghiệm trên giá trong vòng 30 phút, sau đó để vào tủ lạnh ở nhiệt độ 4 - 8°C tối thiểu 2 giờ nhưng không quá 24 giờ, tách huyết thanh/huyết tương cho vào ống nghiệm đựng mẫu với mã số tương ứng rồi đóng chặt nắp.

+ Thể tích huyết thanh/huyết tương thu thập được tối thiểu 1,5 ml

- Đóng gói, vận chuyển mẫu: thực hiện theo quy định tại điểm 1.2 phần 1 tiêu mục II Mục 2 của chương này.

3.2.2. Thực hiện xét nghiệm, đọc và biện luận kết quả theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

3.2.3. Trả kết quả

- Nếu kết quả xét nghiệm âm tính: tư vấn và thông báo kết quả âm tính cho khách hàng.

- Nếu kết quả xét nghiệm có phản ứng: Lấy mẫu máu tĩnh mạch hoặc giới thiệu khách hàng đến cơ sở y tế để xét nghiệm khẳng định theo quy định, tư vấn hẹn trả kết quả.

3.3. Bảo đảm chất lượng xét nghiệm

- Thực hiện theo quy định tại điểm 2.3 phần 2 tiểu mục I Mục 2 chương này.

3.4. An toàn sinh học:

- Thực hiện theo quy định tại điểm 2.4 phần 2 tiểu mục I Mục 2 chương này.

II. Xét nghiệm sàng lọc HIV tại cơ sở y tế

Các yêu cầu về nhân sự, cơ sở vật chất và trang thiết bị thực hiện theo các quy định hiện hành liên quan đến điều kiện thực hiện xét nghiệm HIV của Chính phủ và Bộ Y tế.

1. Thu thập, vận chuyển, bảo quản, tiêu hủy bệnh phẩm xét nghiệm.

1.1. Thu thập mẫu thực hiện theo các quy định tại điểm 3.2.1 phần 3 tiểu mục I Mục 2 chương này.

1.2. Vận chuyển mẫu

1.2.1. Đóng gói mẫu:

- Đóng gói 3 lớp

+ Lớp 1 (ống đựng mẫu): Đeo găng tay đóng chặt các nắp của ống mẫu và xếp tất cả các ống mẫu theo chiều thẳng đứng vào trong giá đựng mẫu. Dùng băng dính, giấy parafin cố định các ống mẫu trong giá đựng bệnh phẩm (nếu cần).

+ Lớp 2 (túi, hộp, gói bằng vật liệu bền không thấm nước, không rò rỉ, chịu được nhiệt độ 40-55°C): Cho đủ vật liệu chống va đập và vật liệu thấm hút (bông thấm nước hoặc giấy thấm) vào giữa lớp thứ 1 và lớp thứ 2, để trong trường hợp đổ vỡ vật liệu thấm hút sẽ hấp thụ toàn bộ lượng mẫu.

+ Lớp 3, lớp ngoài cùng (hộp, thùng cứng, chịu được va đập, không rò rỉ). Giữa lớp thứ 2 và lớp ngoài cùng có các túi tích lạnh để đảm bảo mẫu được bảo quản từ 4 - 8°C trong quá trình vận chuyển. Trong trường hợp mẫu vận chuyển ở nhiệt độ âm sâu cần sử dụng đá khô để vận chuyển thì lớp ngoài cùng cần có lỗ thoát khí CO₂.

- 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.

- **Lưu ý:** Không để các giấy tờ đi kèm (phiếu yêu cầu xét nghiệm, danh sách mẫu) vào trong hộp vận chuyển mẫu.

1.2.2. Vận chuyển mẫu

- Vận chuyển mẫu bệnh phẩm phải tuân thủ các quy định của Bộ Y tế về vận chuyển các tác nhân có khả năng gây bệnh.

- Gọi điện báo trước cho phòng xét nghiệm biết thời gian bệnh phẩm sẽ tới để phòng xét nghiệm bố trí cán bộ tiếp nhận.

- Bệnh phẩm gửi đi phải kèm theo phiếu yêu cầu xét nghiệm điền đầy đủ các thông tin.

- Mẫu bệnh phẩm phải được bảo quản với nhiệt độ phù hợp trong suốt quá trình vận chuyển.

- Trong quá trình vận chuyển, phải buộc chặt hộp chứa mẫu bệnh phẩm vào giá chở hàng, đảm bảo gọn gàng, 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.

1.2.3. Tiếp nhận mẫu

- Khi nhận mẫu kiểm tra tình trạng mẫu bao gồm quy cách đóng gói, kiểm tra nhiệt độ trong hộp vận chuyển, chất lượng mẫu, đối chiếu thông tin trên ống đựng máu, phiếu gửi mẫu xét nghiệm.

- Thông báo cho nơi gửi xét nghiệm lấy lại mẫu trong các trường hợp: máu bị đông, nấm mốc, huyết thanh đã bị tán huyết, mẫu được bảo quản và vận chuyển trong môi trường có nhiệt độ không đúng quy định, mẫu không đủ thể tích yêu cầu, mẫu được chuyển đến quá thời gian quy định.

- Thông báo cho nơi gửi mẫu xét nghiệm bổ sung thông tin trong trường hợp: thiếu thông tin về địa chỉ, ngày, thu thập mẫu trên phiếu xét nghiệm. Trong trường hợp có sự sai lệch giữa thông tin trên phiếu và trên ống mẫu, đơn vị gửi mẫu cần xác nhận thông tin đúng, hoặc kết quả sẽ trả theo thông tin trên ống đựng mẫu.

- Ký nhận vào phiếu gửi mẫu và ghi chép vào sổ nhận mẫu các thông tin về số lượng mẫu, người nhận, thời gian nhận và tình trạng chất lượng mẫu bệnh phẩm lúc nhận được.

- Trường hợp các mẫu đặc biệt bắt buộc phải thực hiện xét nghiệm như mẫu trung cầu giám định pháp y, mẫu tử thi... cần thực hiện như sau:

- + Phiếu gửi mẫu: ghi rõ loại mẫu, thể tích, tình trạng mẫu

- + Tiếp nhận mẫu: ghi rõ tình trạng mẫu khi tiếp nhận về thể tích, chất lượng mẫu.

- + Thực hiện xét nghiệm: Theo đúng hướng dẫn về xét nghiệm.

- + Trả kết quả xét nghiệm: Phiếu trả kết quả cần chú thích về loại mẫu và tình trạng mẫu.

1.3. Bảo quản mẫu

- Điều kiện bảo quản mẫu bệnh phẩm khác nhau tùy theo từng loại mẫu, kỹ thuật xét nghiệm, sinh phẩm xét nghiệm. Mẫu huyết thanh/huyết tương chờ xét nghiệm cần bảo quản tại nhiệt độ 4 - 8°C (tùy thuộc vào hướng dẫn của nhà sản xuất).

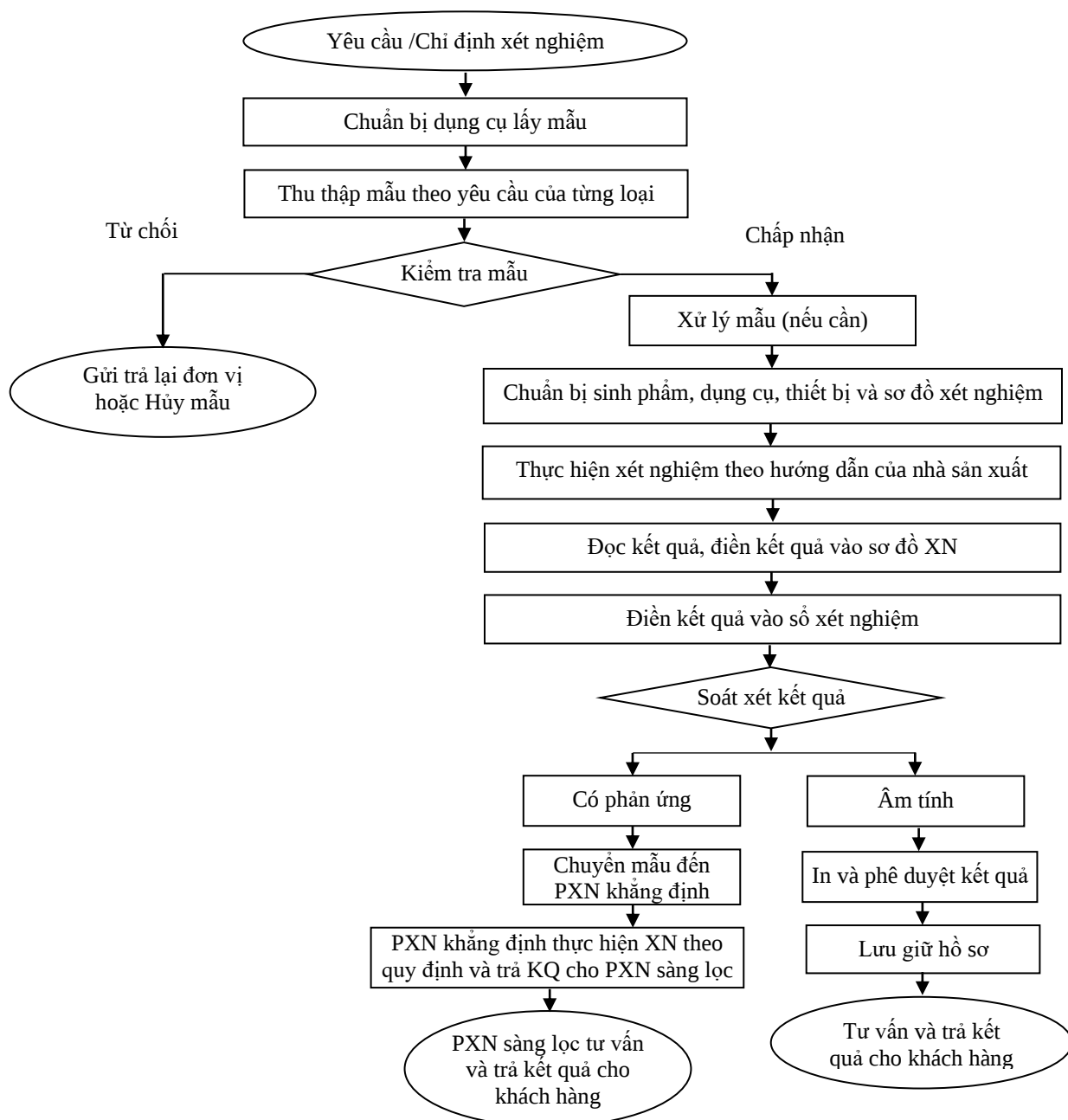
Trường hợp mẫu không thực hiện xét nghiệm trong khoảng thời gian yêu cầu cần bảo quản ở nhiệt độ tối thiểu -20°C , mẫu không được tan đông quá 3 lần.

- Lưu mẫu huyết tương/huyết thanh dương tính hoặc không xác định ở nhiệt độ đông lạnh tối thiểu -20°C theo quy định. Nhãn dán trên ống mẫu bệnh phẩm sử dụng nhãn không thấm nước và không bị bong ở nhiệt độ âm sâu. Các mẫu khi lưu phải có mã số và sơ đồ lưu mẫu cũng như các hồ sơ lưu mẫu.

1.4. Tiêu hủy mẫu: Tuân thủ theo quy định hủy mẫu bệnh phẩm sinh học tại Thông tư số 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 9 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm và Thông tư số 20/2021/TT-BYT quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế và các qui định pháp luật có liên quan.

2. Thực hiện xét nghiệm

2.1. Sơ đồ thực hiện xét nghiệm



2.2 Thực hiện xét nghiệm bằng kỹ thuật đơn giản (*sinh phẩm xét nghiệm nhanh*).

- Mỗi loại sinh phẩm sử dụng phải có quy trình cụ thể bằng tiếng Việt.
- Sinh phẩm, mẫu bệnh phẩm được bảo quản đúng nhiệt độ yêu cầu của nhà sản xuất. Sinh phẩm bảo quản tại nhiệt độ 2 - 8°C cần để ở nhiệt độ phòng tối thiểu 30 phút trước khi thực hiện xét nghiệm.
- Lập sơ đồ xét nghiệm/phiếu làm việc cho mỗi lần thực hiện xét nghiệm. Sơ đồ xét nghiệm thể hiện các thông tin về sinh phẩm, số lô, hạn sử dụng, ngày thực hiện, người thực hiện, kiểm soát mẫu chứng và kết quả của mẫu.
- Thực hiện xét nghiệm theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Thời gian chờ đọc kết quả sử dụng đồng hồ đo thời gian chuyên dụng.
- Đọc và biện luận kết quả xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Điền kết quả vào sơ đồ xét nghiệm/phiếu làm việc.
- Điền kết quả vào sổ xét nghiệm và trả kết quả.
- Các mẫu sau khi thực hiện xét nghiệm nếu chuyển gửi đến các phòng xét nghiệm khẳng định cần lưu trữ ở nhiệt độ 4 - 8°C nếu vận chuyển trong vòng 3 ngày. Trường hợp mẫu không vận chuyển được trong vòng 3 ngày, cần bảo quản mẫu ở nhiệt độ tối thiểu -20°C.

2.3. Thực hiện xét nghiệm bằng kỹ thuật miễn dịch đánh dấu (ELISA/hóa phát quang/điện hóa phát quang).

- Mỗi loại sinh phẩm sử dụng phải có quy trình cụ thể bằng tiếng Việt.
- Sinh phẩm, mẫu bệnh phẩm được bảo quản đúng nhiệt độ yêu cầu của nhà sản xuất. Sinh phẩm bảo quản tại nhiệt độ 2 - 8°C cần để ở nhiệt độ phòng tối thiểu 30 phút trước khi thực hiện xét nghiệm.
- Lập sơ đồ xét nghiệm trước mỗi lần thực hiện xét nghiệm. Sơ đồ xét nghiệm thể hiện các thông tin về sinh phẩm, số lô, hạn sử dụng, ngày thực hiện, người thực hiện,
- Kiểm tra các mẫu trước khi thực hiện xét nghiệm. Trường hợp mẫu có hiện tượng có sợi tơ huyết, đông đặc thì ống mẫu cần phải được ly tâm trước khi thực hiện xét nghiệm. Máy ly tâm có rotor phù hợp với ống nghiệm sử dụng và tốc độ ly tâm 3000-3500 vòng/phút trong 10-20 phút.
- Thực hiện xét nghiệm theo đúng quy trình, hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Thực hiện đầy đủ mẫu chứng theo yêu cầu của nhà sản xuất.
- Đối với hệ thống bán tự động, đo thời gian chờ đọc kết quả bằng đồng hồ đo thời gian chuyên dụng.

3. Đọc, biện luận và trả kết quả

- Đọc và biện luận kết quả xét nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- Trả kết quả:

+ Nếu kết quả xét nghiệm âm tính: tư vấn và trả kết quả âm tính cho khách hàng.

+ Nếu kết quả xét nghiệm có phản ứng: tư vấn cho khách hàng, mẫu cần làm thêm các xét nghiệm tại phòng xét nghiệm khẳng định để có kết quả cuối cùng. Tư vấn, hẹn trả kết quả và chuyển mẫu bệnh phẩm hoặc giới thiệu khách hàng đến cơ sở xét nghiệm khẳng định theo quy định. Sau khi có kết quả khẳng định, tư vấn trả kết quả xét nghiệm HIV cho khách hàng theo quy định.

4. Ghi chép biểu mẫu và quản lý số liệu

- Kết quả xét nghiệm được ghi vào sơ đồ xét nghiệm/phiếu làm việc tại thời điểm xét nghiệm, sau đó kết quả được ghi vào sổ xét nghiệm.

- Thông tin trong sổ xét nghiệm cần có các thông tin tối thiểu sau: Thông tin hành chính (tên, tuổi, giới, địa chỉ, đối tượng), ngày thu thập mẫu, ngày xét nghiệm, kết quả của các sinh phẩm sử dụng và kết luận về tình trạng của mẫu, kết quả khẳng định của đơn vị khẳng định. Các biểu mẫu sổ sách thực hiện theo phụ lục IV-A.

- Các kết quả xét nghiệm cần được lưu hồ sơ theo đúng quy định, không sử dụng bút xóa để sửa các sai sót. Trong trường hợp có sự sai sót cần: gạch ngang, ghi lại thông tin đúng và ký xác nhận của người có thẩm quyền.

- Cán bộ phụ trách phòng xét nghiệm chịu trách nhiệm kiểm tra toàn bộ thông tin xét nghiệm và hồ sơ xét nghiệm trước khi ký kết quả trả cho khách hàng.

- Lưu trữ hồ sơ tư vấn, xét nghiệm HIV cần tuân thủ theo thông tư số 53/2017/TT-BYT ngày 29/12/2017 về quy định bảo quản hồ sơ, tài liệu chuyên môn nghiệp vụ ngành y tế. Sau thời gian lưu theo quy định, nếu hủy cần có biên bản hủy.

- Đối với các hồ sơ lưu dạng điện tử: Các quy trình quản lý hệ thống thông tin đối với bản điện tử cần phân quyền chi tiết nhân viên thực hiện các chức năng cụ thể trong hệ thống, các quy định về bảo mật, tính chính xác và đảm bảo tính toàn vẹn của thông tin. Đối với mỗi máy tính sử dụng cần thiết lập mật khẩu, cài đặt phần mềm tường lửa, diệt virus, các quy định phân quyền truy cập và sửa đổi các thông tin. Tất cả các kết quả xét nghiệm khi đưa lên hệ thống điện tử cần có xác nhận của người có thẩm quyền. Hồ sơ điện tử cần sao lưu định kỳ.

5. Đảm bảo chất lượng xét nghiệm

5.1. Giai đoạn trước xét nghiệm

- Phòng xét nghiệm cần xây dựng các tài liệu, quy trình như: quy trình kiểm soát tài liệu, hồ sơ, quy trình quản lý nhân sự, đào tạo và đánh giá năng lực nhân viên, sổ tay dịch vụ khách hàng/sổ tay lấy mẫu, quy trình quản lý trang thiết bị, quy trình đảm bảo chất lượng...

- Có các quy trình chuẩn phục vụ cho thu thập, đóng gói, bảo quản, vận chuyển mẫu bệnh phẩm cũng như các quy định về tiêu chuẩn chấp nhận, từ chối mẫu với các yêu cầu cơ bản về thể tích mẫu, chất lượng mẫu, loại chất chống đông,

hiệt độ, thời gian bảo quản, thông tin trên ống đựng mẫu và phiếu yêu cầu xét nghiệm. Chỉ những mẫu đáp ứng yêu cầu mới được tiếp nhận.

- Các quy trình cần xây dựng ngắn gọn phù hợp với việc thực hiện tại đơn vị và với các quy định của Bộ Y tế, để nơi dễ tiếp cận.

- Có các quy định về an toàn phòng xét nghiệm, các quy định ra vào phòng xét nghiệm, xử lý xur cổ tràn đổ, xử lý phơi nhiễm, phòng chống cháy, nổ, phân loại rác thải.

- Các hướng dẫn thực hiện xét nghiệm của sinh phẩm sử dụng cần viết dưới dạng quy trình chuẩn.

5.2. Giai đoạn trong xét nghiệm

5.2.1. Sinh phẩm và vật tư tiêu hao

- Có quy trình quản lý sinh phẩm, vật tư, sổ quản lý sinh phẩm, vật tư tránh hết hạn. Hằng năm, phòng xét nghiệm phải có kế hoạch nhu cầu sinh phẩm, vật tư tiêu hao.

- Kiểm tra sinh phẩm, hóa chất và vật tư khi tiếp nhận, cần lưu ý đến tính toàn vẹn, nhiệt độ bảo quản, hạn sử dụng của các sinh phẩm, hóa chất và vật tư.

