

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

GIÁO TRÌNH

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 1148 /QĐ-CDYTN ngày 18 tháng 11 năm 2020
của Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội)*

MÔ ĐUN: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CƠ BẢN
NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM Y HỌC
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG

Hà Nội, năm 2020

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

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

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

LỜI GIỚI THIỆU

Kỹ thuật xét nghiệm cơ bản là mô đun đầu tiên thuộc nhóm kiến thức chuyên ngành cho đối tượng Cao đẳng xét nghiệm. Về tính chất của mô đun: trang bị cho học sinh những kiến thức cơ bản về các kỹ thuật xét nghiệm cơ bản của các xét nghiệm làm nền tảng kiến thức và kỹ năng cho các em học tập các môn chuyên ngành sau này.

Giáo trình được biên soạn theo chương trình khung đã được phê duyệt cho sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học bao gồm 22 bài trong đó có 11 bài lý thuyết và 11 bài thực hành, mỗi bài có mục tiêu học tập và các nội dung thiết yếu. Trong đó, nội dung thể hiện được các yêu cầu: kiến thức cơ bản, chính xác khoa học, cập nhật được tiến bộ khoa học hiện tại và thực tiễn. Sách dùng để đào tạo sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học đồng thời cũng là tài liệu tham khảo tốt cho sinh viên các chuyên ngành khác quan tâm đến công tác xét nghiệm.

Các tác giả là những người có kinh nghiệm lâm sàng lâu năm cũng như kinh nghiệm giảng dạy về môn Vi sinh y học, hy vọng rằng cuốn sách sẽ cung cấp những thông tin giá trị cho sinh viên nhằm giúp sinh viên có nền tảng kiến thức, kỹ năng cần thiết cho các môn chuyên ngành.

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

Xin trân trọng cảm ơn!

....., ngày.....tháng.....năm.....

CÁC TÁC GIẢ

Tham gia biên soạn

1. Chủ biên: ThS. Hà Thị Nguyệt Minh
2. TS. Bùi Huy Tùng
3. ThS. Nguyễn Thị Hà Giang
4. ThS. Nguyễn Thị Hồng Ngọc

MỤC LỤC

MÔ ĐUN SỐ 18: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CƠ BẢN	6
PHẦN LÝ THUYẾT.....	9
BÀI 1: AN TOÀN SINH HỌC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM.....	9
BÀI 2: MỘT SỐ ĐƠN VỊ ĐO LƯỜNG TRONG HÓA SINH.....	18
BÀI 3: LẤY VÀ BẢO QUẢN BỆNH PHẨM HOÁ SINH, HUYẾT HỌC.....	21
BÀI 4: PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ.....	27
BÀI 5. ĐIỀU CHẾ MỘT SỐ DUNG DỊCH THUỐC THỬ	37
BÀI 6. KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN TRONG HUYẾT HỌC.....	42
BÀI 7: SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN KÍNH HIỂN VI QUANG HỌC.....	47
BÀI 8: SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN THIẾT BỊ MÁY MÓC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM.....	52
BÀI 9: MỘT SỐ KỸ THUẬT NHUỘM THƯỜNG DÙNG TRONG XÉT NGHIỆM.....	59
BÀI 10: TIỆT TRÙNG VÀ KHỬ TRÙNG	62
BÀI 11. NƯỚC DÙNG TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM.....	67
PHẦN THỰC HÀNH	71
BÀI 12. THỰC HÀNH AN TOÀN SINH HỌC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM.....	71
BÀI 13. THỰC HÀNH PHA MỘT SỐ HÓA CHẤT DÙNG TRONG.....	88
BÀI 14. THỰC HÀNH LẤY VÀ BẢO QUẢN BỆNH PHẨM HOÁ SINH, HUYẾT HỌC.....	95
BÀI 15. THỰC HÀNH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN DỤNG CỤ THỦY TINH	99
BÀI 16. PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ.....	102
BÀI 17. ĐIỀU CHẾ MỘT SỐ DUNG DỊCH THUỐC THỬ TRONG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC	107
BÀI 18. KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN TRONG HUYẾT HỌC.....	119
BÀI 19. THỰC HÀNH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN KÍNH HIỂN VI QUANG HỌC	124
BÀI 20. THỰC HÀNH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN THIẾT BỊ MÁY MÓC TRONG XÉT NGHIỆM.....	137
BÀI 21. MỘT SỐ KỸ THUẬT NHUỘM THƯỜNG DÙNG TRONG XÉT NGHIỆM.....	151
BÀI 22. KỸ THUẬT TIỆT TRÙNG VÀ KHỬ TRÙNG	163
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	173

