

QUY TRÌNH KỸ THUẬT
Xét nghiệm tìm Plasmodium (ký sinh trùng sốt rét)
bằng phương pháp nhuộm soi định tính

I. MỤC ĐÍCH

Mô tả và hướng dẫn cách thực hiện xét nghiệm *Plasmodium* (ký sinh trùng sốt rét) nhuộm soi định tính và phát hiện ký sinh trùng sốt rét trong máu.

II. PHẠM VI ÁP DỤNG

Áp dụng tại Phòng xét nghiệm Vi sinh – Trung Tâm Y Tế Hoàng Mai

III. TRÁCH NHIỆM

- Người thực hiện: Cán bộ xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

- Người nhận định và phê duyệt kết quả: Cán bộ xét nghiệm có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh.

- Cán bộ QLCL, tổ trưởng chuyên môn chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình

IV. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ, CHỮ VIẾT TẮT

HD:	Hướng dẫn
QLCL:	Quản lý chất lượng
QTKT:	Quy trình kỹ thuật
VK:	Vi khuẩn
VS:	Vi sinh

V. NGUYÊN LÝ

Nhận định ký sinh trùng sốt rét trong máu nhuộm Giemsa dựa trên hình thể, cấu tạo, kích thước và tính chất bắt màu.

VI. TRANG THIẾT BỊ VÀ VẬT TƯ**6.1. Trang thiết bị**

- Kính hiển vi
- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Đồng hồ bấm giờ

6.2. Dụng cụ hóa chất, vật tư tiêu hao

Tube lấy bệnh phẩm

Que cấy

Lam kính

Giemsa cốt

Dung dịch đệm

Bông

Cồn 96°(vệ sinh dụng cụ)

Panh

Khay đựng bệnh phẩm

Hộp vận chuyển bệnh phẩm

Pipet nhựa

Axit ngậm lam

Mũ

Khẩu trang

Găng tay

Găng tay xử lý dụng cụ

Quần áo bảo hộ

Dung dịch rửa tay

Khăn lau tay

Bút viết kính

Bút bi

Bật lửa

Sổ lưu kết quả xét nghiệm

Cồn sát trùng tay nhanh

Đũa thủy tinh

Giấy trả kết quả xét nghiệm

6.3. Mẫu bệnh phẩm

Máu toàn phần có chống đông

VII. NỘI DUNG

7.1. Chuẩn bị

- Bệnh phẩm: Lấy bệnh phẩm theo đúng quy định của Sổ tay lấy mẫu - Khoa Vi Sinh
- Kiểm tra thông tin bệnh nhân trên phiếu yêu cầu xét nghiệm, kiểm tra thông tin và chất lượng mẫu bệnh phẩm.
- Khởi động tủ an toàn sinh học ít nhất 15 phút trước khi thực hiện.
- Sắp xếp các dụng cụ cần thiết vào tủ an toàn sinh học
- Chọn lam kính sạch, không xước. Hơ lam kính qua ngọn lửa đèn cồn để hủy chất dầu còn dính trên lam kính, để nguội lam tự nhiên.
- Đánh dấu tiêu bản bằng cách dùng bút chì đen HB ghi mã số bệnh phẩm lên đầu mờ lam kính.

7.2. Làm tiêu bản

- Thực hiện trong tủ an toàn sinh học
- Làm tiêu tiêu bản giọt máu đặc và giọt máu đàn để khô.
- Cố định giọt máu đàn bằng cồn 96°.
- Pha dung dịch Giemsa cốt với dung dịch đệm nồng độ 10%.
- Nhuộm lam với dung dịch Giemsa đã pha để 10 phút.
- Rửa nước, để khô.
- Quan sát kính hiển vi vật kính 100X.

VIII. DIỄN GIẢI KẾT QUẢ

1. Dương tính

- Có 4 loài ký sinh trùng sốt rét gây bệnh cho người: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*.
- Các thể gặp khi xét nghiệm máu
 - + *Plasmodium falciparum*: Thể tư dưỡng, thể giao bào ở máu ngoại vi, hiếm gặp thể phân liệt.
 - + *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*: Cả 3 thể: thể tư dưỡng, thể phân liệt, thể giao bào ở máu ngoại vi.
- Đánh giá mức độ nhiễm KSTSR ở giọt máu đặc theo 4 mức độ
 - + 1 - 10 KST /100 vi trường: (+)
 - + 11 - 100 KST /100 vi trường: (++)
 - + 1 - 10 KST /1 vi trường: (+++)
 - + > 10 KST /1 vi trường: (++++)

2. Âm tính

Không tìm thấy ký sinh trùng sốt rét.

IX. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Bề mặt tiêu bản liên tục, đều đặn, không bị bong.
- Soi kính: Các vi trường liên tục không có nhiều vi trường rỗng độ sáng đều.

X. AN TOÀN

Áp dụng các biện pháp an toàn chung khi xử lý mẫu và thực hiện xét nghiệm theo quy trình về an toàn xét nghiệm mã hiệu HM-QTQL.ATXN.VS.1

XI. LƯU Ý

- Lấy máu vừa phải.

Sau khi dàn lam, phải để khô hoàn toàn mới được cố định.

- Khi cố định bằng cồn 96° phải để thật khô cồn sau đó mới được nhuộm.
- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ hoặc đưa vào trong chậu rửa.

XII. HỒ SƠ LƯU

Lưu trữ các biểu mẫu phiếu theo đúng quy định của khoa.

XIII. TÀI LIỆU LIÊN QUAN

Tên tài liệu
Sổ tay lấy mẫu bệnh phẩm Khoa Vi Sinh
Hướng dẫn sử dụng kính hiển vi
Hướng dẫn sử dụng tủ an toàn sinh học
Quy trình trả kết quả xét nghiệm Khoa Vi Sinh

XIV. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Quyết định 26/QĐ-BYT ban hành ngày 03/01/2013 về việc ban hành tài liệu “*Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Vi sinh Y học*”
- Bộ Y tế, Giáo trình thực hành Vi sinh vật, NXB Y học, 2004.