- Chỉ sử dụng sinh phẩm còn hạn sử dụng, hạn ghi trên hộp và hạn sau khi mở hoặc pha các thuốc thử.

- Trong mỗi lần thực hiện xét nghiệm, chỉ sử dụng sinh phẩm trong cùng một hộp hoặc cùng lô.

- Trước mỗi lần sử dụng, cần quan sát kỹ, nếu phát hiện có dấu hiệu bất thường cần ngưng sử dụng, tìm hiểu nguyên nhân và báo cho nhà cung cấp.

- Đối với các sinh phẩm mới đưa vào sử dụng cần thực hiện xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp. Ngoài ra, đối với mỗi loại sinh phẩm xét nghiệm hoặc lô sinh phẩm mới nhận, phòng xét nghiệm cần đánh giá chất lượng trước khi sử dụng.

- Các sinh phẩm, vật tư không đạt tiêu chuẩn, hết hạn cần dán nhãn cảnh báo, lưu trữ riêng và hủy theo quy định.

5.2.2. Trang thiết bị

- Trang thiết bị cần có quy trình quản lý trang thiết bị và hồ sơ quản lý bao gồm: Hồ sơ đánh giá sau lắp đặt ban đầu; biên bản giao nhận; hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất; lý lịch máy; hồ sơ kiểm định/hiệu chuẩn, bảo trì/bảo dưỡng; nhật ký sử dụng trang thiết bị (đối với các thiết bị lạnh, nhật ký máy là phiếu theo dõi nhiệt độ hàng ngày).

- Có quy trình hướng dẫn sử dụng trang thiết bị bằng tiếng Việt và bản hướng dẫn sử dụng thiết bị dạng tóm tắt dán ở vị trí thuận tiện cho việc tra cứu trong quá trình sử dụng.

- Hệ thống máy ELISA/hóa phát quang/điện hóa phát quang được bảo quản trong điều kiện khô bằng máy điều hòa nhiệt độ hoặc máy hút ẩm.

- Phòng xét nghiệm cần có kế hoạch và thực hiện bảo dưỡng, bảo trì và hiệu chuẩn định kỳ hàng năm theo quy định. Các kết quả sau hiệu chuẩn cần được xem xét bởi người có thẩm quyền.

- Các trang thiết bị, máy móc của phòng xét nghiệm cần có nhãn nhận biết duy nhất và có bộ phận tiếp đất.

- Các trang thiết bị trước khi sửa chữa, thanh lý cần được khử nhiễm và các trang thiết bị hỏng hoặc chờ thanh lý cần dán nhãn nhận biết/ phân biệt với các trang thiết bị khác.

- Phải đánh giá chất lượng sinh phẩm hoặc lô sinh phẩm trước khi sử dụng. Các sinh phẩm vật tư hết hạn cần dán nhãn cảnh báo, lưu trữ riêng và hủy theo quy định.

5.2.3. Cơ sở vật chất

- Khu vực xét nghiệm phải gọn gàng, sạch, đảm bảo đủ diện tích/ không gian để thực hiện xét nghiệm.

- Bàn xét nghiệm phải là vật liệu dễ làm sạch bằng các hóa chất khử khuẩn, kê tại nơi đủ ánh sáng và tránh luồng gió.

- Sàn, tường và mặt bàn xét nghiệm bằng phẳng, không thấm nước, chịu được nhiệt độ cao và các loại hóa chất ăn mòn, dễ cọ rửa vệ sinh.

- Trong trường hợp cần rửa dụng cụ, phòng xét nghiệm cần có bồn rửa sâu tối thiểu 30cm, bằng chất liệu không thấm nước, chịu được các loại hóa chất ăn mòn;

- Có biển báo nguy hiểm sinh học trên cửa ra vào của khu vực xét nghiệm

- Cần có hộp sơ cứu và dụng cụ rửa mắt khẩn cấp, đảm bảo có nước sạch để khi cần có thể sử dụng ngay.

- Cần có bộ xử lý mẫu tràn, đổ, có quy trình xử lý rút gọn đi kèm và để ở nơi dễ tiếp cận.

- Các thiết bị phòng, chống cháy nổ phải được kiểm tra định kỳ.

- Các chất thải cần được đựng trong các thiết bị, dụng cụ chứa chất thải y tế chuyên dụng và xử lý đúng quy định.

- Các chất thải nhiễm khuẩn phát sinh trong quá trình thực hiện xét nghiệm phải được xử lý trước khi chuyển vào nơi chứa chất thải chung theo quy định.

- Có nguồn điện dự phòng đảm bảo cung cấp điện cho các trang thiết bị có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

5.2.4. Nhân sự

- Phòng xét nghiệm cần có quy trình quản lý nhân sự, đào tạo và đánh giá năng lực nhân viên.

- Các cán bộ thường xuyên được đào tạo, cập nhật kiến thức và đánh giá năng lực nhân viên định kỳ hàng năm về kỹ thuật xét nghiệm tại đơn vị.

- Các cán bộ phòng xét nghiệm cần được giám sát sức khỏe định kỳ.

5.2.5. Thực hiện xét nghiệm

- Có đầy đủ các quy trình xét nghiệm thực hiện tại phòng xét nghiệm. Nên có bản hướng dẫn thực hiện xét nghiệm dạng rút gọn đặt ở vị trí thuận tiện cho việc theo dõi trong quá trình xét nghiệm. Ngoài ra, phòng xét nghiệm cần có các quy trình về việc thực hiện xét nghiệm như: quy định về chiến lược, phương cách xét nghiệm, xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp xét nghiệm, soát xét kết quả và trả kết quả cho khách hàng. Các quy trình cần cập nhật ngay những thay đổi của nhà sản xuất và rà soát lại định kỳ hằng năm.

- Tuân thủ đúng quy trình đã phê duyệt.
- Trong quá trình xét nghiệm luôn đối chiếu mẫu thử và thanh/giếng xét nghiệm tương ứng.
- Tuân thủ đúng chiến lược và phương cách xét nghiệm.

5.3. Giai đoạn sau xét nghiệm

- Các kết quả sau khi thực hiện xét nghiệm cần vào sổ xét nghiệm và có sự soát xét của người có thẩm quyền.
- Các hồ sơ xét nghiệm, kết quả của khách hàng cần được quản lý khoa học đảm bảo tính bảo mật và dễ dàng hồi cứu khi cần.

5.4. Giám sát đảm bảo chất lượng

- Giám sát tuân thủ các quy trình: Phòng xét nghiệm luôn thực hiện giám sát việc tuân thủ các quy trình chuẩn của nhân viên.

- Phòng xét nghiệm xây dựng và thực hiện quy trình kiểm soát chất lượng
- Thực hiện nội kiểm: Phòng xét nghiệm phải thực hiện đầy đủ mẫu chứng của nhà sản xuất và các mẫu nội kiểm chứng độc lập (nếu có). Thực hiện nội kiểm đồng thời hoặc trước khi tiến hành xét nghiệm trên mẫu bệnh phẩm:

- + Đối với xét nghiệm định tính: Thực hiện nội kiểm chứng âm và chứng dương.

- + Đối với xét nghiệm bán định lượng: Thực hiện mẫu nội kiểm trong bộ sinh phẩm kèm theo hoặc vật liệu nội kiểm khác.

- + Đối với xét nghiệm sử dụng sinh phẩm nhanh: Cần thực hiện nội kiểm định kỳ trên mẫu nội kiểm khác bao gồm cả chứng âm và chứng dương (nếu có).

- + Khi có kết quả nội kiểm không đạt, phòng xét nghiệm tìm kiếm nguyên nhân và khắc phục, chỉ thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.

- Thực hiện ngoại kiểm: Phòng xét nghiệm phải tham gia chương trình ngoại kiểm hằng năm và có chứng nhận tham gia chương trình ngoại kiểm tra được cung cấp bởi các tổ chức đã được công nhận hoặc được phép cung cấp. Khi thực hiện ngoại kiểm cần tham gia đầy đủ theo đúng quy định, thực hiện như thường quy và trả kết quả cho nhà cung cấp mẫu đúng thời gian yêu cầu. Khi nhận kết quả phản hồi cần xem xét kết quả ngoại kiểm. Trong trường hợp có kết quả không phù hợp cần tìm hiểu nguyên nhân và biện pháp khắc phục.

- Tổ chức giám sát hỗ trợ kỹ thuật:

- + Đơn vị đầu mối về phòng chống HIV/AIDS của tỉnh được giao chức năng, nhiệm vụ về công tác phòng chống HIV/AIDS của tỉnh kiểm tra giám sát hỗ trợ kỹ

thuật định kỳ hoặc đột xuất hoạt động của các phòng xét nghiệm sàng lọc trên địa bàn tỉnh tối thiểu 1 lần/năm.

- + Các đơn vị thực hiện kiểm tra chéo hoặc kiểm tra nội bộ hàng năm.

6. An toàn sinh học phòng xét nghiệm

- Có kế hoạch và thực hiện kiểm tra an toàn định kỳ, đánh giá nguy cơ xảy ra sự cố an toàn sinh học tại cơ sở xét nghiệm và xây dựng kế hoạch phòng ngừa, xử lý sự cố an toàn sinh học.

- Cơ sở có phòng xét nghiệm cần phân công người chịu trách nhiệm về an toàn sinh học.

- Các cán bộ trực tiếp thực hiện xét nghiệm, người chịu trách nhiệm về an toàn sinh học phải được tập huấn về an toàn sinh học.

- Các cán bộ khác làm việc trong khu vực xét nghiệm phải được hướng dẫn về an toàn sinh học phù hợp với công việc.

- Có quy định ra vào khu vực xét nghiệm.

- Không dùng pipet hút bằng miệng và không sử dụng bơm kim tiêm để thay thế pipet; bơm kim tiêm sau khi sử dụng phải được cho vào hộp đựng vật sắc nhọn chuyên biệt hoặc máy hủy tự động, không uốn cong, bẻ gãy, đập lại nắp kim tiêm.

- Trước khi rời khỏi phòng xét nghiệm cần rửa sạch tay hoặc rửa tay ngay sau khi vùng da tiếp xúc với các hóa chất hóa học.

- Mặc áo bảo hộ dài tay, găng tay phù hợp, khẩu trang y tế, mắt kính bảo hộ (khi cần), đi giày, dép kín mũi chân khi làm việc trong phòng xét nghiệm, không mặc quần áo bảo hộ ra khu vực công cộng.

- Sử dụng găng tay trong tất cả quá trình tiếp xúc trực tiếp hoặc có nguy cơ tiếp xúc với các chất lây nhiễm. Sau khi sử dụng, tháo bỏ găng tay đúng cách và phải rửa tay.

- Không để chung quần áo bảo hộ với quần áo thông thường.

- Không mang đồ dùng cá nhân, thực phẩm vào phòng xét nghiệm.

- Không sử dụng thiết bị phòng xét nghiệm để cất trữ hoặc chế biến thực phẩm.

- Không ăn uống, hút thuốc, cạo râu và sử dụng mỹ phẩm, đeo và tháo kính áp tròng trong phòng xét nghiệm.

- Khử nhiễm bề mặt bàn làm việc ngay sau khi kết thúc xét nghiệm, vào cuối ngày làm việc hoặc khi có sự cố tràn, đổ mẫu bệnh phẩm chứa tác nhân gây bệnh.

- Phân loại, vận chuyển và xử lý chất thải theo quy định.

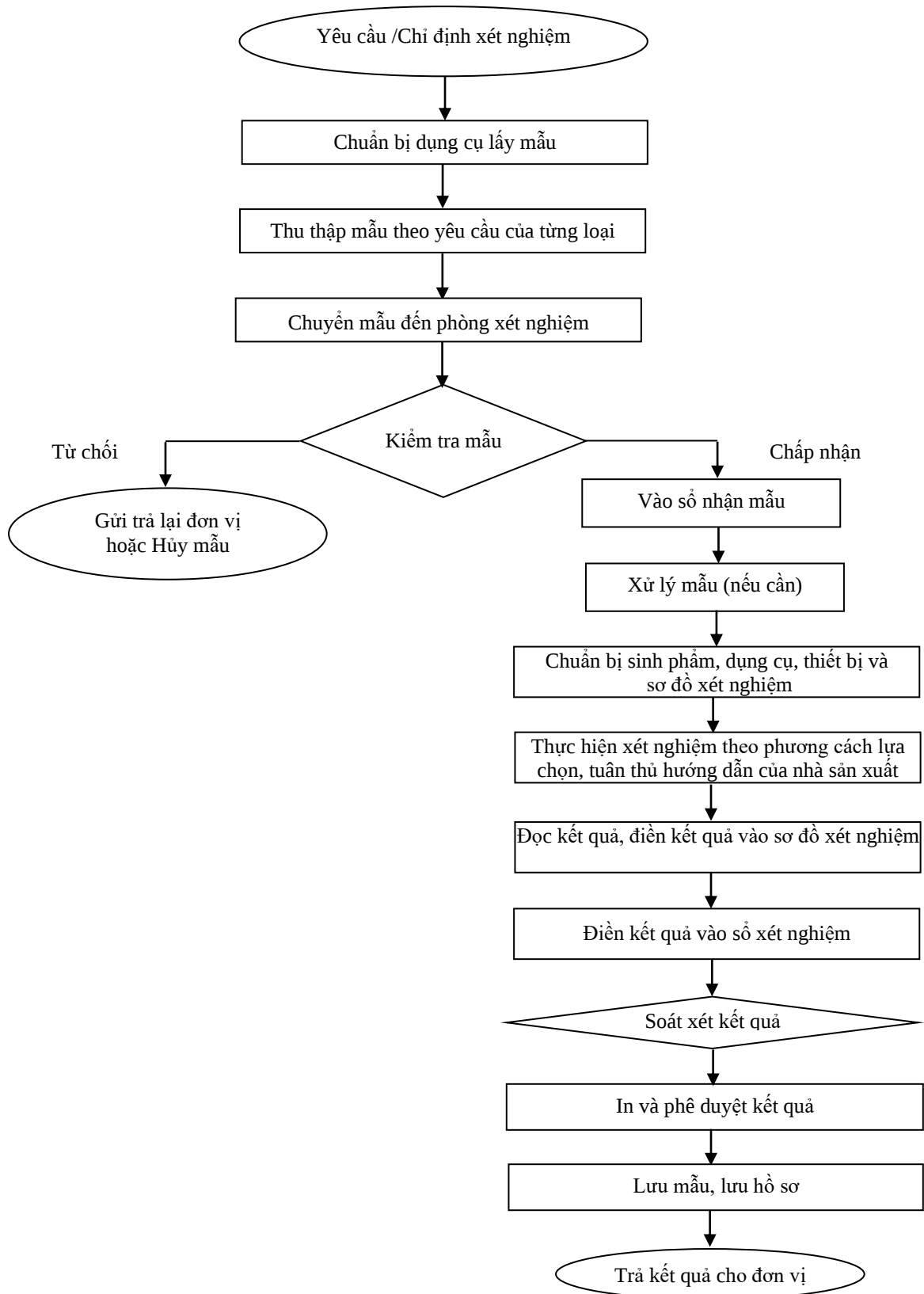
III. Xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV

Các yêu cầu về nhân sự, cơ sở vật chất, trang thiết bị và năng lực xét nghiệm cần đáp ứng theo các quy định hiện hành.

1. Lấy mẫu, vận chuyển, bảo quản bệnh phẩm xét nghiệm: Thu thập mẫu thực hiện theo các quy định tại điểm 3.2.3 phần 3 tiểu mục I Mục 2 của chương này

2. Thực hiện xét nghiệm

2.1. Lưu đồ thực hiện xét nghiệm



2.2. Thực hiện xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV bằng kỹ thuật xét nghiệm đơn giản áp dụng theo quy định tại điểm 2.2 phần 2 tiểu mục II Mục 2 chương này.

2.3. Thực hiện xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV bằng kỹ thuật miễn dịch đánh dấu/hóa phát quang/điện hóa phát quang áp dụng theo quy định tại điểm 2.3. phần 2 tiểu mục II Mục 2 chương này.

2.4. Lưu giữ mẫu

- Các mẫu sau khi xét nghiệm có kết quả dương tính hoặc không xác định cần được lưu giữ tối thiểu 2 năm kể từ ngày có kết quả xét nghiệm khẳng định ở nhiệt độ tối thiểu -20°C. Hết thời gian lưu nếu đơn vị hủy mẫu cần có biên bản hủy mẫu, lưu giữ biên bản hủy theo quy định.

- Các ống nghiệm lưu mẫu ở nhiệt độ âm sâu phải là các ống nghiệm chuyên dụng có nắp xoáy chặt. Các ống nghiệm xếp trong hộp chuyên dụng. Phải ghi rõ thông tin về mẫu trên ống nghiệm bằng loại mực không xóa được, hoặc sử dụng nhãn chuyên dụng chịu được nhiệt độ âm sâu.

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

3. Biện luận, trả kết quả

- Phân tích và biện giải kết quả xét nghiệm theo sơ đồ chiến lược III tại phụ lục I. Trả kết quả xét nghiệm cho cơ sở gửi mẫu hoặc bệnh nhân theo quy định.

- Kết quả xét nghiệm cần được trả sớm nhất cho đơn vị gửi mẫu trong thời gian tối đa là 01 ngày với kết quả âm tính và tối đa 03 ngày với kết quả HIV dương tính.

- Cơ sở y tế trả kết quả cho bệnh nhân trong vòng tối đa 72 giờ sau khi có kết quả khẳng định HIV chính thức.

4. Ghi chép biểu mẫu và quản lý số liệu

- Cơ sở thực hiện xét nghiệm khẳng định HIV sau khi có kết quả xét nghiệm trên sơ đồ xét nghiệm/phiếu làm việc, bản đọc, các kết quả xét nghiệm này phải được ghi chép vào sổ xét nghiệm theo quy định tại phụ lục IV-B ban hành kèm theo Hướng dẫn này.

- Đối với hồ sơ dạng điện tử, thực hiện theo các quy định tại phần 4 tiểu mục II chương này.

5. Đảm bảo chất lượng xét nghiệm

Thực hiện theo các quy định tại phần 5 tiểu mục II Mục 2 chương này và các quy định sau:

5.1. Nhân sự:

- Cán bộ phụ trách cần có khả năng phân tích biện luận kết quả xét nghiệm với các trường hợp chẩn đoán HIV âm tính, dương tính, dương tính yếu và không xác định.

- Các cán bộ phòng xét nghiệm HIV cần có kiến thức về kỹ thuật xét nghiệm HIV, quản lý đảm bảo chất lượng xét nghiệm và các kiến thức pháp luật có liên quan đến xét nghiệm HIV.

5.2. Giám sát đảm bảo chất lượng:

- Các Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Pasteur Nha Trang, Viện Vệ sinh dịch tễ Tây Nguyên kiểm tra giám sát hỗ trợ kỹ thuật định kỳ hoạt động xuất hoạt động của các cơ sở xét nghiệm đã được cấp giấy chứng nhận đủ điều kiện khẳng định các trường hợp HIV dương tính thuộc khu vực phân công tối thiểu 1 lần/năm.

6. An toàn sinh học phòng xét nghiệm

Thực hiện theo các quy định tại phần 6 tiểu mục II Mục II chương này.

Chương II XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ

Xét nghiệm sinh học phân tử trong chẩn đoán nhiễm HIV sử dụng những kỹ thuật phát hiện acid nucleic (Nucleic Acid Test - NAT) để tìm sự hiện diện vật chất di truyền DNA/RNA của HIV trong máu hoặc các dịch tiết.

I. Thực hiện chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi.

1. Đối tượng được chẩn đoán sớm nhiễm HIV

Thực hiện theo hướng dẫn quốc gia về điều trị và chăm sóc HIV/AIDS hiện hành.