MÔ ĐUN SỐ 18: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CƠ BẢN

Tên mô đun: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CƠ BẢN

Mã mô đun: XN02

Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của mô đun:

- Vị trí: Kỹ thuật xét nghiệm cơ bản là mô đun đầu tiên thuộc nhóm kiến thức chuyên ngành cho đối tượng Cao đẳng xét nghiệm.
- Tính chất: trang bị cho học sinh những kiến thức cơ bản về các kỹ thuật xét nghiệm cơ bản của các xét nghiệm làm nền tảng kiến thức và kỹ năng cho các em học tập các môn chuyên ngành sau này.

Mục tiêu của mô đun:

*** Kiến thức**

- Trình bày được quy định an toàn trong phòng xét nghiệm.
- Trình bày được cách sắp xếp, bảo quản các loại hóa chất, dụng cụ, thiết bị, máy móc để thuận lợi, an toàn cho người sử dụng.
- Giải thích được nguyên lý hoạt động và cách sử dụng các máy móc trang thiết bị trong phòng xét nghiệm.
- Trình bày được nguyên tắc và một số kỹ thuật về tiệt trùng và khử trùng.

*** Kỹ năng**

- Thực hành pha được các dung dịch, hoá chất, thuốc thử dùng trong phòng xét nghiệm.
- Thực hành bảo quản, xử lý được bệnh phẩm xét nghiệm đúng quy trình kỹ thuật.
- Thực hiện được một số kỹ thuật của xét nghiệm cơ bản.
- Vận hành được các máy móc trang thiết bị trong phòng xét nghiệm đúng quy trình kỹ thuật.

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

- Thể hiện được thái độ nghiêm túc, cẩn thận, chính xác khi làm việc trong phòng xét nghiệm.
- Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
- Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành và kết quả thực hiện của các thành viên trong nhóm
- Tuân thủ đúng các quy định về quy trình kỹ thuật của ngành kỹ thuật xét nghiệm y để đảm bảo an toàn cho người và thiết bị trong quá trình học tập.

Nội dung và phương pháp đánh giá MH/MĐ

1. Nội dung tổng quát mô đun

STT	Nội dung	Số tiết			
		Tổng	LT	TH	KT
1	An toàn sinh học trong phòng xét nghiệm	1	1		
2	Một số đơn vị đo lường trong hóa sinh	1	1		
3	Lấy và bảo quản bệnh phẩm hóa sinh, huyết học	1	1		
4	Phương pháp quang phổ	1	1		
	Kiểm tra	1			1
5	Điều chế một số dung dịch thuốc thử trong xét nghiệm huyết học	1	1		
6	Kỹ thuật làm tiêu bản trong huyết học	1	1		
7	Sử dụng và bảo quản kính hiển vi quang học	1	1		
8	Sử dụng và bảo quản thiết bị máy móc trong phòng xét nghiệm	1	1		
9	Một số kỹ thuật nhuộm thường dùng trong xét nghiệm	1	1		
10	Tiệt trùng và khử trùng	2	2		
	Kiểm tra	1			1
11	Nước dùng trong phòng xét nghiệm	2	2		
12	Thực hành an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm	5		5	
13	Thực hành pha một số hoá chất dùng trong xét nghiệm hóa sinh	5		5	
14	Thực hành lấy và bảo quản bệnh phẩm hóa sinh, huyết học	5		5	
15	Thực hành sử dụng và bảo quản dụng cụ thủy tinh	5		5	
16	Phương pháp quang phổ	5		5	
17	Điều chế một số dung dịch thuốc thử trong xét nghiệm huyết học	5		5	
18	Kỹ thuật làm tiêu bản trong huyết học	4		4	
	Kiểm tra	1			1
19	Thực hành sử dụng và bảo quản kính hiển vi quang học	5		5	
20	Thực hành sử dụng và bảo quản thiết bị máy móc trong phòng xét nghiệm	4		4	
	Kiểm tra	1			1

21	Một số kỹ thuật nhuộm thường dùng trong xét nghiệm	5		5	
22	Kỹ thuật tiệt trùng và khử trùng	10		10	
	Tổng	75	13	58	4

2. Phương pháp đánh giá

Kiến thức: Kiểm tra nội dung đã học bằng bộ công cụ lượng giá.