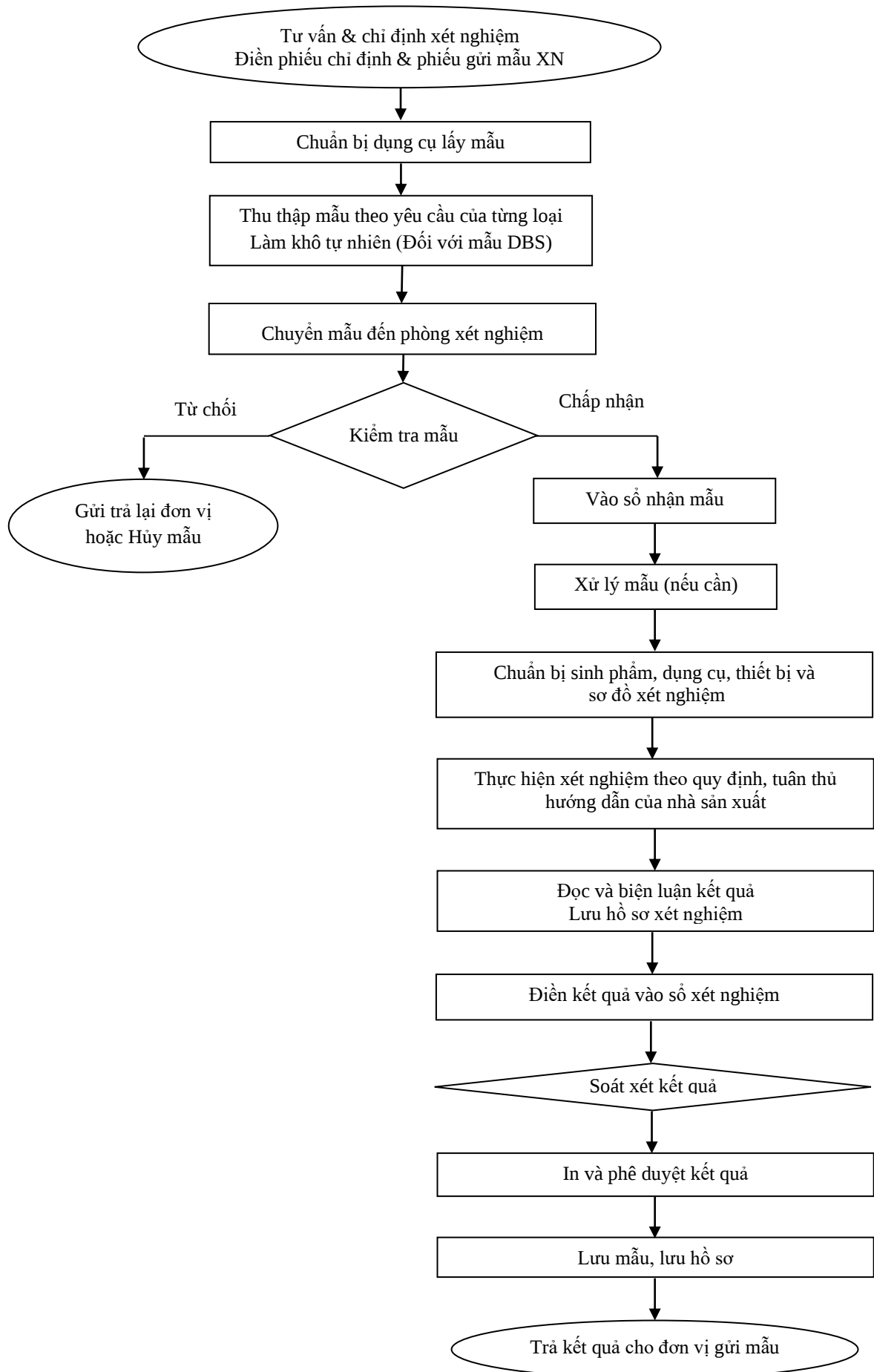
2. Năng lực thực hiện xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi

Được Bộ Y tế hoặc cơ quan có thẩm quyền cấp giấy chứng nhận đủ điều kiện thực hiện xét nghiệm HIV bằng kỹ thuật NAT cho trẻ dưới 18 tháng tuổi.

3. Quy trình thực hiện

Thời điểm chỉ định xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi, quy trình tư vấn, chẩn đoán, chăm sóc, dự phòng và điều trị tuân theo các quy định tại hướng dẫn quốc gia về điều trị và chăm sóc HIV/AIDS hiện hành.

Lưu đồ thực hiện:



3.1. Tư vấn trước xét nghiệm, chỉ định xét nghiệm và điền các thông tin cần thiết.

3.1.1. Tư vấn: Thực hiện tư vấn trước xét nghiệm theo các quy định tại hướng dẫn điều trị và chăm sóc HIV/AIDS hiện hành. Đối với phân xét nghiệm cần chú ý các nội dung sau:

- Lợi ích của chẩn đoán sớm nhiễm HIV và cách lấy mẫu xét nghiệm;
- Số lần xét nghiệm và thời gian trả kết quả xét nghiệm;
- Khẳng định về tính bảo mật của xét nghiệm.

3.1.2. Chỉ định xét nghiệm: Thời điểm chỉ định xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ là khác nhau, tùy thuộc vào trẻ sinh ra từ mẹ nhiễm HIV hay không rõ tình trạng nhiễm HIV của mẹ. Việc chỉ định xét nghiệm cần tuân theo hướng dẫn quốc gia về điều trị và chăm sóc HIV/AIDS hiện hành.

3.1.3. Điền các thông tin cần thiết:

Điền đủ thông tin vào "Phiếu xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi" và "Phiếu gửi mẫu xét nghiệm NAT HIV " theo quy định (Mẫu số 1C và mẫu số 2C, phụ lục IV-C).

3.2. Lấy mẫu, vận chuyển, bảo quản

3.2.1. Lấy mẫu, vận chuyển:

- Mẫu sử dụng để xét nghiệm NAT có thể là mẫu giọt máu khô (DBS - Dried Blood Spot) trên giấy thấm, máu toàn phần chống đông bằng EDTA (Acid Ethylene Diamine Tetra Acetic)

- Một số kỹ thuật xét nghiệm tại chỗ (Point of Care – POC) phát hiện nucleic acid có thể sử dụng trực tiếp máu gót chân hoặc đầu ngón tay lấy từ dụng cụ lấy mẫu chuyên dụng cung cấp kèm theo hộp sinh phẩm.

- Mẫu máu xét nghiệm được thu thập bằng bộ dụng cụ lấy giọt máu khô (DBS) hoặc bộ dụng cụ lấy máu toàn phần có chất chống đông bằng EDTA trong các điều kiện an toàn theo quy định. Quy trình lấy máu, đóng gói, vận chuyển, tiếp nhận mẫu giọt máu khô và/hoặc máu toàn phần chi tiết như phụ lục II, III.

- Điền đầy đủ thông tin vào phiếu gửi mẫu và phiếu xét nghiệm theo Phụ lục IV-C, mẫu 1C, 2C.

3.2.2. Tiếp nhận mẫu:

Đơn vị thực hiện xét nghiệm khi tiếp nhận mẫu cần:

- Kiểm tra tình trạng mẫu, đối chiếu thông tin trên DBS/ống đựng máu, phiếu xét nghiệm. Trong trường hợp có sự sai lệch giữa thông tin trên phiếu và trên DBS/ống mẫu đơn vị gửi mẫu cần xác nhận thông tin đúng, hoặc kết quả sẽ trả theo thông tin trên DBS/ống đựng mẫu.

- Thông báo cho nơi gửi xét nghiệm lấy lại mẫu trong các trường hợp mẫu không đạt yêu cầu (tham khảo phụ lục II, III).

- Thông báo cho nơi gửi mẫu xét nghiệm bổ sung thông tin trong trường hợp: thiếu thông tin về địa chỉ, ngày, thu thập mẫu trên phiếu xét nghiệm.

3.2.3. Bảo quản mẫu:

- Máu toàn phần trong trường hợp chưa thể được nhỏ ngay vào giấy thấm giọt máu khô DBS cần được bảo quản trong tủ lạnh 2 - 8°C và nhỏ vào giấy thấm càng sớm càng tốt hoặc được thực hiện xét nghiệm trong vòng 8 giờ kể từ lúc lấy mẫu.

- Mẫu DBS sau khi tiếp nhận, nếu không thực hiện xét nghiệm ngay thì cần được bảo quản ở tủ âm sâu (-20°C) trở xuống cho đến khi thực hiện xét nghiệm.

- Các yêu cầu về lấy mẫu và bảo quản mẫu phải phù hợp với khuyến cáo của nhà sản xuất sinh phẩm sử dụng và mục đích sử dụng.

3.3. Thực hiện xét nghiệm:

- Thực hiện xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV bằng kỹ thuật PCR/RT-PCR hoặc real-time PCR theo hướng dẫn của nhà sản xuất, sử dụng thiết bị và loại mẫu phù hợp với yêu cầu của sinh phẩm sử dụng.

- Sinh phẩm sử dụng trong xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV phải là sinh phẩm trong danh mục được cấp phép sử dụng của Bộ Y tế và đang còn hạn sử dụng. Sinh phẩm sử dụng phải được bảo quản theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Chuẩn bị mẫu và xử lý mẫu phải thực hiện trong tủ an toàn sinh học cấp II.

- Mỗi khu vực xét nghiệm phải có các dụng cụ, thiết bị riêng để tránh nhiễm chéo trong quá trình thực hiện bao gồm: tủ lạnh, tủ âm sâu, bộ pipet và đầu tip lọc, các loại ống không có DNase/RNase, máy ly tâm (lạnh) cho loại ống phù hợp với từng giai đoạn xét nghiệm, máy trộn - lắc, máy ủ.

- Sử dụng đồng hồ đếm ngược chuyên dụng trong các bước xét nghiệm cần đếm thời gian.

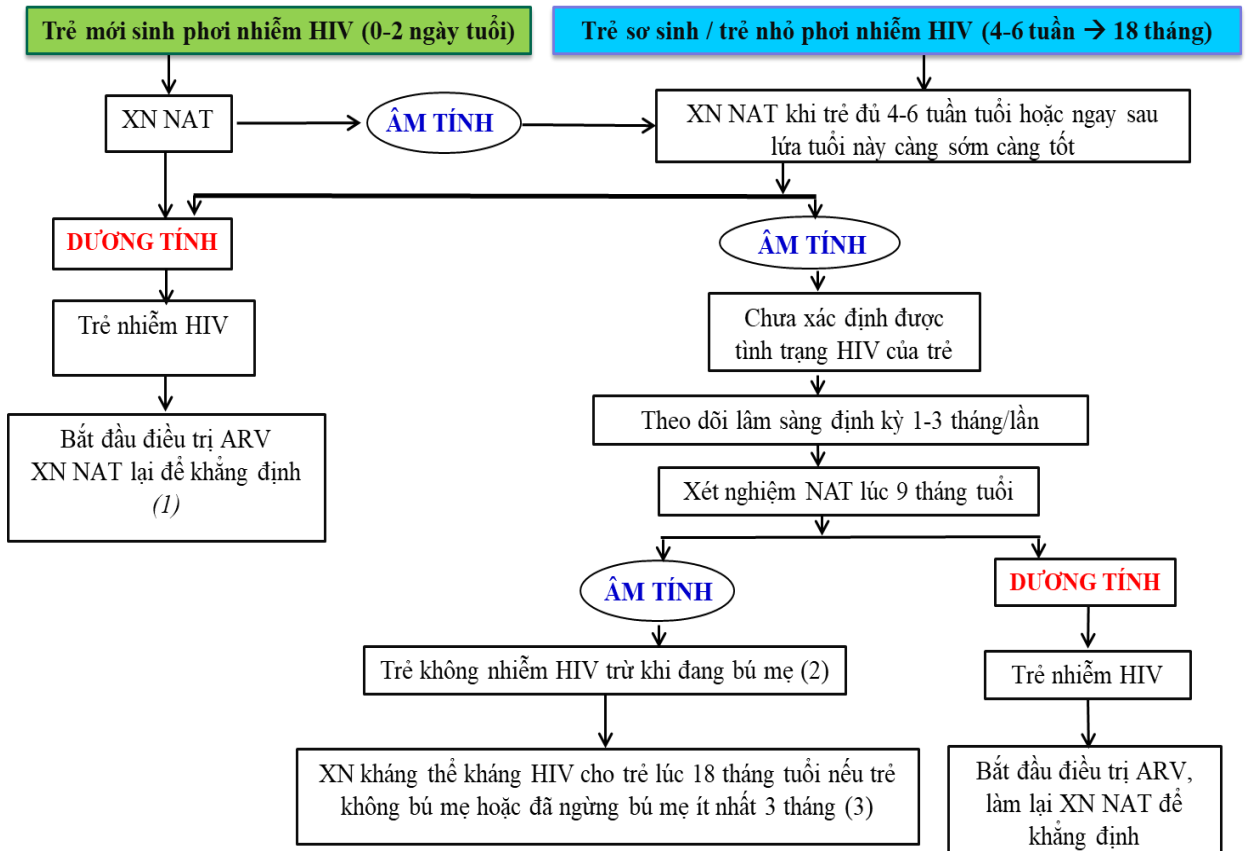
- Sử dụng trang phục bảo hộ cá nhân phù hợp trong suốt thời gian làm việc tại phòng xét nghiệm.

- Thực hiện việc bảo quản mẫu bệnh phẩm trong tủ âm sâu (-20°C) trở xuống theo quy định, thời gian lưu mẫu dương tính ít nhất là 2 năm, mẫu âm tính ít nhất 06 tháng sau khi đã làm xét nghiệm.

- Nhãn dán trên mẫu bệnh phẩm cần sử dụng nhãn không thấm nước và không bị bong ở nhiệt độ âm sâu.

3.3.1. Đối với trẻ sinh ra từ mẹ nhiễm HIV (Trẻ phơi nhiễm HIV)

Thực hiện xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi phơi nhiễm HIV theo sơ đồ sau:



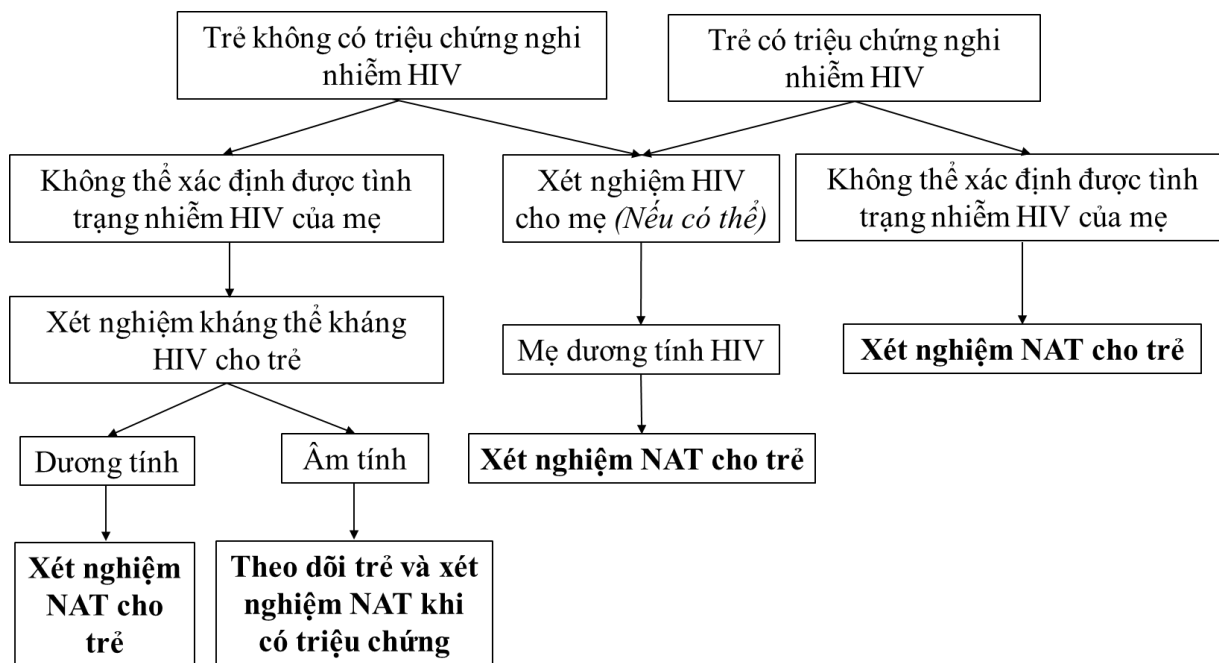
(1) Nếu xét nghiệm NAT lần 2 âm tính, làm lại xét nghiệm NAT lần 3.

(2) Nguy cơ nhiễm HIV vẫn tiếp tục trong thời gian bú mẹ. Trẻ cần được theo dõi tiếp tục và làm xét nghiệm kháng thể kháng HIV khi đủ 18 tháng tuổi

(3) Trường hợp trẻ trên 18 tháng tuổi và tiếp tục bú mẹ thì xét nghiệm kháng thể kháng HIV sau khi trẻ ngừng bú mẹ ít nhất 03 tháng. Trường hợp trẻ ngừng bú mẹ trước 18 tháng tuổi thì xét nghiệm kháng thể kháng HIV lúc trẻ đủ 18 tháng tuổi và đã ngừng bú mẹ được ít nhất 3 tháng.

3.3.2. Đối với trẻ sinh ra từ mẹ không rõ tình trạng nhiễm HIV:

Thực hiện xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi sinh ra từ mẹ không rõ tình trạng nhiễm HIV theo sơ đồ sau:



4. Biện luận và trả lời kết quả NAT

4.1. Biện luận kết quả NAT

- Trường hợp kết quả NAT lần 1 cận ngưỡng của kỹ thuật: xét nghiệm NAT lại trên mẫu bệnh phẩm cũ, nếu kết quả vẫn không thay đổi, lấy mẫu bệnh phẩm mới và xét nghiệm NAT lại trong vòng 4 tuần.

* Một số lưu ý khi biện luận kết quả:

- Trẻ sơ sinh nếu bị nhiễm HIV gần hoặc tại thời điểm sinh có thể không phát hiện được virus bằng kỹ thuật NAT trong vài ngày đến vài tuần. Khả năng phát hiện virus trong máu của các kỹ thuật NAT có thể bị ảnh hưởng bởi phác đồ điều trị dự phòng cho mẹ và bé, dẫn đến kết quả âm tính giả.

- Các loại thuốc có trong sữa mẹ do người mẹ điều trị ARV trong thời gian cho con bú cũng có thể dẫn đến kết quả âm tính giả khi thực hiện xét nghiệm chẩn đoán bằng kỹ thuật NAT.

4.2. Trả lời kết quả:

- Kết quả xét nghiệm được trả cho cơ sở gửi mẫu hoặc bố/mẹ hay người giám hộ trẻ theo quy định theo mẫu 4C – phụ lục IV-C.

4.3. Thời gian trả lời kết quả

- Kết quả xét nghiệm NAT cần được trả cho cơ sở chỉ định xét nghiệm trong vòng 7-10 ngày làm việc kể từ ngày phòng xét nghiệm nhận được mẫu.

- Trong trường hợp không trả được kết quả theo thời gian quy định, phòng xét nghiệm cần thông báo cho cơ sở chỉ định xét nghiệm lý do và thời hạn sẽ trả kết quả.

4.4. Theo dõi và xử lý sau khi có kết quả xét nghiệm

Khi có kết quả xét nghiệm, cơ sở chỉ định xét nghiệm NAT cần xử trí theo hướng dẫn hiện hành về điều trị và chăm sóc HIV/AIDS của Bộ Y tế.

5. Ghi chép biểu mẫu và quản lý số liệu

- Cơ sở thực hiện xét nghiệm chẩn đoán sớm nhiễm HIV cho trẻ em dưới 18 tháng tuổi cần ghi chép và lưu trữ các hồ sơ xét nghiệm như sơ đồ xét nghiệm/phiếu làm việc, bản đọc; các kết quả xét nghiệm cũng phải được ghi chép vào sổ xét nghiệm theo quy định tại phụ lục IV-C, mẫu 6C ban hành kèm theo Hướng dẫn này.

Thực hiện theo các quy định tại phần 4 tiểu mục II Mục 2 Chương I.

6. Đảm bảo chất lượng xét nghiệm

Thực hiện như phần 5 tiểu mục II Mục 2 Chương I và các quy định sau:

6.1. Sinh phẩm và vật tư tiêu hao: chỉ sử dụng dụng cụ chuyên dùng cho xét nghiệm sinh học phân tử: găng tay không bột, đầu tip có lọc và các loại ống không có DNase/RNase. Vật tư tiêu hao cần được sử dụng riêng biệt ở mỗi khu vực khác nhau để tránh nhiễm chéo.

6.2. Thiết bị: phải phù hợp với kỹ thuật sử dụng tại đơn vị và đảm bảo mỗi khu vực phải có dụng cụ, thiết bị riêng để tránh nhiễm chéo.

6.3. Cơ sở vật chất

- Nếu đơn vị sử dụng hệ thống thiết bị tự động - khép kín hoàn toàn thì cần bố trí vị trí lắp đặt theo đúng yêu cầu của nhà sản xuất và đảm bảo hạn chế được nguy cơ lây nhiễm chéo cho các hoạt động khác.

- Nếu đơn vị sử dụng hệ thống thiết bị không khép kín: cần bố trí các khu vực làm việc đảm bảo theo nguyên tắc một chiều trong xét nghiệm sinh học phân tử với tối thiểu 3 khu vực tách biệt hoàn toàn cho các giai đoạn: chuẩn bị hóa chất, chuẩn bị mẫu, khuếch đại và phân tích mẫu PCR (Tham khảo phụ lục V).

6.4. Nhân sự

- Phải được đào tạo, tập huấn và có kinh nghiệm thực hiện xét nghiệm sinh học phân tử, xét nghiệm HIV.

- Cán bộ phụ trách cần có khả năng phân tích, biện giải kết quả xét nghiệm HIV.

7. An toàn sinh học phòng xét nghiệm

- Thực hiện theo quy định tại phần 6 tiểu mục II Mục 2 Chương I và các quy định về An toàn Sinh học cấp II.

II. Đối với trẻ trên 18 tháng tuổi và người lớn.

1. Đối tượng xét nghiệm:

a. Các trường hợp xét nghiệm huyết thanh học HIV không biện luận được kết quả.

b. Đối với trẻ vẫn bú mẹ thì sau 3 tháng ngừng bú mẹ hoàn toàn, chỉ định xét nghiệm huyết thanh học hoặc xét nghiệm NAT nếu có điều kiện.

c. Trong trường hợp sàng lọc máu bằng kỹ thuật NAT thì thực hiện theo quy định hiện hành về hoạt động truyền máu và sàng lọc đơn vị máu an toàn.

2. Năng lực thực hiện xét nghiệm

Thực hiện như phần 2 Mục I Chương II.

3. Quy trình xét nghiệm

3.1. Lấy mẫu máu:

- Điền đủ thông tin vào "Phiếu xét nghiệm PCR định tính HIV cho trẻ >18 tháng tuổi và người lớn" theo quy định tại biểu mẫu số 3C, phụ lục IV-C ban hành kèm theo hướng dẫn này.

- Mẫu sử dụng để xét nghiệm NAT có thể là DBS hoặc máu toàn phần Trong một số trường hợp đặc biệt, PXN có thể yêu cầu sử dụng mẫu huyết tương (Theo hướng dẫn của nhà sản xuất và theo tình trạng bệnh nhân đã điều trị).

- Quy trình lấy máu, đóng gói, vận chuyển, tiếp nhận mẫu DBS theo quy định tại phụ lục II ban hành kèm theo hướng dẫn này.

- Quy trình lấy máu, đóng gói và vận chuyển mẫu trong xét nghiệm sinh học phân tử theo quy định tại phụ lục III ban hành kèm theo hướng dẫn này.

3.2. Tiến hành xét nghiệm và một số lưu ý

- Sinh phẩm sử dụng phải có số lưu hành còn hiệu lực hoặc được Bộ Y tế cho phép sử dụng và đang còn hạn sử dụng.

- Thực hiện xét nghiệm bằng kỹ thuật PCR / RT-PCR, real-time PCR ... theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Thực hiện việc bảo quản mẫu bệnh phẩm phù hợp với loại mẫu sử dụng (âm 20°C hoặc âm 70°C), thời gian lưu mẫu dương tính ít nhất là 2 năm.

- Nhãn dán trên mẫu bệnh phẩm sử dụng nhãn không thấm nước và không bị bong ở nhiệt độ âm sâu.

- Tuân thủ theo quy định hủy mẫu bệnh phẩm sinh học tại Thông tư số 37/2017/TT-BYT ngày 25 tháng 9 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế quy định về thực hành bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm và Thông tư số 20/2021/TT-BYT quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế và các quy định pháp luật có liên quan.

- Việc hủy mẫu cần phải lập biên bản ghi rõ thời gian và danh sách các mẫu đã hủy. Hồ sơ hủy mẫu được lưu giữ như quy định tại Điều 5 Mục II chương này.

3.3. Trả lời kết quả

3.3.1. Thời gian trả lời kết quả

- Thực hiện theo điểm 4.3 phần 4 tiểu mục I của chương này.

3.3.2. Biện luận và trả lời kết quả

- Phiếu trả kết quả xét nghiệm sinh học phân tử HIV theo mẫu số 5C, phụ lục IV-C ban hành kèm theo hướng dẫn này, phải được ghi đầy đủ kết quả xét nghiệm, phê duyệt của phụ trách phòng xét nghiệm.

- Ghi rõ kết quả bằng chữ “Âm tính” hoặc “Dương tính” trên mẫu 5C – phụ lục IV-C.

- Khả năng phát hiện RNA trong máu của các kỹ thuật NAT có thể bị ảnh hưởng bởi phác đồ dự phòng trước hoặc sau phơi nhiễm hoặc đang điều trị ARV dẫn đến kết quả âm tính giả.

3.3.3. Tư vấn và xử trí khi có kết quả xét nghiệm

Khi có kết quả xét nghiệm, cơ sở chỉ định xét nghiệm NAT cần tư vấn cho khách hàng theo hướng dẫn hiện hành của Bộ Y tế về tư vấn xét nghiệm HIV trong cơ sở y tế.

a. Nếu kết quả dương tính

Cán bộ y tế của đơn vị lấy mẫu cần thực hiện các nội dung dưới đây ngay sau khi có kết quả NAT dương tính:

- Liên hệ đơn vị thực hiện xét nghiệm để xem xét việc lấy mẫu lần 2 (nếu cần).

- Thông báo kết quả xét nghiệm và tư vấn theo quy định.

- Tiếp tục theo dõi tại Cơ sở chăm sóc và điều trị HIV/AIDS.

b. Nếu kết quả âm tính

Cán bộ y tế của đơn vị lấy mẫu cần thực hiện các nội dung dưới đây ngay sau khi có kết quả NAT âm tính:

- Thông báo kết quả xét nghiệm và tư vấn theo quy định.

- Giải thích ý nghĩa của kết quả xét nghiệm:

- + Đối với trường hợp phơi nhiễm trên 02 tuần có khả năng không nhiễm HIV, nhưng vẫn cần phải được tiếp tục theo dõi và làm xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng HIV sau 3 tháng và 6 tháng kể từ khi phơi nhiễm.

- + Đối với trường hợp phơi nhiễm dưới 02 tuần vẫn có nguy cơ nhiễm HIV do đó cần xét nghiệm NAT sau 02 tuần hoặc xét nghiệm phát hiện kháng thể kháng HIV sau 3 tháng và 6 tháng kể từ khi phơi nhiễm.

4. Biểu mẫu ghi chép, quản lý số liệu

Thực hiện theo các quy định tại phần 5 mục I chương này.

5. Quản lý đảm bảo chất lượng

Thực hiện theo các quy định tại phần 6 mục I chương này.

6. An toàn sinh học

Thực hiện theo các quy định tại phần 7 mục I chương này.

Chương III **XÉT NGHIỆM LẠI HIV**

I. Xét nghiệm định kỳ HIV trong các trường hợp

1. Các trường hợp HIV âm tính trong nhóm có hành vi nguy cơ cao tiếp diễn cần xét nghiệm định kỳ

- Nhóm nam quan hệ tình dục đồng giới
- Người có bạn tình nhiễm HIV
- Bệnh nhân nhiễm các bệnh lây truyền qua đường tình dục
- Người có nguy cơ cao điều trị dự phòng trước phơi nhiễm (PrEP) thực hiện theo hướng dẫn chăm sóc và điều trị HIV

2. Xét nghiệm lại trong một số nhóm

- Phụ nữ mang thai: xét nghiệm trong thời kỳ mang thai và sau đẻ nếu có hành vi nguy cơ cao theo Thông tư số 09/2021/TT-BYT ngày 20/6/2021 quy định quy trình, thời điểm, số lần xét nghiệm HIV cho phụ nữ mang thai; chăm sóc, điều trị đối với phụ nữ nhiễm HIV trong thời kỳ mang thai, khi sinh con, cho con bú và các biện pháp nhằm giảm lây nhiễm HIV từ mẹ sang con ngày.

- Người có phơi nhiễm với HIV do tai nạn rủi ro nghề nghiệp hoặc rủi ro do sự cố y tế xét nghiệm lại thời điểm theo hướng dẫn của Quyết định số 24/2023/QĐ-TTg ngày 22/9/2023 quy định điều kiện xác định người bị phơi nhiễm với HIV, người bị nhiễm HIV do tai nạn rủi ro nghề nghiệp.

3. Thực hiện xét nghiệm HIV theo đúng các quy định tại Mục 2 Chương I Phần II.

* Lưu ý: Các trường hợp nghi ngờ giai đoạn cửa sổ nên xét nghiệm lại trong vòng 3 tháng.

II. Xét nghiệm HIV trong các trường hợp đã và đang điều trị ARV khi cần thiết.

1. Nguyên tắc chung:

- Không khuyến cáo xét nghiệm lại HIV cho các bệnh nhân đã, đang điều trị ARV.

2. Xác định tình trạng nhiễm HIV trong trường hợp cần thiết:

2.1. Những trường hợp đã có xét nghiệm đo tải lượng HIV trong quá trình theo dõi điều trị thuốc ARV:

- Nếu kết quả xét nghiệm tải lượng HIV trên ngưỡng phát hiện thì khẳng định tình trạng nhiễm HIV.

- Nếu kết quả xét nghiệm tải lượng HIV dưới ngưỡng phát hiện thì thực hiện xét nghiệm lại huyết thanh học phải xét nghiệm đủ 3 sinh phẩm theo phương cách

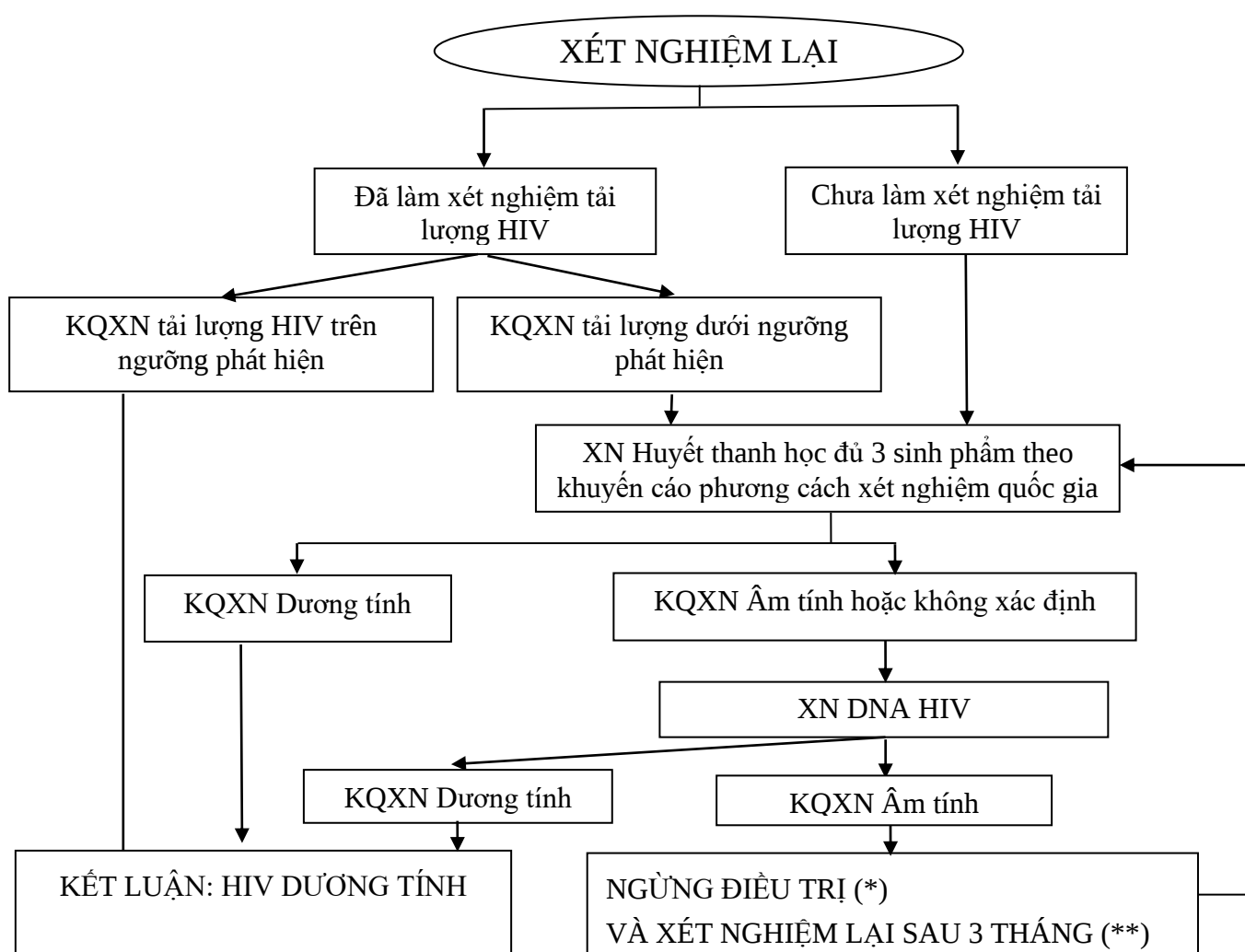
quốc gia tại các cơ sở xét nghiệm được phép khẳng định HIV dương tính, cụ thể như sau:

+ Nếu kết quả dương tính theo chiến lược III thì trả kết quả theo quy định.

+ Nếu kết quả âm tính hoặc không xác định thì thực hiện việc lấy mẫu lại để thực hiện thêm các xét nghiệm NAT theo quy trình thực hiện xét nghiệm tại điểm 2.3 mục này.

2.2. Những trường hợp chưa có kết quả xét nghiệm tải lượng HIV trong quá trình theo dõi điều trị thuốc ARV thì thực hiện theo quy trình thực hiện xét nghiệm tại mục 2.3.

2.3. Quy trình thực hiện xét nghiệm lại



Ghi chú:

(*) Chỉ ngừng điều trị khi có kết quả xét nghiệm DNA

(**) Chỉ làm xét nghiệm lại 1 lần sau 3 tháng bằng xét nghiệm huyết thanh học:

- Nếu kết quả dương tính thì khẳng định nhiễm HIV và điều trị lại
- Nếu kết quả âm tính hoặc không xác định thì làm thêm xét nghiệm tải lượng HIV:
 - + Nếu kết quả trên ngưỡng phát hiện thì khẳng định nhiễm HIV và điều trị lại
 - + Nếu không phát hiện vật liệu di truyền thì kết luận âm tính.

III. Xét nghiệm HIV trong trường hợp điều trị dự phòng sau phơi nhiễm HIV.

1. Cần tiến hành xét nghiệm HIV lại theo hướng dẫn của Bộ Y tế về chăm sóc và điều trị người nhiễm HIV và quyết định của Thủ tướng chính phủ về quy định điều kiện xác định người bị phơi nhiễm với HIV, người bị nhiễm HIV do tai nạn rủi ro nghề nghiệp.

2. Việc thực hiện xét nghiệm HIV theo đúng các quy định tại tiêu mục III Chương II Phần II này.

Phần III TỔ CHỨC THỰC HIỆN

1. Trách nhiệm của cơ sở xét nghiệm sàng lọc HIV

1.1. Tiến hành việc lấy hoặc tiếp nhận mẫu bệnh phẩm để thực hiện các kỹ thuật xét nghiệm sàng lọc HIV bằng kỹ thuật xét nghiệm huyết thanh học HIV nhưng không được khẳng định các trường hợp HIV dương tính. Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu các xét nghiệm khác phục vụ công tác phòng, chống HIV.

1.2. Tham gia chương trình ngoại kiểm tra xét nghiệm HIV được cung cấp bởi các tổ chức đã được công nhận hoặc được phép cung cấp.

1.3. Tổ chức thực hiện việc tư vấn xét nghiệm HIV, thông báo kết quả xét nghiệm HIV theo các quy định của Luật phòng, chống HIV/AIDS.

1.4. Thực hiện thống kê báo cáo số liệu theo quy định tại Thông tư số 07/2023/TT-BYT ngày 04/04/2023 và ghi chép, lưu trữ biểu mẫu sổ sách xét nghiệm đầy đủ theo đúng quy định tại Quyết định này.

2. Trách nhiệm của cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV

Ngoài việc thực hiện các quy định tại mục 1, phần này, cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV còn phải thực hiện các trách nhiệm sau:

1.1. Thực hiện các xét nghiệm chẩn đoán HIV bằng kỹ thuật xét nghiệm huyết thanh học hoặc NAT cho các mẫu bệnh phẩm thu thập trực tiếp.

1.2. Tiếp nhận các mẫu bệnh phẩm nghi ngờ dương tính của các cơ sở xét nghiệm sàng lọc HIV trên địa bàn hoặc vùng lân cận để tiến hành xét nghiệm huyết thanh học khẳng định các trường hợp HIV dương tính. Lưu mẫu dương tính hoặc nghi ngờ 02 năm kể từ ngày làm xét nghiệm khẳng định tại cơ sở xét nghiệm.

1.3. Tham mưu hỗ trợ cho Sở Y tế trực thuộc tiến hành việc đào tạo, giám sát hỗ trợ kỹ thuật và tham gia kiểm tra theo định kỳ 01 năm/lần hoạt động xét nghiệm tại các cơ sở xét nghiệm sàng lọc HIV trên địa bàn phụ trách.

1.4. Tham gia đánh giá năng lực thực hiện xét nghiệm của các cơ sở xét nghiệm nộp hồ sơ đề nghị cấp Giấy chứng nhận đủ điều kiện khẳng định các trường hợp HIV dương tính trên địa bàn quản lý.

3. Trách nhiệm của phòng tham chiếu quốc gia về xét nghiệm HIV

3.1. Thực hiện các xét nghiệm từ cơ bản đến chuyên sâu trong chẩn đoán và theo dõi nhiễm HIV/AIDS như xét nghiệm huyết thanh học HIV, đếm tế bào lympho T CD4, các xét nghiệm sinh học phân tử HIV (đo tải lượng virus, NAT), xét nghiệm giải trình tự định typ gen HIV kháng thuốc ...

3.2 Tiếp nhận các mẫu xét nghiệm nghi ngờ dương tính, các mẫu khó biện luận do các cơ sở xét nghiệm đã được cấp Giấy chứng nhận đủ điều kiện xét nghiệm khẳng định các trường hợp HIV dương tính thuộc địa bàn phân công phụ trách gửi đến. Xét nghiệm tham chiếu khi kết quả xét nghiệm HIV giữa các tuyến không thống nhất.