Kỹ năng: Kiểm tra thực hành tại phòng thực hành vi sinh – ký sinh trùng, hóa sinh - huyết học, sử dụng thang điểm.

Năng lực tự chủ, trách, kỹ năng.

Các kiến thức và kỹ năng trên sẽ được đánh giá qua các bài kiểm tra định kỳ dạng tích hợp và bài kiểm tra kết thúc. Điểm trung bình của các bài kiểm tra định kỳ và bài kiểm tra kết thúc phải đạt $\geq 4,0$ theo khung điểm 10.

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

PHẦN LÝ THUYẾT

BÀI 1: AN TOÀN SINH HỌC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU:

* Kiến thức

1. Trình bày được trách nhiệm khi làm trong phòng xét nghiệm.
2. Trình bày được một số khái niệm an toàn sinh học và quy trình xử lý một số sự cố trong phòng xét nghiệm.
3. Trình bày được quy trình xử lý một số sự cố trong phòng xét nghiệm.

* Kỹ năng

4. Xử lý được một số sự cố trong phòng xét nghiệm.

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

5. Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
6. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG:

1. Trách nhiệm của những người làm xét nghiệm:

1.1. Trách nhiệm của người phụ trách:

- Chỉ đạo, tổ chức hoạt động của khoa theo đúng nội dung quản lý hoạt động xét nghiệm.
- Phối hợp với các khoa lâm sàng và khoa khám bệnh (phòng khám) tổ chức công tác lấy và tiếp nhận mẫu bệnh phẩm, công tác thường trực xét nghiệm và phòng chống dịch liên tục 24 giờ/ngày.
- Xây dựng và định kỳ cập nhật các quy trình quản lý chất lượng xét nghiệm, quy trình kỹ thuật, hướng dẫn chuyên môn để thủ trưởng cơ sở ban hành và áp dụng tại khoa xét nghiệm.
- Sắp xếp khu vực làm việc khoa xét nghiệm liên hoàn, hợp lý, an toàn.
- Phối hợp với các khoa lâm sàng, khoa cận lâm sàng và người bệnh để tiếp nhận, xử lý các ý kiến phản hồi nhằm nâng cao chất lượng dịch vụ xét nghiệm.
- Xây dựng kế hoạch mua sắm trang thiết bị y tế, hóa chất, thuốc thử phục vụ hoạt động xét nghiệm.
- Là thành viên tham gia xây dựng kế hoạch lựa chọn nhà thầu về mua sắm, nhận trang thiết bị y tế, hóa chất, thuốc thử cho hoạt động xét nghiệm của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo lĩnh vực chuyên môn.
- Ký phiếu lĩnh hoá chất, thuốc thử, dụng cụ và nguyên vật liệu đáp ứng yêu cầu xét nghiệm.

- Đầu mối phối hợp với các khoa lâm sàng để giám sát chất lượng xét nghiệm nhanh, xét nghiệm tại chỗ.
- Tổ chức đào tạo, nghiên cứu khoa học của khoa và đánh giá năng lực nhân viên.
- Trực tiếp ký kết quả xét nghiệm hoặc phân công bác sỹ chuyên khoa xét nghiệm, kỹ thuật viên xét nghiệm có trình độ đại học trở lên ký kết quả xét nghiệm theo quy định.
- Tham gia hội chẩn, kiểm thảo tử vong khi được yêu cầu.
- Đối với trưởng khoa xét nghiệm có thực hiện xét nghiệm giải phẫu bệnh, còn phải thực hiện thêm các nhiệm vụ sau đây:
 - + Tổ chức và thực hiện các xét nghiệm giải phẫu bệnh và tế bào học;
 - + Thực hiện công tác khám nghiệm tử thi và xét nghiệm vi thể theo đúng quy định của pháp luật về giải quyết người bệnh tử vong;
 - + Bảo quản các tiêu bản giải phẫu bệnh theo đúng quy định; cung cấp tài liệu giải phẫu bệnh khi có ý kiến của thủ trưởng đơn vị;
 - + Chỉ định, phân công người phẫu thuật tử thi và đọc kết quả.