3.3. Tổ chức triển khai và quản lý bảo đảm chất lượng cho hệ thống cơ sở xét nghiệm HIV: cung cấp các chương trình nội - ngoại kiểm xét nghiệm huyết thanh học HIV, nội - ngoại kiểm xét nghiệm đếm tế bào Lympho T CD4 . . .

3.4. Đánh giá năng lực thực hiện xét nghiệm của các cơ sở xét nghiệm nộp hồ sơ đề nghị cấp Giấy chứng nhận đủ điều kiện khẳng định các trường hợp HIV dương tính.

4. Trách nhiệm của Sở Y tế tỉnh

4.1. Chỉ đạo, kiểm tra công tác xét nghiệm HIV trên địa bàn tỉnh.

4.2. Chỉ định Trung tâm Kiểm soát bệnh tật tỉnh hoặc cơ quan được giao chức năng, nhiệm vụ về công tác phòng chống HIV/AIDS có cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV hoặc phối hợp với đơn vị có cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV xây dựng kế hoạch đào tạo, tổ chức đào tạo cấp chứng nhận cho cán bộ xét nghiệm HIV của các cơ sở xét nghiệm sàng lọc HIV tại địa bàn tỉnh/thành phố.

4.3. Kiến nghị sửa đổi, bổ sung nhằm khắc phục các bất cập liên quan đến thực hiện bảo đảm chất lượng xét nghiệm HIV trong quá trình thực hiện.

4.4. Phối hợp với các sở, ban ngành có liên quan quản lý, hỗ trợ và tổ chức giám sát việc triển khai xét nghiệm HIV trên địa bàn phụ trách.

4.5. Định kỳ hằng năm, báo cáo Bộ Y tế danh sách các cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV, cơ sở xét nghiệm sàng lọc HIV và khẳng định HIV trên địa bàn.

5. Trách nhiệm của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Pasteur Nha Trang, Viện Vệ sinh dịch tễ Tây Nguyên

5.1. Đào tạo, hỗ trợ kỹ thuật cho các cán bộ của các cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV, cơ sở xét nghiệm sàng lọc HIV đối với các tỉnh không có cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV trên địa bàn được phân công phụ trách.

5.2. Kiểm tra giám sát các cơ sở xét nghiệm khẳng định HIV thuộc địa bàn được phân công định kỳ 1 lần/năm và báo cáo kết quả về Bộ Y tế (Cục phòng, chống HIV/AIDS).

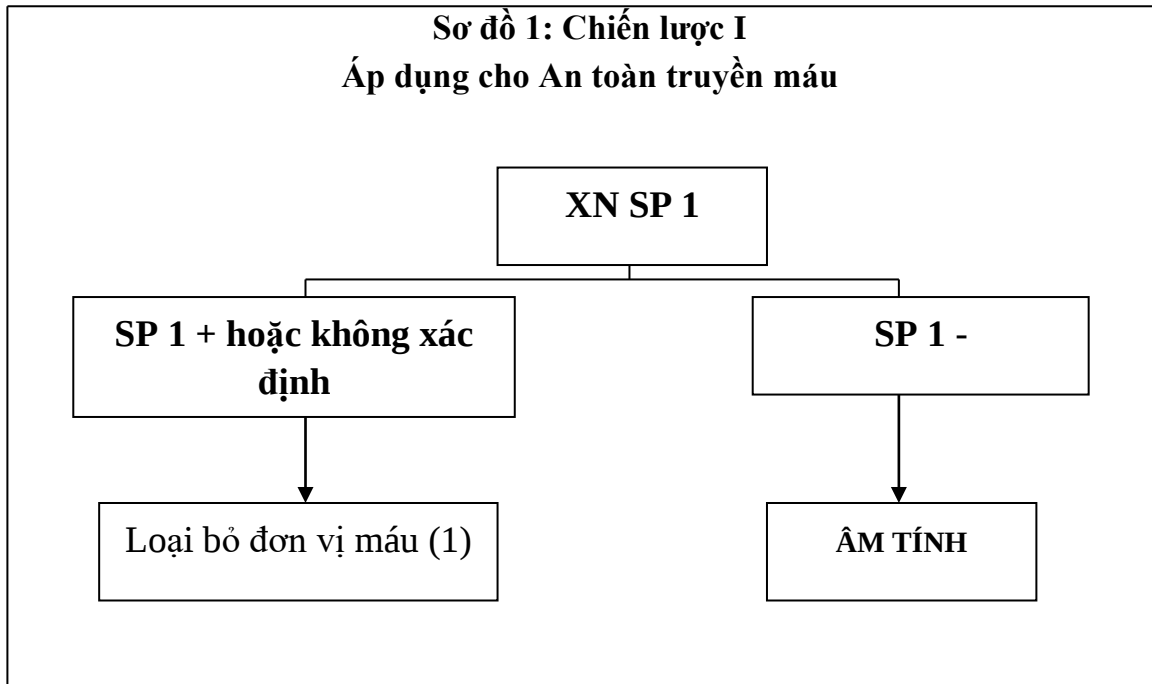
6. Trách nhiệm của Cục Phòng, chống HIV/AIDS - Bộ Y tế

6.1. Chỉ đạo, kiểm tra, giám sát, đánh giá hoạt động và tổng hợp số liệu hoạt động xét nghiệm HIV trên phạm vi toàn quốc.

6.2. Chỉ đạo các cơ sở có phòng tham chiếu quốc gia về xét nghiệm HIV xây dựng tài liệu và tổ chức tập huấn về xét nghiệm HIV cho các đơn vị, địa phương.

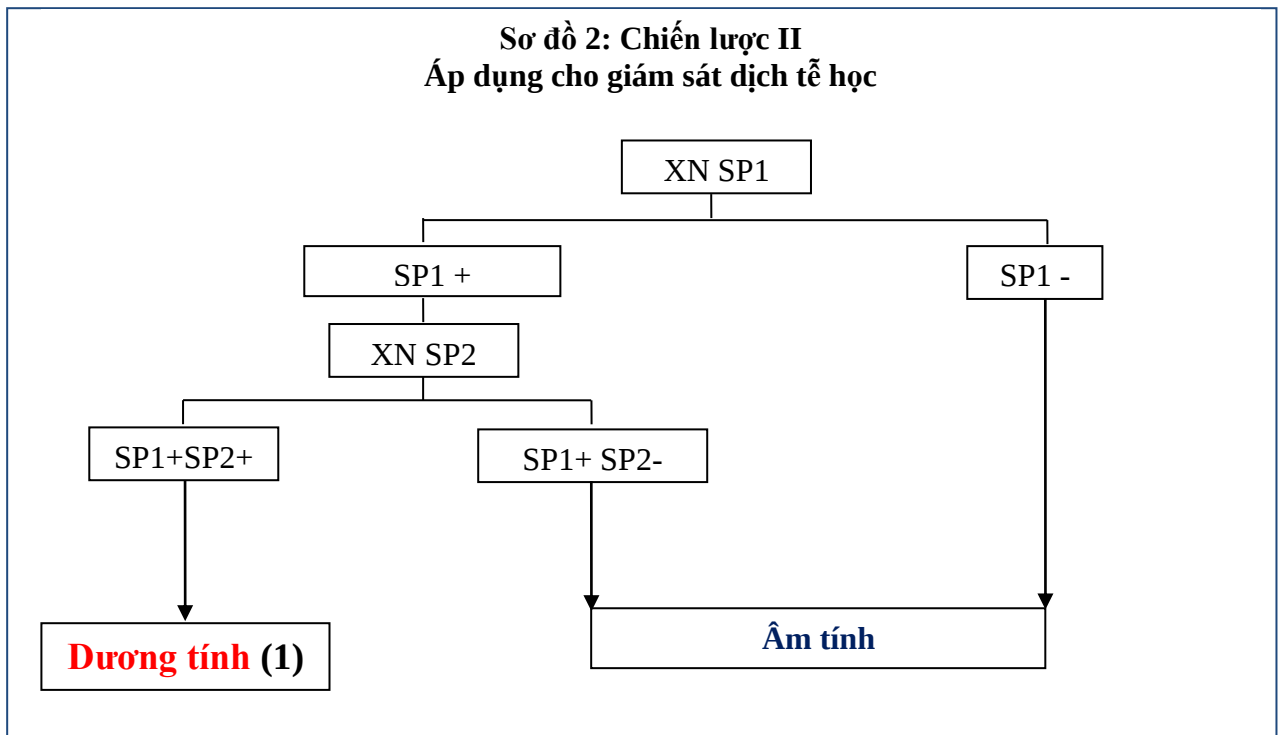
6.3. Hằng năm, chủ trì, phối hợp tổ chức hội nghị đánh giá và triển khai công tác thực hiện bảo đảm chất lượng xét nghiệm HIV.

Phụ lục I

SƠ ĐỒ XÉT NGHIỆM HUYẾT THANH HỌC HIV

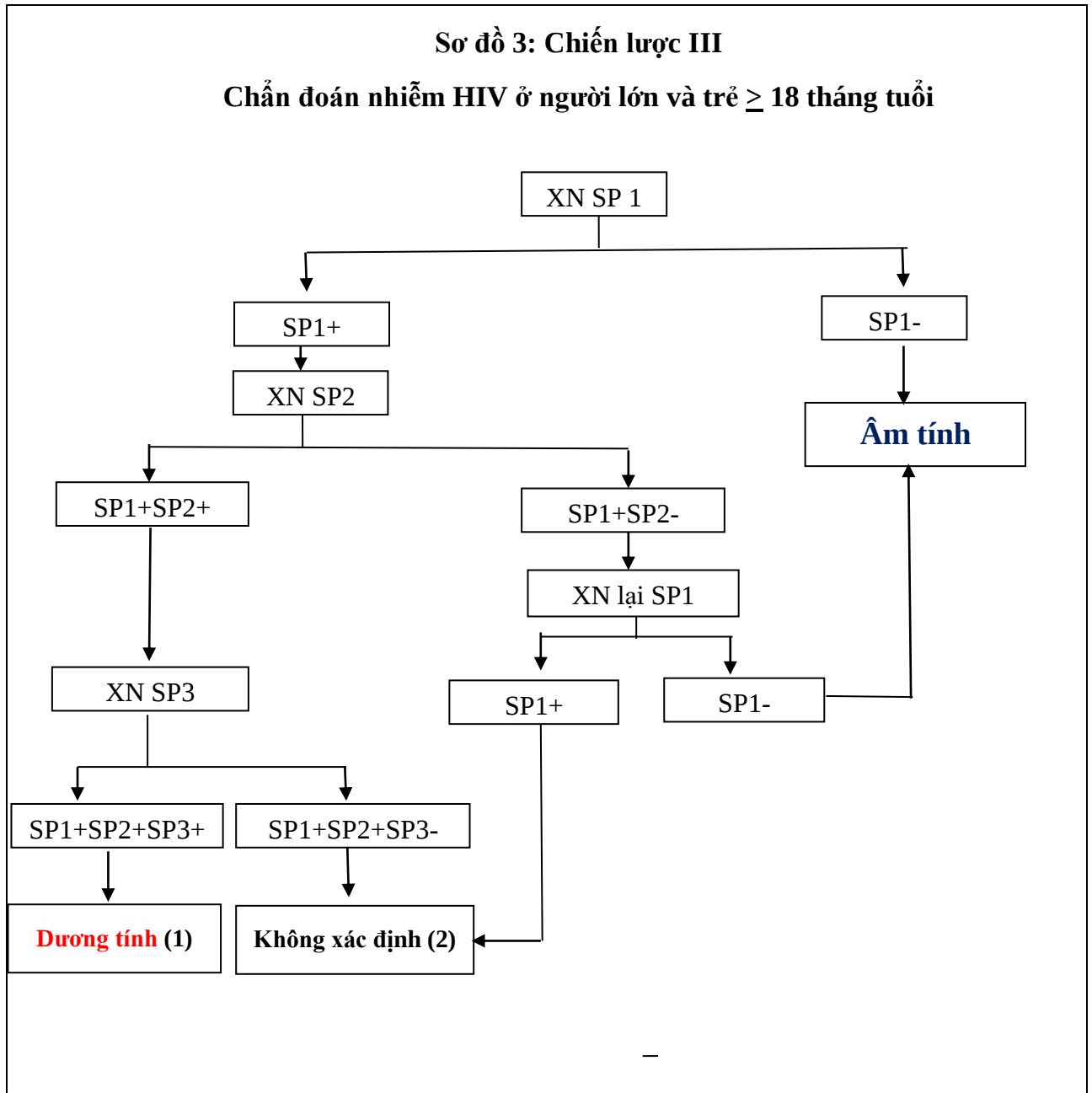
Ghi chú:

- Dấu (+): nghĩa là có phản ứng.
- Dấu (-): nghĩa là không phản ứng.
- (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.



Ghi chú:

- Dấu (+): nghĩa là có phản ứng.
- Dấu (-): nghĩa là không phản ứng.
- 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.
- Các trường hợp SP1 (+) cần giới thiệu đến cơ sở y tế để làm xét nghiệm khẳng định theo thường quy



Ghi chú:

- Dấu (+): nghĩa là có phản ứng.
- Dấu (-): nghĩa là không phản ứng.

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

(1) Kết quả dương tính được dùng để kết luận các trường hợp nhiễm HIV khi xét nghiệm được thực hiện tại cơ sở xét nghiệm được cho phép khẳng định các trường hợp HIV dương tính. Chỉ kết luận dương tính khi cả 3 sinh phẩm dương tính rõ. Trong trường hợp có kết quả dương tính yếu, cần thận trọng, khi đó nên kết luận không xác định hẹn xét nghiệm lại.

(2) 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.
- Sau 2 lần làm xét nghiệm mà không trả lời được kết quả các phòng xét nghiệm liên hệ phòng xét nghiệm tham chiếu tuyến trên và gửi mẫu nếu cần.

Phụ lục II

QUY TRÌNH LẤY MẪU, ĐÓNG GÓI VÀ VẬN CHUYỂN GIỌT MÁU KHÔ (DBS), CHO XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN SỚM NHIỄM HIV Ở TRẺ DƯỚI 18 THÁNG TUỔI.

I. LẤY MẪU MÁU

Cán bộ y tế đã được đào tạo tiến hành lấy mẫu DBS theo một trong 2 cách dưới đây:

1. Cách thứ nhất: Lấy giọt máu trực tiếp từ gót chân/ngón chân cái/ngón tay trên giấy thấm DBS

Bước 1: Điền đầy đủ và chính xác các thông tin về trẻ được xét nghiệm trên tấm thấm DBS:

- Họ tên đầy đủ
- Giới tính (Trai/Gái)
- Ngày tháng năm sinh của trẻ (lịch dương)
- Ngày lấy mẫu DBS
- Tên cơ sở lấy mẫu, tên tỉnh/thành phố

Lưu ý: Không chạm, không để nước hoặc các dung dịch sát khuẩn dính vào các vòng tròn trên tấm DBS trước và sau khi lấy mẫu vì sẽ làm giảm chất lượng của mẫu DBS.

Bước 2: Xác định vị trí lấy

: Tùy thuộc vào cân nặng của trẻ, lựa chọn vị trí lấy máu cho phù hợp (xem hình

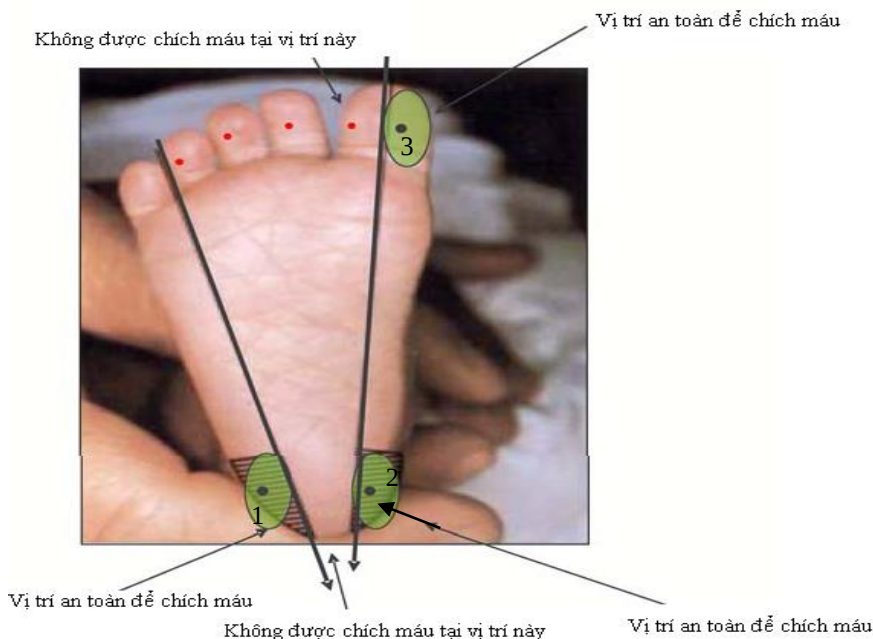
1).

a. Trẻ nặng < 5kg (từ 1-4 tháng tuổi): chích vào gót chân (vị trí 1 hoặc 2 hình 1)

b. Trẻ từ nặng 5kg-10kg (khoảng 4-10 tháng tuổi): chích vào ngón chân cái (vị trí số 3, hình 1)

c. Trẻ nặng > 10kg (khoảng 10 tháng tuổi trở lên): chích vào ngón tay (chích vào cạnh bên của ngón tay áp út)

Lưu ý: Không chích vào phía sau gót chân, vào gân hay phía bên của ngón chân cái.



Hình 1: Vị trí lấy máu ở gót chân hoặc ngón chân cái

Bước 3: Hướng dẫn bố mẹ/người giám hộ cách bế trẻ

Bé trẻ sao cho vị trí chích máu hướng xuống dưới. Người giữ trẻ ngồi cao hơn so với người lấy máu. Bế trẻ sao cho chân trẻ duỗi thẳng xuống, lưng của trẻ quay ra ngoài, toàn bộ thân trẻ áp lên người giữ trẻ, đầu trẻ tựa lên vai người giữ trẻ. Một tay người giữ trẻ giữ phía vai và gáy, tay kia đỡ phía hông và đùi trẻ.

Nếu lấy máu ở ngón tay thì có thể đặt trẻ ngồi trong lòng mẹ, bàn tay duỗi thẳng xuống dưới.

Bước 4: Hướng dẫn bố mẹ/người giám hộ làm ấm vùng chích máu

Đặc biệt khi trẻ đang lạnh, cần làm ấm vùng lấy máu bằng khăn ấm hoặc bằng tay bằng cách xoa nhiều lần vào vùng chích máu trong vòng 3 phút.

Xoa bóp nhẹ từ trên xuống dưới vùng lấy máu để máu dồn về nhiều hơn.

Bước 5: Rửa tay và đeo găng tay không bột

Rửa tay sạch và đeo găng tay không bột. Nếu mang găng tay có bột, phải rửa sạch bột bằng xà phòng và lau khô bằng khăn giấy trước khi lấy mẫu DBS.

Bước 6: Sát khuẩn vùng chích máu bằng dung dịch sát khuẩn và sử dụng bông còn 70 độ và để khô trong 30 giây.

Bước 7: Chích máu

Chỉ được dùng kim chích (lancet) 2mm.

Tháo bỏ nắp đậy kim và ấn nhẹ vào da, khi thấy lancet đã tương đối áp sát vào da vùng định chích thì bấm lancet nhanh, mạnh và dứt khoát để chích máu.

Kim chích máu sau khi sử dụng được thải bỏ vào hộp đựng các vật sắc nhọn, các chất thải không sắc nhọn khác cho vào thùng đựng rác thải y tế.