1.2. Trách nhiệm của người làm xét nghiệm:

- Lấy mẫu bệnh phẩm, thực hiện các xét nghiệm được phân công, thực hiện đúng quy trình kỹ thuật xét nghiệm.
- Pha chế các thuốc thử để xét nghiệm và thường xuyên kiểm tra các thuốc thử đúng hướng dẫn.
- Lĩnh và bảo quản các dụng cụ, hoá chất theo sự phân công.
- Chuẩn bị dụng cụ và vật tư tiêu hao phục vụ hoạt động xét nghiệm.
- Thống kê, lưu trữ kết quả xét nghiệm, đối với các xét nghiệm có kết quả bất thường hoặc nghi ngờ phải báo cáo trưởng khoa.
- Tham gia thường trực theo lịch phân công của trưởng khoa.
- Thực hiện các nhiệm vụ khác theo sự phân công của trưởng khoa và kỹ thuật viên trưởng khoa

2. An toàn sinh học:

2.1. Một số khái niệm về an toàn sinh học:

- An toàn sinh học trong phòng xét nghiệm là trạng thái an toàn cho con người và môi trường khi làm việc với vi sinh vật có nguy cơ gây bệnh truyền nhiễm cho người và các mẫu bệnh phẩm có khả năng chứa vi sinh vật có nguy cơ gây bệnh truyền nhiễm cho người tại phòng xét nghiệm.
- Khử nhiễm là quá trình làm sạch, khử trùng hoặc tiệt trùng để loại bỏ, tiêu diệt vi sinh vật; loại bỏ hay trung hòa những hóa chất nguy hiểm và chất phóng xạ.

- Làm sạch là quá trình loại bỏ bụi, chất hữu cơ trong phòng xét nghiệm bằng cách quét, hút, lau khô bụi, rửa, lau chùi bằng nước, chất tẩy rửa và một số hóa chất làm sạch.

- Khử trùng là quá trình sử dụng biện pháp vật lý hoặc hoá học để loại trừ hầu hết vi sinh vật nhưng chưa diệt được các loại bào tử.

- Tiệt trùng là quá trình tiêu diệt tất cả các loại vi sinh vật bao gồm cả bào tử.

2.2. Quy định về xây dựng phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp 1,2

- Tiêu chuẩn: Là danh sách các quy trình và tiêu chuẩn thực hành phòng thí nghiệm cần thiết nhất trong kỹ thuật vi sinh vật an toàn cơ bản.

- Mô hình phòng an toàn sinh học:

+ Bố trí không gian đủ rộng để thực hiện an toàn các công việc của phòng xét nghiệm và để vệ sinh và bảo dưỡng.

+ Đặt bồn rửa có chế độ rửa tay ở mỗi phòng xét nghiệm, tốt nhất là gần cửa ra vào.

+ Phòng xét nghiệm phải là khu vực hạn chế ra vào. Cửa ra vào phòng xét nghiệm phải có các ô quan sát được (để tránh tai nạn khi mở), chống cháy và tốt nhất là có thể tự đóng.

+ Cửa ra vào phải được dán nhãn thích hợp với biểu tượng cảnh báo nguy hiểm sinh học theo quốc tế nếu có xử lý hoặc bảo quản vật liệu nguy hiểm sinh học.

+ Tường, sàn và đồ đạc trong phòng xét nghiệm phải nhẵn, dễ lau chùi, không thấm chất lỏng và chịu được các hóa chất và chất khử trùng thường dùng trong phòng xét nghiệm.

+ Mặt bàn xét nghiệm phải không thấm nước và chịu được chất khử trùng, axit, kiềm, dung môi hữu cơ và nhiệt độ vừa phải.

+ Đồ đạc trong phòng xét nghiệm phải phù hợp với mục đích sử dụng. Phải có khoảng trống ở giữa và bên dưới các bàn, tủ và thiết bị để có thể dễ dàng vệ sinh.

+ Ánh sáng (độ rọi) của phòng xét nghiệm phải đủ cho mọi hoạt động. Ánh sáng ban ngày cần được tận dụng hiệu quả để tiết kiệm năng lượng. Tránh sự phản chiếu ánh sáng và gây chói cho người làm. Ánh sáng khẩn cấp phải đủ để dừng công việc cũng như rời khỏi phòng xét nghiệm một cách an toàn.

+ Nếu lắp đặt hệ thống thông gió (gồm hệ thống sưởi/làm mát, đặc biệt là quạt/hệ thống điều hòa không khí làm mát cục bộ - nhất là khi được lắp thêm) phải đảm bảo dòng khí không ảnh hưởng đến an toàn của công việc. Cần cân nhắc tốc độ và hướng gió tổng hợp, tránh gây ra dòng khí hỗn loạn; cân nhắc tương tự với thông gió tự nhiên.

+ Khu vực kho của phòng xét nghiệm phải đủ rộng để chứa vật tư tiêu hao dùng ngay khi cần, tránh để bừa bãi trên bàn xét nghiệm và lối đi. Xem xét bố trí thêm kho chứa dài hạn, tiện nhất là đặt bên ngoài phòng/không gian phòng xét nghiệm.

+ Cần có khu vực và thiết bị để xử lý và bảo quản an toàn các hóa chất, dung môi, vật liệu phóng xạ, khí nén và khí hóa lỏng nếu có.

+ Khu vực để đồ ăn, uống, đồ cá nhân, áo choàng và quần áo thông thường phải ở bên ngoài phòng xét nghiệm.

+ Cần có khu vực ăn uống ở bên ngoài phòng xét nghiệm.

+ Các phương tiện sơ cứu phải luôn sẵn sàng và được trang bị/bảo quản phù hợp.

+ Phải có sẵn các biện pháp khử nhiễm chất thải phù hợp ở gần phòng xét nghiệm, ví dụ: chất khử trùng và nồi hấp tiệt trùng.

+ Phải tính đến việc quản lý chất thải trong thiết kế. Dựa vào đánh giá nguy cơ, các hệ thống an toàn phải bao gồm các trang thiết bị ứng phó cho tình huống khẩn cấp/sự cố về cháy nổ, điện.

+ Cần phải có hệ thống cung cấp điện và ánh sáng đủ và tin cậy, cho phép thoát hiểm an toàn.

+ Phải tính đến các tình huống khẩn cấp trong thiết kế như đã chỉ ra trong đánh giá nguy cơ của địa phương và phải tính đến yếu tố địa lý/khí hậu

+ Phải tính đến an toàn cháy nổ và nguy cơ lụt lội

- Các trang bị bảo hộ:

+ Áo choàng phòng xét nghiệm.

+ Giày bảo hộ.

+ Găng tay.

+ Trang bị bảo vệ mắt.

+ Trang bị bảo vệ hô hấp.

- Quản lý an toàn sinh học:

• Trách nhiệm của trưởng phòng thí nghiệm (người có trách nhiệm trực tiếp về phòng thí nghiệm) là bảo đảm xây dựng và thông qua kế hoạch quản lý an toàn sinh học và tài liệu về làm việc hoặc về an toàn

• Giám sát viên phòng thí nghiệm (báo cáo cho phụ trách phòng thí nghiệm) phải bảo đảm việc tập huấn thường xuyên về an toàn phòng thí nghiệm.

• Nhân viên cần phải hiểu rõ về những nguy hiểm đặc biệt và phải đọc các tài liệu về làm việc hoặc về an toàn hoặc tuân thủ theo các thao tác và quy trình chuẩn. Giám sát viên phòng thí nghiệm phải bảo đảm tất cả nhân viên nắm được

quy định này. Trong phòng thí nghiệm luôn sẵn có các tài liệu về quy trình làm việc và kỹ thuật an toàn.

- Cần phải có chương trình kiểm soát các loài gặm nhấm và côn trùng.
- Cần phải khám sức khoẻ, giám sát và điều trị cho tất cả nhân viên trong trường hợp cần thiết. Cần lưu giữ lại sổ khám sức khoẻ và bệnh án.

- Trang thiết bị phòng an toàn sinh học:

+ Pipet.

+ Máy ly tâm.

+ Tủ lạnh và tủ âm.

- Đào tạo nhân viên.