Bước 8: Bỏ giọt máu đầu tiên

Bỏ giọt máu đầu tiên bằng cách nhẹ nhàng lau sạch với một miếng gạc khô đã tiệt trùng (có trong bộ lấy DBS) hoặc bông sạch không có cồn.

Bước 9: Lấy giọt máu to tiếp theo

Khi máu chảy thành giọt to tiếp theo tại vị trí chích máu, để giọt máu nhỏ trực tiếp vào trung tâm của từng vòng tròn trên tấm DBS, không được ấn tấm DBS vào gót chân trẻ.

Lưu ý:

a) Trong quá trình đợi giọt máu chảy ra, nếu thấy lượng máu nhỏ chưa đủ, có thể bóp nhẹ vào vùng xa vị trí lấy máu để tạo áp lực cho máu chảy.

b) Nếu giọt máu quá nhỏ không đủ để phủ kín hết vòng tròn trên tấm DBS thì không nhỏ giọt khác chồng lên. Chờ giọt máu tiếp theo lấy vào vòng tròn khác.

Bước 10: Sát trùng sau khi lấy máu

Lau sạch vị trí chích máu và ấn miếng bông/gạc đã tiết trùng vào vị trí chích máu cho đến khi máu ngừng chảy và không còn băng. Trong trường hợp máu còn chảy thì cần băng lại.

2. Cách thứ hai: Chuẩn bị mẫu DBS từ mẫu máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA

- Lấy máu tĩnh mạch vào ống có chứa chất chống đông EDTA, đảo ngược ống 5-6 lần;

- Dùng pipet hút 70 μ l máu từ ống máu nhỏ vào mỗi vòng tròn trên tấm DBS (sử dụng đầu côn có lọc).

Lưu ý: Trong trường hợp mẫu chưa được nhỏ vào tấm DBS ngay, có thể giữ ở nhiệt độ phòng trong 15 phút sau đó cất ở tủ lạnh (4°C-8°C) trong 24 giờ đến khi nhỏ lên tấm DBS.

3. Làm khô mẫu DBS

Sau khi đã nhỏ máu vào đủ 5 vòng tròn trên tấm DBS, đặt các tấm DBS này lên giá phơi khô, để mẫu máu khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng ($\leq 25^{\circ}\text{C}$) trong khoảng thời gian từ 4 giờ đến qua đêm tùy thuộc vào độ ẩm trong phòng (xem hình 2).

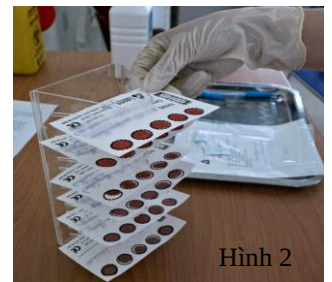
Lưu ý:

a) Không sử dụng máy sấy tóc hoặc đờ quạt điện hoặc máy điều hòa thổi trực tiếp vào các tấm mẫu DBS.

b) Tránh để tấm DBS tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, chuột, côn trùng và bụi.

c) Không xếp các tấm DBS chồng lên nhau, không làm nóng hoặc để tấm mẫu DBS chạm vào các bề mặt khác trong suốt thời gian phơi khô

Lưu ý: các tấm mẫu DBS khi chưa khô hoàn toàn sẽ ảnh hưởng tới chất lượng của các giọt máu khô và kết quả xét nghiệm PCR.

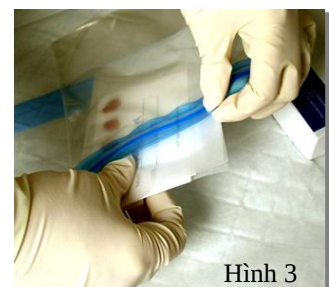


Hình 2

II. ĐÓNG GÓI

1. Đóng gói mẫu DBS

a) Sau khi mẫu DBS đã khô hoàn toàn, xếp mỗi tấm DBS và các gói hút ẩm vào một túi nhựa chuyên dụng có khóa (xem hình 3,4).



Hình 3

b) Ép hết khí ra khỏi túi bằng cách đặt túi lên mặt bàn rồi vuốt ép lên bề mặt túi để dồn hết không khí ra khỏi miệng túi. Sau đó miết chặt khóa để khóa kín túi, sát khuẩn mặt ngoài túi.



Hình 4

Lưu ý:

- Các gói chống ẩm có thể sử dụng lại bằng cách đặt vào lò sấy ở nhiệt độ 65°C qua đêm, sau đó lấy ra và bảo quản cho đến khi sử dụng lại.

- Sử dụng trang bị bảo hộ cá nhân thích hợp khi thao tác với mẫu bệnh phẩm.

2. Bảo quản mẫu DBS

Bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng ($\leq 25^{\circ}\text{C}$) và chuyển tới phòng xét nghiệm trong vòng 1 tuần.

Lưu ý:

- Đảm bảo các túi chứa tấm DBS đã được ép hết khí ra ngoài và được cài chặt, kiểm tra tấm thẻ chỉ thị độ ẩm (nếu có).

- Tất cả các mẫu DBS cần phải được bảo quản theo điều kiện trên cho đến khi chuyển đến phòng xét nghiệm với đầy đủ phiếu xét nghiệm và phiếu gửi mẫu (theo phụ lục IV-C, mẫu số 1C, 2C).

- Trong quá trình bảo quản tránh để các tấm DBS tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng hoặc nguồn nhiệt cao.

III. VẬN CHUYỂN, TIẾP NHẬN MẪU MÁU**1. Vận chuyển mẫu**

a) Kiểm tra lại các thông tin trên Phiếu gửi mẫu và tấm DBS;

b) Đặt các túi mẫu DBS, phiếu chỉ định xét nghiệm và phiếu gửi mẫu xét nghiệm vào một phong bì tối màu. Đóng phong bì và chuyển phát nhanh đến phòng xét nghiệm bằng đường bưu điện càng sớm càng tốt (không cần giữ lạnh khi vận chuyển);

c) Cơ sở gửi mẫu cần thông báo cho Phòng xét nghiệm về việc gửi mẫu.

2. Tiếp nhận mẫu – tại phòng xét nghiệm

a) Kiểm tra chất lượng mẫu bệnh phẩm bao gồm quy cách đóng gói, chất lượng mẫu, đối chiếu với phiếu xét nghiệm và phiếu gửi mẫu xét nghiệm;

Mẫu DBS không đạt chất lượng khi: lượng mẫu không bao phủ hết vòng tròn trên tấm giấy thấm (Không đủ để thực hiện xét nghiệm), mẫu chưa khô, giấy bị ẩm, mẫu máu bị pha loãng, mất màu hoặc nhiễm, mẫu máu có các vòng huyết thanh, mẫu bị đông cục hoặc tạo thành lớp, lấy mẫu không đúng kỹ thuật.

b) Ký nhận phiếu gửi mẫu xét nghiệm để xác nhận đã nhận được mẫu bệnh phẩm đạt chất lượng cho xét nghiệm;

c) Điền đủ thông tin vào sổ xét nghiệm;

d) Thông báo lịch trả kết quả cho cơ sở gửi mẫu.

IV. TIÊU HỦY MẪU BỆNH PHẨM

1. Việc hủy mẫu phải tiến hành theo quy định về quản lý chất thải y tế và các qui định pháp luật hiện hành có liên quan.

2. Hủy mẫu lưu dương tính và nghi ngờ: sau khi hết thời gian lưu mẫu theo quy định, việc hủy mẫu cần phải lập biên bản ghi rõ thời gian và danh sách các mẫu đã hủy. Thời gian lưu giữ hồ sơ hủy mẫu phải thực hiện theo các quy định về quản lý, bảo quản và lưu trữ hồ sơ hiện hành.

Phụ lục III

QUY TRÌNH LẤY MẪU, ĐÓNG GÓI VÀ VẬN CHUYỂN MẪU TRONG XÉT NGHIỆM NAT HIV

I. LẤY MẪU MÁU

1. Chuẩn bị dụng cụ:

- Bông thấm nước vô trùng; cồn 70 độ hoặc cồn I ốt; găng tay không bột; băng cá nhân; bơm kim tiêm (đầu kim 21G - 23G) hoặc bộ dụng cụ lấy máu bằng ống hút chân không (vacutainer, kim, giá đỡ); ống lấy máu có chứa chất chống đông EDTA; dây garô; giá để ống nghiệm; đầu côn có lọc (không có DNase/RNase); ống cryotube loại 1,8 - 2ml (không có DNase/RNase); hộp đựng các vật sắc nhọn và rác thải y tế.

Lưu ý: Không dùng chất chống đông bằng Heparin vì sẽ ức chế phản ứng của kỹ thuật sinh học phân tử. Sử dụng chất chống đông EDTA hoặc chất chống đông khác theo yêu cầu của kỹ thuật sử dụng (tốt nhất là dạng phun sương).

2. Chuẩn bị lấy mẫu:

a) Điền đầy đủ thông tin của người bệnh (Họ tên, mã số, tuổi) và giờ, ngày lấy mẫu trên ống đựng mẫu;

b) Kiểm tra, đối chiếu tên người bệnh, mã số trên phiếu và trên ống nghiệm;

c) Rửa tay và đi găng tay không bột (trường hợp không có găng tay không bột có thể dùng găng tay thường nhưng phải rửa sạch bột talc trước khi lấy máu cho bệnh nhân);

3. Tiến hành lấy máu:

a) Xác định vị trí lấy máu (tĩnh mạch) và ga rô cách vị trí lấy máu 5cm về phía trên;

b) Sát trùng vị trí lấy máu bằng cồn 70 độ và để khô 30 giây.

c) Đưa kim vào tĩnh mạch lấy 6 ml máu cho vào ống có chứa chất chống đông. Có thể dùng bơm kim tiêm loại 10 ml (đầu kim cỡ 21G - 23G) để lấy máu hoặc dùng bộ dụng cụ lấy máu với ống hút chân không (vacutainer). Nếu dùng bơm kim tiêm để lấy máu thì tháo đầu kim ra (đảm bảo thao tác an toàn), để bơm tiêm chích với thành ống nghiệm và bơm từ từ cho máu chảy theo thành ống nghiệm tránh làm vỡ hồng cầu.

d) Thải bỏ đầu kim vào hộp đựng các vật sắc nhọn, các chất thải không sắc nhọn khác cho vào thùng đựng rác thải y tế;

e) Sát trùng lại vị trí đã lấy máu bằng cồn 70 độ và băng lại;

f) Sau khi lấy máu vào ống có chất chống đông, trộn đều bằng cách nhẹ nhàng đảo ngược ống máu 8-10 lần hoặc để trên máy xoay trộn trong tối thiểu 2 phút. Để ống máu ở nhiệt độ phòng tối thiểu 15 phút và bảo quản ở 2°C-8°C cho đến khi chuyển đến phòng xét nghiệm;

g) Nếu trong vòng 6 giờ hoặc thời gian khác theo hãng sản xuất sinh phẩm xét nghiệm quy định kể từ khi lấy mẫu máu mà không gửi được đến phòng xét nghiệm thì bắt buộc phải ly tâm tách huyết tương.

❖ Hướng dẫn tách huyết tương từ mẫu máu toàn phần:

+ Ly tâm ống máu với tốc độ 2500 - 3000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ phòng (18-25°C) hoặc tốt nhất là ở 4°C;

+ Dùng ống hút nhựa (dùng một lần) hoặc pipet với đầu côn có lọc (không có DNase/RNase) để hút toàn bộ huyết tương chuyển sang 02 ống cryotube loại 1,8 - 2ml (không có DNase/RNase) đã có dán mã số tương ứng.

+ Bảo quản các ống huyết tương ở 2°C-8°C cho đến khi mẫu được chuyển đến phòng xét nghiệm.

II. ĐÓNG GÓI MẪU BỆNH PHẨM

Việc đóng gói mẫu bệnh phẩm phải tuân theo các quy định hiện hành của Bộ Y tế về hướng dẫn lấy mẫu, đóng gói, bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm.

Với trường hợp vận chuyển mẫu trong nội bộ đơn vị cần tuân thủ theo nguyên tắc đóng gói tối thiểu 2 lớp, nếu vận chuyển mẫu ra bên ngoài đơn vị phải tuân theo nguyên tắc đóng gói 3 lớp để đảm bảo an toàn và ngăn ngừa các sự cố tràn đổ hoặc rò rỉ.

Có thể tham khảo các bước đóng gói mẫu như sau:

1. 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.

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

3. Đặt các túi tích lạnh hoặc đá khô vào thùng đựng mẫu để đảm bảo mẫu được bảo quản từ 2-8°C hoặc nhiệt độ đông tùy thuộc vào thời gian vận chuyển và tình trạng mẫu trong quá trình vận chuyển.

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

5. 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.

III. VẬN CHUYỂN, TIẾP NHẬN MẪU BỆNH PHẨM

1. Vận chuyển mẫu

a) 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 (Mẫu 1C hoặc mẫu 3C phụ lục IV-C) và "Phiếu chuyển gửi mẫu xét nghiệm sinh học phân tử HIV" (Mẫu 2C phụ lục IV-C).

b) Thời gian gửi mẫu:

- Đối với mẫu máu toàn phần: mẫu máu cần được chuyển đến phòng xét nghiệm trong vòng **6 giờ** hoặc thời gian khác theo quy định của hãng sản xuất sinh phẩm xét nghiệm kể từ khi lấy máu.

- Đối với mẫu huyết tương: mẫu cần chuyển đến phòng xét nghiệm trong khoảng thời gian quy định của hãng sản xuất sinh phẩm tùy thuộc vào tình trạng mẫu đông hay không kể từ khi tách huyết tương.

* Lưu ý:

Thời gian gửi mẫu có thể thay đổi theo yêu cầu của phòng xét nghiệm nhận mẫu, đảm bảo phù hợp với các khuyến cáo của nhà sản xuất sinh phẩm sử dụng.

c) 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.

d) 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 giấy tay và các dụng cụ an

toàn để xử lý khi gặp sự cố (chất tẩy trùng, khử khuẩn như cồn 70 độ, Cloramin B...); vật liệu thấm hút để lau chùi, giấy lau mềm; túi nylon dày chuyên dụng.

2. Tiếp nhận mẫu: thực hiện theo quy định tại mục III, phụ lục II hướng dẫn này.

Mẫu không đạt chất lượng khi mẫu bị tán huyết, mẫu không đủ thể tích, máu toàn phần được chống đông bằng Heparine, thời gian từ lúc lấy mẫu đến lúc chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm quá thời gian quy định tại mục 1 b) phần III của Quy trình này.

IV. TIÊU HỦY MẪU BỆNH PHẨM

Thực hiện theo quy định tại mục IV, phụ lục II hướng dẫn này.

Phụ lục IV-A
ÁP DỤNG CHO CƠ SỞ THỰC HIỆN XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV

Mẫu số 1A

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	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ	ĐỐI TƯỢNG	NGÀY LẤY MẪU	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM	CHẤT LƯỢNG MẪU	MÃ SỐ PXN	GHI CHÚ
		Nam	Nữ				SP (ghi rõ tên sp)			
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)

Ghi chú: Phiếu này lập thành 02 bản, mỗi bên giữ 01 bản.

Ngày tháng năm

NGƯỜI GIAO MẪU

(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm

NGƯỜI NHẬN MẪU XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

Lưu ý:

(2) Họ tên: Ghi rõ họ và tên

(6) Đối tượng: Ghi rõ: Nghiện chích ma túy, mại dâm, nam quan hệ tình dục đồng giới, phụ nữ mang thai, **đang điều trị ARV**, hoặc khác nếu không thuộc các đối tượng đã liệt kê

(8) Kết quả xét nghiệm: ghi rõ (Dương tính) hoặc (âm tính)

(9) Chất lượng mẫu: Đạt, không đạt (ghi rõ: tán huyết, đóng cục, không đủ thể tích,).

Đơn vị.....

Khoa.....

SỔ XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV

Bắt đầu từ.....

đến.....

SỔ XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV

STT	THÔNG TIN KHÁCH HÀNG					ĐỐI TƯỢNG	NGÀY LẤY MẪU	Ngày xét nghiệm	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM	KẾT LUẬN	KẾT QUẢ KHẲNG ĐỊNH	GHI CHÚ
	HỌ TÊN	MÃ SỐ	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ				SP			
			Nam	Nữ					(ghi rõ tên sinh phẩm)			
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)

Lưu ý:

(2) Họ tên: Ghi rõ họ và tên

(4,5) Năm sinh, trường hợp trẻ dưới 2 tuổi thì ghi rõ ngày tháng năm sinh.

(6) Địa chỉ của bệnh nhân: Ghi Xã/Phường, quận/huyện, tỉnh/thành phố.

(7) Đối tượng: Ghi rõ: Nghiện chích ma túy, mại dâm, nam quan hệ tình dục đồng giới, phụ nữ mang thai...

(10) Kết quả xét nghiệm: Ghi rõ âm tính, dương tính, nghi ngờ

(11) Kết luận: Chỉ được phép kết luận âm tính, các trường hợp có kết quả dương tính, nghi ngờ với sinh phẩm sử dụng thì ghi gửi khẳng định và thực hiện chuyển mẫu.

Tên đơn vị.....
 Phòng xét nghiệm HIV:.....
 Địa chỉ.....
 Điện thoại.....

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM KHÁNG THỂ KHÁNG HIV

(Áp dụng 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:

Tên 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)

Lưu ý:

Trường hợp không có chứng minh nhân dân hoặc giấy tờ tùy thân để chứng minh người được làm xét nghiệm đúng với họ tên ghi trên giấy xét nghiệm thì ghi rõ: Không có giấy tờ tùy thân đối chiếu người được làm xét nghiệm xác thực với họ và tên ghi trên giấy xét nghiệm

Phụ lục IV-B

ÁP DỤNG CHO CƠ SỞ XÉT NGHIỆM KHÁNG ĐỊNH CÁC TRƯỜNG HỢP HIV DƯƠNG TÍNH

Mẫu số 1B

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	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ	ĐỐI TƯỢNG	NGÀY LẤY MẪU	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM			CHẤT LƯỢNG MẪU	MÃ SỐ PXN	GHI CHÚ
		Nam	Nữ				SP1 (ghi rõ tên sp)	SP2 (ghi rõ tên sp)	SP3 (ghi rõ tên sp)			
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)

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)

Lưu ý:

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.
3. Cách ghi các cột:
 - (2) Họ tên của bệnh nhân: Ghi rõ họ tên
 - (3,4) Năm sinh, trường hợp trẻ dưới 2 tuổi thì ghi rõ ngày tháng năm sinh.
 - (5) Địa chỉ của bệnh nhân: Ghi Xã/Phường, quận/huyện, tỉnh/thành phố.
 - (6) Đối tượng: Ghi rõ: Nghiện chích ma túy, mại dâm, nam quan hệ tình dục đồng giới, phụ nữ mang thai, **đang điều trị ARV.**
 - (9,10,11): Kết quả xét nghiệm: Ghi rõ âm tính, dương tính, nghi ngờ; Tên sinh phẩm (SP1, SP2, SP3): ghi rõ tên sinh phẩm hiện đang sử dụng.
 - (12) Chất lượng mẫu: Đạt, không đạt (ghi rõ: tán huyết, đông cục, không đủ thể tích,...).
 - (13) Mã số phòng xét nghiệm: Là mã số theo quy định của đơn vị thực hiện xét nghiệm.

Đơn vị.....

Khoa.....

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

Bắt đầu từ.....

đến.....

SỐ NHẬN MẪU VÀ TRẢ KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM HIV

STT	ĐƠN VỊ GỬI MẪU	NGÀY NHẬN MẪU	SỐ LƯỢNG MẪU	NGƯỜI NHẬN MẪU (Ký, ghi rõ họ tên)	NGÀY LÀM <u>XÉT</u> NGHIỆM	NGÀY TRẢ KẾT QUẢ	XÁC NHẬN NHẬN KQ (Ký, ghi rõ họ tên)	GHI CHÚ
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)

Lưu ý:

(7) Xác nhận nhận kết quả: trong trường hợp gửi qua đường bưu điện thì người gửi ghi nhận lại ngày gửi.
Các đơn vị tùy tình hình thực tế có thể thêm các cột thông tin khi cần thiết

Đơn vị.....