Bảng 3.1 Đào tạo cần triển khai cho nhân viên phòng xét nghiệm

ĐÀO TẠO	NỘI DUNG CẦN ĐÀO TẠO
Đào tạo để làm quen và nhận thức	<p>Bắt buộc đối với TẤT CẢ nhân viên, giới thiệu về:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sơ đồ mặt bằng, đặc điểm và thiết bị phòng xét nghiệm ▪ Quy tắc thực hành trong phòng xét nghiệm ▪ Hướng dẫn áp dụng cho địa phương ▪ Hướng dẫn sử dụng hoặc số tay an toàn ▪ Chính sách của cơ sở ▪ Đánh giá nguy cơ cục bộ và tổng thể ▪ Nghĩa vụ pháp lý ▪ Quy trình ứng phó tình huống khẩn cấp/sự cố
Đào tạo đặc thù cho từng công việc	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Đào tạo dựa trên chức năng của công việc; các yêu cầu đào tạo có thể khác nhau giữa các nhân sự có cùng vị trí công việc nhưng thực hiện các chức năng khác nhau ▪ Tất cả nhân viên liên quan đến việc xử lý các tác nhân sinh học phải được đào tạo về GMPP ▪ Đánh giá năng lực và mức độ thành thạo để xác định các nội dung cụ thể khác cần đào tạo ví dụ thông qua quan sát và/hoặc thẩm định ▪ Xác nhận sự thành thạo của nhân viên trong mọi kỹ thuật trước khi nhân viên được làm việc độc lập, việc này có thể đòi hỏi phải kèm cặp hướng dẫn trong một khoảng thời gian ▪ Định kỳ xem xét lại năng lực và đào tạo nhắc lại ▪ Phổ biến cho nhân viên mỗi khi có quy trình, thiết bị, công nghệ và kiến thức mới
Đào tạo an toàn và an ninh	<p>Bắt buộc đối với TẤT CẢ nhân viên:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nhận thức được các mối nguy hiểm ở phòng xét nghiệm và các nguy cơ đi kèm ▪ Quy trình làm việc an toàn ▪ Các biện pháp an ninh ▪ Chuẩn bị và ứng phó với tình huống khẩn cấp

GMPP = Quy trình và thực hành vi sinh tốt.

- Xử lý chất thải

Bảng 3.2 Các loại chất thải cần tách biệt của phòng xét nghiệm và khuyến nghị về cách xử lý

DANH MỤC CHẤT THẢI PHÒNG XÉT NGHIỆM	CÁCH XỬ LÝ
Vật liệu không lây nhiễm	Có thể tái sử dụng hoặc tái chế hoặc xử lý như chất thải sinh hoạt thông thường
Vật liệu sắc nhọn lây nhiễm (kim tiêm, dao mổ, dao và thủy tinh vỡ)	Phải thu gom vào hộp chứa chống thủng có nắp đậy và xử lý như chất lây nhiễm
Vật liệu lây nhiễm để tái sử dụng hoặc tái chế	Đầu tiên phải khử nhiễm (bằng hóa chất hoặc vật lý) rồi mới rửa sạch; sau đó có thể xử lý như vật liệu không lây nhiễm
Vật liệu lây nhiễm để thải bỏ	Phải khử nhiễm tại chỗ HOẶC bảo quản an toàn trước khi vận chuyển đến địa điểm khác để khử nhiễm và thải bỏ
Vật liệu lây nhiễm để đốt	Phải đốt tại chỗ HOẶC bảo quản an toàn trước khi vận chuyển đến địa điểm khác để đốt
Chất thải lỏng (gồm cả chất lỏng có thể bị lây nhiễm) để thải vào hệ thống cống chung	Phải khử nhiễm trước khi thải vào hệ thống cống chung

- Khử nhiễm:

+ Khử trùng bằng hóa chất: là một phương pháp khử nhiễm sử dụng một loại hóa chất, hoặc hỗn hợp hóa chất lên bề mặt đồ vật hoặc vật liệu để bất hoạt hoặc làm giảm số lượng tác nhân sinh học xuống mức an toàn.

+ Hấp diệt trùng: Hấp diệt trùng, khi sử dụng đúng cách, sẽ là phương pháp hiệu quả và đáng tin cậy nhất để diệt trùng vật liệu của phòng xét nghiệm và khử nhiễm chất thải bằng cách phá hủy hoặc làm bất hoạt các tác nhân sinh học. Quá trình hấp diệt trùng sử dụng nhiệt độ cao (ví dụ: 121 oC, 134 oC), sử dụng nhiệt ẩm (hơi nước) với áp suất để tiêu diệt vi sinh vật.