Khoa.....

SỔ 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	KẾT QUẢ 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)				
			Nam	Nữ				Ngày XN	Kết quả XN	Ngày XN	Kết quả XN	Ngày XN				Kết quả XN
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)

Lưu ý: Cách ghi các cột:

- (2,3) Họ tên và mã số của bệnh nhân.
- (4,5) Năm sinh, trường hợp trẻ dưới 2 tuổi thì ghi rõ ngày tháng năm sinh.
- (6) Địa chỉ của bệnh nhân: Ghi Xã/Phường, quận/huyện, tỉnh/thành phố.
- (7) Đối tượng: Ghi rõ: Nghiện chích ma túy, mại dâm, nam quan hệ tình dục đồng giới, phụ nữ mang thai...
- (9,11,13) Ngày xét nghiệm: Ngày xét nghiệm ghi ngày xét nghiệm chẩn đoán.
- (10, 12,14) Kết quả xét nghiệm: Ghi rõ âm tính, dương tính, nghi ngờ; Tên sinh phẩm (SP1, SP2, SP3): ghi rõ tên sinh phẩm hiện đang sử dụng.
- (15) Kết luận: Ghi rõ âm tính, dương tính hay không xác định.
- (16) Mã số BN của phòng xét nghiệm.

Đơn vị.....

Khoa.....

**SỔ LƯU MẪU
DƯƠNG TÍNH VÀ KHÔNG XÁC ĐỊNH**

Bắt đầu từ.....

đến.....

SỐ LƯU MẪU DƯƠNG TÍNH VÀ KHÔNG XÁC ĐỊNH

[illegible]

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:.....

STT	HỌ TÊN	MÃ SỐ	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ	ĐỐI TƯỢNG	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM				KẾT LUẬN	GHI CHÚ
			Nam	Nữ			SP1 (ghi rõ tên SP)	SP2 (ghi rõ tên SP)	SP3 (ghi rõ tên SP)	Kỹ thuật khác		
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)

(Chú ý: Đi kèm phiếu này là trích lục từng kết quả xét nghiệm cho bệnh nhân theo mẫu số 6, phụ lục này).

PHỤ TRÁCH PHÒNG XÉT NGHIỆM

(Ký, ghi rõ họ tên)

Lưu ý: Cách ghi các cột:

- (2,3) Họ tên và mã số của bệnh nhân.
- (3,4) Năm sinh, trường hợp trẻ dưới 2 tuổi thì ghi rõ ngày tháng năm sinh.
- (5) Địa chỉ của bệnh nhân: Ghi Xã/Phường, quận/huyện, tỉnh/thành phố.
- (6) Đối tượng: Ghi rõ: Nghiện chích ma túy, mại dâm, nam quan hệ tình dục đồng giới, phụ nữ mang thai...
- (7,8,9,10) Kết quả xét nghiệm: Ghi rõ âm tính, dương tính, nghi ngờ; Tên sinh phẩm (SP1, SP2, SP3): ghi rõ tên sinh phẩm hiện đang sử dụng.
- (11) Kết luận: Ghi rõ âm tính, dương tính hay không xác định.

.....¹.....
².....
³.....
⁴.....

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

Mã QR

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM HIV DƯƠNG TÍNH

Họ và tên: Giới tính:.....

Năm sinh:.....

Số CMND/CCCD/Hộ chiếu⁵ :Địa chỉ nơi thường trú: số nhà..... tổ..... đường/phố.....
 xã/phường.....quận/huyện.....tỉnh/TP.....Địa chỉ nơi tạm trú/ nơi ở hiện tại (nếu khác với địa chỉ nơi thường trú): số nhà.....
 tổ.....đường/phố.....xã/phường.....
 ..quận/huyện.....tỉnh/TP

Ngày xét nghiệm:

Tên các sinh phẩm xét nghiệm/Kỹ thuật xét nghiệm:.....

.....

Kết luận (Ghi rõ bằng chữ hoặc đóng dấu):.....

XÁC NHẬN CỦA THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ

(Ký, ghi rõ họ tên và đóng dấu)⁶

Ngày.....tháng năm

PHỤ TRÁCH PHÒNG XN

(Ký, ghi rõ họ tên)

¹ Ghi tên đơn vị ban hành phiếu² Ghi tên cơ sở thực hiện xét nghiệm khẳng định HIV³ Địa chỉ cơ sở thực hiện xét nghiệm khẳng định HIV⁴ Số điện thoại cơ sở thực hiện xét nghiệm khẳng định HIV⁵ Ghi số chứng minh nhân dân (CMND), thẻ Căn cước công dân (CCCD), Hộ chiếu hoặc giấy tờ khác có ảnh, thông tin cá nhân do cơ quan nhà nước có thẩm quyền cấp còn giá trị sử dụng trước khi người đó làm xét nghiệm. Trường hợp trẻ em dưới 15 tuổi làm xét nghiệm HIV, ghi thông tin họ và tên, số CMND/CCCD của bố/ mẹ/người giám hộ thay cho dòng CMND/CCCD/Hộ chiếu của người được xét nghiệm.⁶ Trường hợp thủ trưởng đơn vị ủy quyền cho người phụ trách phòng xét nghiệm sử dụng con dấu của đơn vị để thực hiện cấp Phiếu kết quả xét nghiệm HIV dương tính thì không cần xác nhận của thủ trưởng đơn vị.

* Mẫu xét nghiệm nhận từ/..... đến/..... (Xem **Sổ nhận mẫu**)

[illegible]

SƠ ĐỒ XÉT NGHIỆM CHO KỸ THUẬT ELISA - 5 chứng

Ngày thực hiện:

Tên sinh phẩm:

Người thực hiện:

Quy trình xét nghiệm: **QTXN-.....**-.....

Phiên số: Số lô:

Hạn sử dụng:.....

Sử dụng IQC: Số lô:

Hạn sử dụng:.....

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84
B		5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85
C		6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86
D		7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87
E		8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88
F	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
G	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
H	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91

Tờ số:.....

SƠ ĐỒ LƯU MẪU

Tủ lạnh:.....

Nhiệt độ:

Ngăn: Giá: Hộp số:

Ngày:/...../20.....

Loại mẫu:

Nguồn mẫu:

Người quản lý:

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.	32.	33.	34.	35.	36.
37.	38.	39.	40.	41.	42.	43.	44.	45.
46.	47.	48.	49.	50.	51.	52.	53.	54.
55.	56.	57.	58.	59.	60.	61.	62.	63.
64.	65.	66.	67.	68.	69.	70.	71.	72.
73.	74.	75.	76.	77.	78.	79.	80.	81.

Phụ lục IV-C
DÀNH CHO XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ HIV

Mẫu số 1C

PHIẾU XÉT NGHIỆM
CHẨN ĐOÁN SỚM NHIỄM HIV CHO TRẺ DƯỚI 18 THÁNG

Phòng khám :

Điện thoại :

Địa chỉ :

Fax :

Email :

Họ và tên trẻ:..... Họ tên mẹ (hoặc người giám hộ):..... Mã định danh (nếu có): Địa chỉ:..... Điện thoại liên lạc:.....	Giới tính: ☐ Nam ☐ Nữ Ngày sinh của trẻ: _ _ / _ _ / _ _ _ _ Nơi sinh của trẻ:
Mẹ phát hiện nhiễm HIV ☐ Trước khi mang thai ☐ Lúc có thai tuần ☐ Khi chuyển dạ ☐ Không có thông tin	Mẹ đã được điều trị ARV ☐ Không có thông tin ☐ Chưa ☐ Có ☐ Trước khi mang thai ☐ Khi mang thai.....tuần ☐ Khi chuyển dạ ☐ Sau khi sinh ☐ Phác đồ ARV của mẹ:,từ
Phương pháp nuôi dưỡng trẻ đến khi XN ☐ Chưa bao giờ bú mẹ ☐ Hiện đang bú mẹ ☐ Đã dừng bú mẹ trên 6 tuần ☐ Đã dừng bú mẹ dưới 6 tuần ☐ Không có thông tin	Trẻ được dự phòng ARV ngay sau sinh ☐ Không có thông tin ☐ Không ☐ Có, phác đồ..... Thời gian dự phòng từ.....đến.....
Trẻ có triệu chứng nghi ngờ nhiễm HIV ☐ Có ☐ Không	Kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể kháng HIV ☐ Chưa xét nghiệm ☐ Dương tính ☐ Âm tính ☐ Không xác định

Chỉ định xét nghiệm chẩn đoán nhiễm HIV

☐ Lần một Ngày: _ _ / _ _ / _ _ _ _ Giờ lấy máu: _ _ : _ _	☐ Lần hai Ngày: _ _ / _ _ / _ _ _ _ Giờ lấy máu: _ _ : _ _ Kết quả PCR lần 1: ☐ Âm tính ☐ Dương tính ☐ Khác ghi rõ	☐ Khác Ngày: _ _ / _ _ / _ _ _ _ Giờ lấy máu: _ _ : _ _ 	Cán bộ lấy mẫu (Kí, họ tên) Bác sỹ chỉ định (Kí, họ tên)
--	---	---	---

ĐƠN VỊ...

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc Lập - Tự Do - Hạnh Phúc

Kính gửi:

PHIẾU GỬI MẪU XÉT NGHIỆM NAT HIV

TT	Họ và tên/Mã số	Ngày sinh		Địa chỉ	Kết quả XN kháng thể kháng HIV (nếu có)	Chỉ định XN PCR			Giờ và ngày lấy mẫu	Loại mẫu	Giờ và ngày nhận mẫu	Chất lượng mẫu	Ghi chú
		Nam	Nữ			Lần 1	Lần 2	Khác					
										☐ DBS ☐ Máu toàn phần ☐ Khác:		☐ Đạt ☐ Không đạt	
										☐ DBS ☐ Máu toàn phần Khác:		☐ Đạt ☐ Không đạt	

Ngày tháng năm
Người giao
(Ký, ghi rõ họ tên)

Ngày tháng năm
Người nhận
(Ký, ghi rõ họ tên)

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

ĐƠN VỊ CHỈ ĐỊNH XÉT NGHIỆM			
1.	Họ tên bệnh nhân: Số CMTND / CCCD (nếu có): MSBN:		
2	Ngày/tháng/năm sinh:	Giới tính	☐ Nam ☐ Nữ
3	Địa chỉ cư trú:		
4	Lý do chỉ định ghi cụ thể: - Xét nghiệm huyết thanh học HIV không biện luận được kết quả. - Trẻ ngừng bú mẹ hoàn toàn sau 3 tháng. - <u>Khác (ghi rõ):</u>	5. Điều trị ARV: ☐ Có. Thời gian điều trị ARV: ☐ Không	
6	Ngày.....tháng Năm Bác sĩ chỉ định (Họ tên, chữ ký)		

Tên đơn vị.....
 Phòng xét nghiệm HIV
 Địa chỉ.....
 Điện thoại.....

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN SỚM NHIỄM HIV CHO TRẺ DƯỚI 18 THÁNG TUỔI

(Dùng để trả cho người được làm xét nghiệm)

Họ và tên trẻ: Giới tính:.....
 Họ và tên mẹ (Hoặc người giám hộ):.....
 Mã định danh (nếu có):.....
 Ngày sinh của trẻ:.....
 Địa chỉ:.....
 Ngày nhận mẫu:
 Loại mẫu:
 Ngày xét nghiệm:
 Kỹ thuật xét nghiệm:.....
 Kết quả (Ghi rõ bằng chữ):.....
 Ngưỡng phát hiện:
 Ghi chú:.....

XÁC NHẬN CỦA THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ

(Ký, ghi rõ họ tên và đóng dấu)¹

Ngày.....tháng năm

PHỤ TRÁCH PHÒNG XN

(Ký, ghi rõ họ tên)

¹ Trường hợp thủ trưởng đơn vị ủy quyền cho người phụ trách phòng xét nghiệm sử dụng con dấu của đơn vị để thực hiện cấp Phiếu kết quả xét nghiệm HIV dương tính thì không cần xác nhận của thủ trưởng đơn vị.

Tên đơn vị.....
 Phòng xét nghiệm HIV
 Địa chỉ.....
 Điện thoại.....

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ HIV

(Dùng để trả cho người được làm xét nghiệm)

Họ và tên: Giới tính:.....
 Mã số bệnh nhân/khách hàng (nếu có):.....
 Số CMND/CCCD/Mã định danh (nếu có):
 Năm sinh:.....
 Địa chỉ:.....
 Ngày nhận mẫu:
 Loại mẫu:.....
 Ngày xét nghiệm:
 Kỹ thuật xét nghiệm:.....
 Kết quả (Ghi rõ bằng chữ):.....
 Ngưỡng phát hiện:
 Ghi chú:.....

XÁC NHẬN CỦA THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ

(Ký, ghi rõ họ tên và đóng dấu)¹

Ngày.....tháng năm

PHỤ TRÁCH PHÒNG XN

(Ký, ghi rõ họ tên)

¹ Trường hợp thủ trưởng đơn vị ủy quyền cho người phụ trách phòng xét nghiệm sử dụng con dấu của đơn vị để thực hiện cấp Phiếu kết quả xét nghiệm HIV dương tính thì không cần xác nhận của thủ trưởng đơn vị.

Đơn vị.....

Khoa.....

SỔ XÉT NGHIỆM
CHẨN ĐOÁN SỚM NHIỄM HIV BẰNG KỸ THUẬT NAT

Bắt đầu từ.....

đến.....

SỔ XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN SỚM NHIỄM HIV BẰNG KỸ THUẬT NAT

STT	THÔNG TIN KHÁCH HÀNG (từ cơ sở gửi mẫu)					ĐƠN VỊ GỬI MẪU	KẾT QUẢ XN KHÁNG THỂ KHÁNG HIV (nếu có)	KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM (Tên sinh phẩm)						KẾT LUẬN	MÃ SỐ BN CỦA PXN	GHI CHÚ	
	HỌ TÊN	MÃ SỐ	NĂM SINH		ĐỊA CHỈ			ĐỐI TƯỢNG	Lần I		Lần II		Lần III				
			Nam	Nữ					Ngày XN	Kết quả XN	Ngày XN	Kết quả XN	Ngày XN				Kết quả XN
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)	

Lưu ý: Cách ghi các cột:

- (2,3) Họ tên và mã số của bệnh nhân.
- (4,5) Năm sinh, trường hợp trẻ dưới 2 tuổi thì ghi rõ ngày tháng năm sinh.
- (6) Địa chỉ của bệnh nhân: Ghi Xã/Phường, quận/huyện, tỉnh/thành phố.
- (7) Đối tượng: Ghi rõ: Nghiện chích ma túy, mại dâm, nam quan hệ tình dục đồng giới, phụ nữ mang thai.....
- (9,11) Ngày xét nghiệm: Ngày xét nghiệm ghi ngày xét nghiệm NAT lần I, lần II.
- (10,12,14) Kết quả xét nghiệm: Ghi rõ âm tính, dương tính
- (15) Kết luận: Ghi rõ âm tính, dương tính.
- (16) Mã số BN của phòng xét nghiệm.

Phụ lục V

QUY TẮC MỘT CHIỀU VÀ THỰC HÀNH TỐT TRONG XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ

I. Nhiễm DNA trong phòng xét nghiệm:

Phản ứng PCR tạo ra một lượng rất lớn các bản sao DNA, tiềm ẩn nguy cơ lây nhiễm nucleic acid trong phòng xét nghiệm. Sự lây nhiễm nucleic acid trong phòng xét nghiệm có thể dẫn đến kết quả dương tính giả do có sự hiện diện của nucleic acid không mong muốn trong sản phẩm khuếch đại, ảnh hưởng đến việc chẩn đoán và điều trị bệnh. Các phân tử nucleic acid không mong muốn có thể tồn tại trong môi trường và ở bất kỳ các vật dụng nào như pipet, đầu tip, găng tay... hay thậm chí là hóa chất, sinh phẩm. Chính vì vậy, việc khắc phục và khử nhiễm DNA trong một phòng xét nghiệm sinh học phân tử (SHPT) rất phức tạp, tốn kém và thậm chí khó thực hiện, đôi khi phải di dời phòng xét nghiệm sang một khu vực mới.

Các nguồn và nguyên nhân lây nhiễm DNA bao gồm:

- Khí dung amplicon: Amplicon không thể nhìn thấy và phát hiện trước khi sự lây nhiễm xảy ra. Các thao tác PCR có thể tạo ra và phát tán khí dung amplicon.
- Nhiễm mẫu đích: thường xảy ra từ giai đoạn chuẩn bị mẫu.
- Phát tán mẫu chứng dương: Các thao tác không cẩn thận có thể làm lây nhiễm mẫu chứng dương có nguồn gốc từ bệnh nhân hoặc các plasmid.
- Nhiễm do thao tác không cẩn thận: lây nhiễm trực tiếp vào mix của phản ứng PCR, nhiễm chéo từ mẫu này sang mẫu khác hoặc nhiễm trên tay, quần áo, tóc...
- Vật dụng trong phòng xét nghiệm bị nhiễm: pipet, tip, máy vortex, áo choàng, găng tay...

Để phòng ngừa các rủi ro tiềm ẩn này, thiết kế phòng xét nghiệm và luồng công việc đảm bảo nguyên tắc một chiều, cũng như việc tuân thủ theo các nguyên tắc thực hành tốt trong phòng xét nghiệm SHPT đóng một vai trò rất quan trọng.

II. Phòng ngừa lây nhiễm trong phòng xét nghiệm SHPT

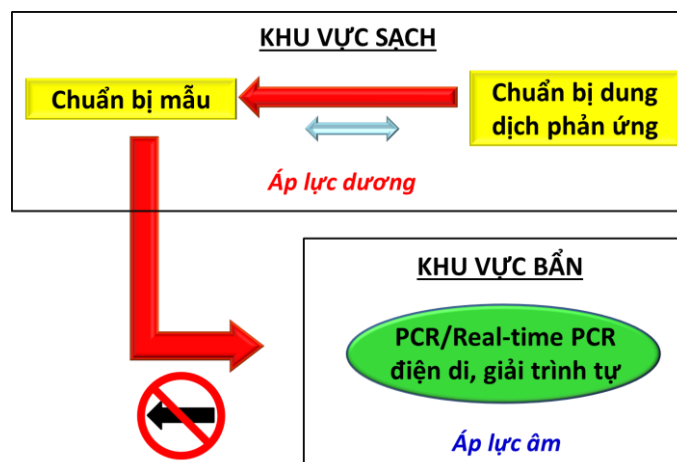
1. Quy tắc một chiều trong phòng xét nghiệm SHPT

Một phòng xét nghiệm SHPT cần bố trí không gian & thời gian hợp lý cho các bước Pre-PCR và post-PCR, đảm bảo luồng công việc luôn theo nguyên tắc đi từ khu vực sạch (Pre-PCR) (không có hoặc hiện diện nucleic acid với nồng độ thấp) đến khu vực bẩn nucleic acid (Post-PCR) (Có sự hiện diện DNA) (hình 5). Quy tắc một chiều

này được áp dụng cho nhân viên PXN (kể cả nhân viên dọn vệ sinh) và mẫu bệnh phẩm.

Các nguyên tắc chính bao gồm:

- ✓ Chỉ di chuyển một chiều từ khu vực không có DNA (Thường được thiết kế có áp lực dương) → khu vực có DNA (Thường được thiết kế có áp lực âm).
- ✓ Thiết bị, sinh phẩm, vật tư RIÊNG cho từng khu vực
- ✓ Cởi bỏ trang bị bảo hộ trước khi rời khỏi từng khu vực
- ✓ Tránh / hạn chế di chuyển theo chiều ngược lại
- ✓ Dụng cụ tái sử dụng phải được khử nhiễm DNA



Hình 5. Quy tắc một chiều trong phòng xét nghiệm sinh học phân tử

1.1. *Khu vực sạch – Chuẩn bị phản ứng*: là khu vực không có mẫu bệnh phẩm, không có nucleic acid và các sản phẩm PCR. Khu vực này thông thường được thiết kế có áp lực dương.

Các giai đoạn thực hiện tại khu vực này:

- ✓ Chuẩn bị dung dịch phản ứng (master mix) cho phản ứng PCR
- ✓ Lưu hóa chất PCR
- ✓ Chia nhỏ các hóa chất PCR

Các điều cần lưu ý:

- ✓ Càng xa khu vực bắn (Post-PCR) càng tốt
- ✓ Không dùng chung thiết bị, PPE, vật tư tiêu hao & hóa chất với các khu vực khác
- ✓ Không di chuyển từ khu vực bắn → sạch

1.2. *Khu vực sạch – Chuẩn bị mẫu*: là khu vực không có sản phẩm PCR, không có các vật liệu tạo dòng. Khu vực này thông thường được thiết kế có áp lực dương.

Các giai đoạn thực hiện tại khu vực này:

- ✓ Nhận, bảo quản & tách chiết mẫu bệnh phẩm
- ✓ Reverse transcriptase PCR (tạo cDNA) (nếu có)
- ✓ Nhỏ mẫu & chứng vào dung dịch phản ứng PCR (master mix)

Các điều cần lưu ý:

- ✓ Không lưu mẫu và hóa chất chung khu vực
- ✓ Không dùng chung thiết bị, PPE, vật tư tiêu hao & hóa chất với các khu vực khác
- ✓ Không di chuyển từ khu vực bẩn → sạch
- ✓ Trong trường hợp cần thiết, nhân viên thực hiện xét nghiệm có thể di chuyển ngược lại từ khu vực chuẩn bị mẫu sang khu vực chuẩn bị dung dịch phản ứng, tuy nhiên cần hạn chế chiều di chuyển này và đảm bảo không mang mẫu, PPE và bất kỳ vật dụng nào từ khu vực chuẩn bị mẫu sang khu vực chuẩn bị phản ứng.

1.3. *Khu vực bẩn*: là khu vực có sự hiện diện của các sản phẩm PCR. Khu vực này thông thường được thiết kế có áp lực âm.

Các giai đoạn thực hiện tại khu vực này:

- ✓ PCR/Real-time PCR
- ✓ Điện di, PCR ELISA, tinh sạch sản phẩm PCR, tạo dòng, giải trình tự gen

Các điều cần lưu ý:

- ✓ Nên bố trí không gian riêng cho mỗi giai đoạn kể trên
- ✓ Tuyệt đối không dùng chung thiết bị, PPE, vật tư tiêu hao & hóa chất với các khu vực khác

** Lưu ý cho nhân viên dọn vệ sinh phòng xét nghiệm SHPT:*

- ✓ Di chuyển theo nguyên tắc một chiều khi thu gom rác và dọn vệ sinh trong phòng xét nghiệm SHPT.
- ✓ Không mặc 1 bộ quần áo bảo hộ lao động, mang cùng 1 đôi găng tay đi từ khu vực bẩn DNA sang khu vực sạch DNA.
- ✓ Dụng cụ dọn vệ sinh (Chổi, bộ lau nhà, khăn và các dụng cụ làm vệ sinh khác) riêng biệt cho từng khu vực.

2. Tuân thủ các nguyên tắc thực hành tốt trong phòng xét nghiệm SHPT

Bên cạnh các nguyên tắc thực hành tốt trong một phòng xét nghiệm, nhân viên thực hiện xét nghiệm SHPT cần đảm bảo tuân thủ thêm các nguyên tắc sau.

2.1. Tại khu vực chuẩn bị phản ứng

- ✓ Không mang mẫu DNA/RNA /các gam chuẩn có bản chất DNA vào khu vực chuẩn bị phản ứng (Một số kit real-time PCR có cung cấp kèm mẫu gam chuẩn, cần tách riêng mẫu gam chuẩn này lưu tại phòng chuẩn bị mẫu).
- ✓ Không vào phòng chuẩn bị phản ứng khi đã làm việc ở khu vực bản.
- ✓ Chia nhỏ dung dịch mẹ để tránh rã đông nhiều lần.
- ✓ Giữ lạnh men phản ứng trong suốt quá trình thao tác.
- ✓ Đối với các vật dụng tái sử dụng (khay đựng tube/đĩa PCR): Khử trùng trước khi di chuyển vào phòng chuẩn bị phản ứng.

2.2. Tại khu vực chuẩn bị mẫu

- ✓ Thao tác với mẫu bệnh phẩm trong tủ an toàn sinh học.
- ✓ Luôn luôn sử dụng đầu côn có lọc, thao tác micropipet nhẹ nhàng tránh tạo khí dung amplicon.
- ✓ Ống chứa mẫu chỉ được mở nắp lần lượt khi thao tác.
- ✓ Thay găng thường xuyên trong quá trình thao tác với mẫu
- ✓ Đối với các vật dụng tái sử dụng (khay đựng tube/đĩa PCR): Khử trùng trước khi di chuyển từ khu vực bản vào phòng chuẩn bị mẫu.

2.3. Tại khu vực sau PCR

- ✓ Không mở nắp tube chứa mẫu tại khu vực khuếch đại
- ✓ Thực hiện các bước mở nắp và chuyển mẫu trong tủ thao tác PCR.
- ✓ Luôn luôn sử dụng đầu côn có lọc, thao tác micropipet nhẹ nhàng tránh tạo khí dung amplicon.
- ✓ Khử trùng tủ sau khi tiến hành phản ứng.
- ✓ Đối với các vật dụng tái sử dụng (khay đựng tube/đĩa PCR): Khử trùng trước khi di chuyển vào các khu vực khác.

2.4. Sử dụng micropipet

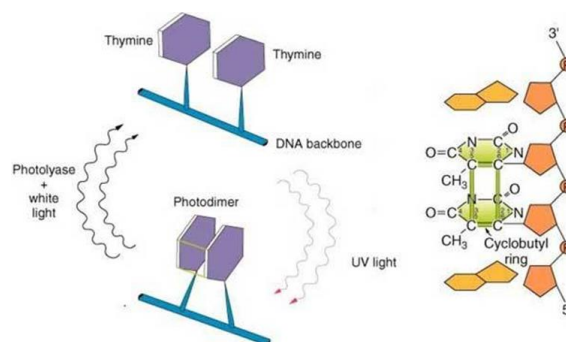
- ✓ Sử dụng loại micropipet phù hợp với thể tích cần hút (Chọn micropipet có thể tích nhỏ nhất phù hợp với thể tích cần hút)
- ✓ Sử dụng loại đầu tip có màng lọc và phù hợp với micropipet cũng như thể tích hút

- ✓ Kỹ thuật hút nhả micropipet chuẩn xác, nhẹ nhàng, đảm bảo đúng thể tích, tránh tạo ra khí dung amplicon trong quá trình thao tác với pipet.
- ✓ Đảm bảo đầu tip vừa đủ ngập trong dung dịch để tránh hút không khí, không nhúng đầu tip quá sâu vào dung dịch tránh dính các giọt hóa chất / mẫu bên ngoài đầu tip.

2.5. Khử nhiễm nucleic acid

a. Chiếu đèn UV: Chiếu xạ UV giúp hình thành các dimer pyrimidine, gây tổn thương và phân hủy các phân tử DNA.

Chiếu xạ UV có thể dùng để khử trùng bề mặt (Phòng xét nghiệm, tủ ATSH, tủ thao tác PCR) hoặc khử trùng các vật dụng (Dùng tủ UV crosslinker). Thời gian khử trùng tùy thuộc vào cường độ ánh sáng và khoảng cách từ đèn đến bề mặt chiếu.



b. Khử nhiễm bằng hóa chất: Có thể sử dụng một số dung dịch khử nhiễm nucleic acid như DNAZap™, DNA remover, DNA-exit plus, DNA-free™. Ngoài ra, các dung dịch tẩy rửa thông thường cũng có thể khử nhiễm DNA như Sodium hypochlorit (bleach) 10% hay Hydrogen peroxide 3% (Thường chỉ có hiệu quả trong vòng 24h sau khi pha).

Phụ lục VI

PHƯƠNG PHÁP VÀ KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN NHIỄM HIV

I. PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM HUYẾT THANH HỌC

1. Thông tin chung

Tìm kháng thể kháng HIV trong máu là phương pháp thông thường được sử dụng để sàng lọc máu trong công tác an toàn truyền máu; trong đánh giá, giám sát dịch tễ học HIV và trong chẩn đoán nhiễm HIV ở người lớn và trẻ em trên 18 tháng tuổi.

Tùy thuộc thể hệ sinh phẩm sử dụng, kháng thể kháng HIV trong máu có thể được phát hiện từ 2 đến 3 tuần sau khi nhiễm virus và tồn tại lâu dài trong máu người nhiễm. Tuy nhiên, trong một số trường hợp kháng thể kháng HIV có thể xuất hiện muộn hơn.

Giai đoạn cửa sổ huyết thanh học là giai đoạn cơ thể đã mang HIV nhưng kháng thể chưa được tạo ra hoặc chưa đủ nồng độ để có thể phát hiện được bằng các xét nghiệm tìm kháng thể thông thường. Tuy nhiên, người nhiễm HIV giai đoạn này vẫn có khả năng cao lây nhiễm HIV cho người khác.

Với các sinh phẩm thể hệ thứ 4 trở đi, ngoài khả năng phát hiện kháng thể kháng HIV, các nhà sản xuất cũng đã bổ sung khả năng phát hiện kháng nguyên p24 trong mẫu thử. Do đó, thời kỳ cửa sổ huyết thanh học càng được rút ngắn khi sử dụng sinh phẩm thể hệ này trong xét nghiệm. Ngoài ra, một số nhà sản xuất cũng đã phát triển dòng sinh phẩm phát hiện kháng thể kháng HIV từ dịch miệng, giúp đối tượng có thể tự kiểm tra tình trạng nhiễm HIV tại nhà. Hướng phát triển này giúp tăng khả năng tiếp cận chẩn đoán, đặc biệt đối với nhóm đối tượng e ngại đến cơ sở y tế để xét nghiệm.

Các xét nghiệm phải phát hiện được kháng thể kháng HIV-1, HIV-2 và cần lưu ý có khả năng phát hiện được tất cả các phân nhóm của HIV-1 lưu hành.

2. Các kỹ thuật xét nghiệm nhanh hoặc đơn giản

Các xét nghiệm nhanh hoặc đơn giản gồm: ngưng kết hạt vi lượng; miễn dịch chấm - thấm; miễn dịch lọc; miễn dịch sắc ký.

Đặc điểm chung của các xét nghiệm nhanh là tương đối đơn giản, dễ thực hiện, không đòi hỏi máy móc chuyên biệt, cho kết quả nhanh và đọc bằng mắt thường. Một số loại xét nghiệm nhanh có thể dùng mẫu là huyết thanh, huyết tương, máu toàn phần và cả dịch miệng.

Các sinh phẩm chẩn đoán nhanh thường được dùng ở những phòng thí nghiệm có số lượng mẫu ít, và trong các trường hợp cần chẩn đoán khẩn cấp cần có kết quả nhanh.

2.1. Các xét nghiệm ngưng kết hạt vi lượng.

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

2.2. Các xét nghiệm miễn dịch chấm - thấm.

- 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 mẫu thử 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.

2.3. Các xét nghiệm miễn dịch sắc ký.

- Mẫu xét nghiệm sẽ được nhỏ lên vùng nhỏ mẫu thử. Mẫu sẽ thấm và di chuyển qua vùng có chứa cộng hợp là kháng nguyên virus đã gắn với một chất chỉ thị 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 virus gắn chỉ thị 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.

2.4. 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.

- 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.

+ Kết quả rất dễ bị ảnh hưởng khi không tuân thủ đúng các hướng dẫn của nhà sản xuất (bảo quản sinh phẩm, thể tích mẫu, thời gian đọc kết quả . . .)

3. Các kỹ thuật miễn dịch đánh dấu (ELISA/hóa phát quang/điện hóa phát quang . . .)

3.1. Dựa trên nguyên lý xét nghiệm, các kỹ thuật miễn dịch đánh dấu chia thành các nhóm sau:

- Kỹ thuật Sandwich

+ Kháng thể kháng HIV có trong mẫu thử sẽ kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên virus đã được cố định trên giá đỡ. Phức hợp kháng nguyên - kháng thể sẽ được phát hiện bởi cộng hợp là các kháng nguyên virus gắn các chất đánh dấu (men, hóa phát quang) khi cho phản ứng hiện màu với cơ chất.

+ 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.

- Kỹ thuật 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.

- Kỹ thuật 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 virus đã cố định trên giá đỡ.

+ Giá trị mật độ quang tỷ lệ nghịch với lượng kháng thể 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 virus (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 virus 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/phát quang sau khi cho cơ chất.

+ Trong an toàn truyền máu: phải lựa chọn kỹ thuật có độ nhạy, độ đặc hiệu tương đương hoặc cao hơn kỹ thuật ELISA hoặc hoá phát quang với sinh phẩm có khả năng phát hiện đồng thời kháng nguyên, kháng thể HIV-1 và HIV-2 (Thông tư 26/2013/TT-BYT ngày 15 tháng 11 năm 2013)

3.2. Dựa trên phương pháp chuẩn bị các kháng nguyên, kháng thể, các sinh phẩm hiện nay được chia thành 4 thể hệ:

- Sinh phẩm thể hệ thứ nhất sử dụng kháng nguyên ly trích từ virus phân lập sau khi gây nhiễm trên tế bào. Các sinh phẩm này có độ nhạy và độ đặc hiệu hạn chế và chỉ phát hiện kháng thể kháng HIV-1.

- Sinh phẩm thể hệ thứ hai dùng các kháng nguyên là protein sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp. Sinh phẩm thể hệ này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn nhưng có hạn chế là không phát hiện được IgM

- Sinh phẩm thể hệ ba sử dụng kháng nguyên là các peptide tổng hợp và các protein tái tổ hợp, gắn bắt được cả IgG và IgM. 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 các kháng thể kháng HIV có trong mẫu thử. Sử dụng sinh phẩm này giúp có thể phát hiện nhiễm sớm hơn do rút ngắn giai đoạn cửa sổ huyết thanh học. Một số sinh phẩm thể hệ này có thể phát hiện phân biệt riêng biệt kháng nguyên và kháng thể kháng HIV

Nhìn chung, 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 học. Các sinh phẩm thể hệ thứ tư trở lên cho phép phát hiện nhiễm HIV trong giai đoạn chuyển đổi huyết thanh và là sinh phẩm được yêu cầu lựa chọn cho kiểm tra an toàn trong truyền máu như đề cập ở trên

3.3. Ưu điểm và hạn chế của các kỹ thuật miễn dịch đánh dấu:

- Ưu điểm

+ Cho phép thực hiện đồng thời nhiều mẫu. Các hệ thống tự động giúp giảm bớt thao tác cho người làm xét nghiệm, giảm nhu cầu nhân sự và hạn chế được sai sót và lây nhiễm chéo.

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

+ Các hệ thống miễn dịch tự động có thể cho kết quả rất nhanh, trong vòng từ 20 – 30 phút và có công suất lớn.

+ Dữ liệu xét nghiệm và các thông số kỹ thuật có thể lưu trữ và truy xuất dễ dàng, 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 thực hiện bảo trì, bảo dưỡng, hiệu chuẩn, hiệu chỉnh định kỳ.

+ Các hệ thống miễn dịch tự động thường là hệ thống kín, chỉ sử dụng được với sinh phẩm đồng bộ với máy.

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

+ Kỹ thuật ELISA cần thời gian thực hiện xét nghiệm dài, từ 2-3 giờ.

+ Không phù hợp về mặt chi phí – hiệu quả cho các đơn vị có công suất mẫu nhỏ

4. Kỹ thuật WESTERN-BLOT

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

Chi phí cho xét nghiệm này khá cao nên hiện nay Tổ chức Y tế thế giới không khuyến cáo thực hiện thường quy ở những nước đang phát triển, nguồn lực hạn chế. Thay vào đó, để xác định một trường hợp nhiễm HIV có thể dùng phối hợp các xét nghiệm khác nhau về nguyên lý hoặc cách chuẩn bị kháng nguyên theo các chiến lược xét nghiệm cụ thể tùy thuộc vào tỷ lệ hiện nhiễm HIV của quốc gia

Kỹ thuật Western-blot chỉ được cân nhắc thực hiện trong trường hợp các kết quả xét nghiệm không xác định hoặc khó biện luận.

- Nguyên tắc: là một kỹ thuật theo nguyên lý ELISA gián tiếp thực hiện trên băng giấy đã cố định các thành phần kháng nguyên của virus 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 virus. 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 tương ứng của virus.

5. Phát hiện kháng nguyên p24 (antigen p24)

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

Phát hiện kháng nguyên p24 có thể được sử dụng trong:

- 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 virus trong nuôi cấy tế bào

- Các nhà sản xuất đã kết hợp việc tìm kháng nguyên p24 và kháng thể kháng HIV trong các sinh phẩm xét nghiệm huyết thanh học từ thế hệ thứ 4 trở đi, giúp giảm thời gian chờ đợi kết quả xét nghiệm trong chẩn đoán phát hiện nhiễm HIV.

II. PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM SINH HỌC PHÂN TỬ

1. Khái niệm:

Phương pháp xét nghiệm sinh học phân tử được dùng để xác định nhiễm HIV cho trẻ dưới 18 tháng tuổi, chẩn đoán nhiễm HIV ở người lớn trong các trường hợp xét nghiệm bằng phương pháp huyết thanh học không biện luận được kết quả.

2. Các kỹ thuật sinh học phân tử phát hiện HIV-RNA hoặc HIV-DNA provirus.

- Các kỹ thuật sinh học phân tử được áp dụng trong xét nghiệm phát hiện sớm nhiễm HIV; đo tải lượng virus trong theo dõi điều trị; và là xét nghiệm bắt buộc trong công tác an toàn truyền máu hiện nay

- Các kỹ thuật PCR, RT-PCR và Real Time PCR hiện là kỹ thuật phổ biến giúp phát hiện DNA tiền virus trong tế bào nhiễm hoặc HIV - ARN trong huyết tương.

- Nguyên tắc của kỹ thuật PCR, RT-PCR: (Polymerase Chain Reaction: phản ứng tổng hợp chuỗi) là kỹ thuật cho phép khuếch đại từ một lượng rất nhỏ phân tử DNA đích được tách chiết từ các tế bào nhiễm hoặc được sao chép ngược từ các RNA của virus nhờ enzyme sao chép ngược RT (cDNA). Kết quả của phản ứng PCR có thể được phân tích bằng nhiều cách:

- + Cổ điển: nhuộm sản phẩm DNA sau PCR và điện di trên thạch, sau đó đọc kết quả tìm băng phù hợp theo thiết kế của phản ứng.

- + Kỹ thuật Real time-PCR (Kỹ thuật PCR theo thời gian thực): cho phép đọc tín hiệu khuếch đại theo thời gian thực (theo chu kỳ khuếch đại)

+ Kỹ thuật PCR - lai phân tử: sản phẩm tạo thành sau PCR được đánh dấu với biotinyle và sẽ được lai ghép với các mẫu dò đặc hiệu với DNA đích đã được cố định trên các giếng của phiên bản và được phát hiện bởi các tín hiệu cho phép đọc được với máy đo chuyên dụng (colorimetric).