+ Đốt tiêu hủy: là phương pháp bất hoạt thường được dùng nhất, đồng thời cũng là một cách để thải bỏ, bao gồm cả xác động vật. Đốt tiêu hủy chỉ được sử dụng khi được các cơ quan quản lý về y tế công cộng và ô nhiễm không khí địa phương chấp thuận. Lò đốt rác phải thích hợp với vật liệu được đốt; ví dụ: loại thường dùng để đốt giấy thì không phù hợp cho việc đốt chất thải phòng xét nghiệm. Phải đốt cháy hoàn toàn, tức là rác chuyển hết thành tro. Điều này vô cùng quan trọng khi đốt rác trong hố đào, ví dụ trong tình huống khẩn cấp để tránh khả năng lây nhiễm. Nếu đốt không hết hoàn toàn, rác phân hủy sẽ bốc mùi và thu hút các ký sinh trùng, do đó sẽ làm hỏng mục đích của việc đốt tiêu hủy.

- Quy trình thao tác và thải bỏ các vật liệu và chất thải ô nhiễm: Cần có một hệ thống chuyên biệt dùng cho vật liệu nhiễm trùng và các dụng cụ chứa.

- Chất thải không nhiễm trùng có thể sử dụng lại hoặc tái sinh hoặc thải bỏ như các chất thải “sinh hoạt hàng ngày” thông thường

- Vật “sắc nhọn” ô nhiễm (nhiễm trùng) như kim tiêm dưới da, dao mổ, dao và mảnh thủy tinh vỡ phải thu nhặt lại trong hộp chứa chống chọc thủng có nắp đậy và xử lý như vật dụng nhiễm trùng

- Khử nhiễm các vật liệu ô nhiễm bằng hấp tiệt trùng và sau đó rửa sạch để tái sử dụng hoặc tái sinh

- Khử nhiễm các vật liệu ô nhiễm bằng hấp tiệt trùng và thải bỏ

- Trực tiếp tiêu huỷ các vật liệu ô nhiễm

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

- Duy trì các tiêu chuẩn cao về công tác an toàn trong những lĩnh vực này ở bất kỳ phòng thí nghiệm vi sinh vật nào là điều rất cần thiết

3. Xử lý một số sự cố trong phòng xét nghiệm

3.1. Xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm trong tủ an toàn sinh học

- Trong các PXN nên chuẩn bị trước hộp dụng cụ xử lý đổ mẫu bệnh phẩm (spill kit), bao gồm: dung dịch khử nhiễm, khăn/giấy thấm, panh, kẹp, chổi, hốt rác. Các dụng cụ này phải làm bằng các vật liệu không bị ăn mòn bởi các hóa chất trong PXN.

- Trường hợp dung dịch chứa bệnh phẩm hay vật liệu nhiễm trùng bị phát tán trong tủ ATSH, CBXN sẽ sử dụng hộp dụng cụ xử lý mẫu bị đổ để tiến hành các bước sau:

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

- + Thay găng tay và đi lấy bộ xử lý sự cố đổ mẫu.

- + Dùng khăn/giấy thấm phủ lên mẫu bị đổ, đổ chất khử nhiễm, để khoảng 30 phút cho chất khử nhiễm phát huy tác dụng diệt khuẩn tối đa.

- + Thay găng mới.

- + Lấy vật sắc nhọn (nếu có) bằng kẹp bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn.

- + Xử lý khăn/giấy thấm và vật sắc nhọn theo hướng dẫn xử lý rác thải lây nhiễm.

- + Lau bề mặt làm việc của tủ ATSH, thay găng tay.

- + Ghi chép, báo cáo sự việc với người phụ trách quản lý PXN.

- + Có thể bắt đầu làm việc trở lại sau 10 phút hoặc theo hướng dẫn của người phụ trách PXN.

3.2. Xử lý tràn đổ bệnh phẩm ra ngoài tủ an toàn sinh học

- Khi sự việc đánh đổ mẫu bệnh phẩm xảy ra bên ngoài tủ ATSH (trên sàn nhà, mặt bàn xét nghiệm), CBXN sử dụng hộp dụng cụ xử lý đổ mẫu bệnh phẩm (spill kit) được chuẩn bị sẵn trong PXN và tiến hành tuân tự các bước sau:

- + Ngay lập tức cảnh báo cho đồng nghiệp cùng làm việc trong PXN.
- + Thay găng tay và bao giày. Đi lấy bộ xử lý sự cố đổ mẫu bệnh phẩm.
- + Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh.
- + Dùng kẹp gấp dụng cụ đựng mẫu cho vào túi rác thải lây nhiễm.
- + Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong.
- + Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên.
- + Đợi trong khoảng thời gian thích hợp (30 phút để dung dịch diệt khuẩn tiếp xúc hoàn toàn với mẫu bệnh phẩm).
- + Thay găng tay.
- + Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm.
- + Lau sạch khu vực bị đổ vỡ.
- + Thay găng tay.
- + Ghi chép, báo cáo sự việc với cán bộ phụ trách PXN

3.3. Xử lý sự cố bị vật sắc nhọn đâm

- Nếu bị kim đâm hay vật sắc nhọn đâm vào tay/chân trong khi đang tiến hành xét nghiệm với TNGB tại PXN, CBXN phải tiến hành các bước sau:

- + Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó (nếu có).
- + Bộc lộ vết thương.
- + Nặn máu.
- + Xả nước tối thiểu trong vòng 15 phút (trong khi vẫn nặn máu).
- + Sử dụng băng gạc để che vết thương.
- + Rời khỏi PXN như thường lệ.
- + Ghi chép và báo cáo sự việc với người chịu trách nhiệm quản lý PXN.
- + Trường hợp bị mảnh vỡ bắn vào mắt: băng ngay với gạc sạch để tránh con mắt di động nhiều sẽ làm mảnh vỡ dễ vào sâu trong mắt, đưa đi bệnh viện ngay.

3.4. Xử lý sự cố khi hóa chất bị đổ trong phòng xét nghiệm

- Trường hợp axit đặc bị đổ ra ngoài:
 - + Bộ dụng cụ xử lý khi hóa chất bị đổ.
 - + Mang găng tay cao su dày, ủng cao su, mặt nạ phòng hơi độc, kính bảo vệ mắt, khẩu trang.
 - + Tạo đường thoát khí ra ngoài nếu có thể.
 - + Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh.

- + Bột Na_2CO_3 hoặc NaHCO_3 để trung hòa axit và các hóa chất ăn mòn.
- + Cát (để rắc lên kiềm bị đổ).
- + Dùng kẹp để nhặt thủy tinh vỡ.
- + Lau sạch khu vực bị đổ
- + Ghi chép, báo cáo sự việc với cán bộ phụ trách PXN

3.5. Xử lý sự cố khi xảy ra cháy nổ

- + Nếu chất đổ ra là chất dễ cháy thì dùng bình chữa cháy thích hợp để dập lửa.
- + Khóa bình gas trong phòng và khu vực lân cận,
- + Mở cửa sổ (nếu có thể) và tắt các thiết bị có thể phát ra tia lửa điện.
- + Bật chuông báo động
- + Gọi 114
- + Thông báo cho người phụ trách PXN hoặc người phụ trách về ATSH của cơ quan.

3.6. Xử lý sự cố khi làm việc với hóa chất

- Trường hợp bị đổ ra tay chân: dội ngay với rất nhiều nước lạnh, rồi bôi lên chỗ bỏng dung dịch natri bicacbonat 1% trong trường hợp bị bỏng axit, và dung dịch axit acetic 1% nếu bị bỏng bazơ.

- Trường hợp bị bắn vào mắt: dội mạnh với rất nhiều nước lạnh hoặc dung dịch NaCl 1% (người bị tai nạn để nằm thẳng trên bàn), đậy bằng bông sạch và đưa ngay đến bệnh viện.

- Trường hợp bị uống vào miệng hoặc dạ dày:

- + Nếu là axit: súc miệng và uống nước thật lạnh có magiê oxit
- + Nếu là bazơ: súc miệng và uống nước thật lạnh có 1% axit acetic
- + Trong cả hai trường hợp đều không được cho uống chất làm nôn

- Trường hợp bị ngộ độc: làm nôn thật mạnh, thật nhanh, hoặc cho uống nhiều sữa, lòng trắng trứng (trường hợp kim loại nặng).

- Thông báo cho người phụ trách PXN hoặc người phụ trách về ATSH của cơ quan.

Lượng giá

1. Trình bày trách nhiệm khi làm trong phòng xét nghiệm?
2. Trình bày một số khái niệm an toàn sinh học và quy trình xử lý một số sự cố trong phòng xét nghiệm?
3. Trình bày quy trình xử lý một số sự cố trong phòng xét nghiệm?

BÀI 2: MỘT SỐ ĐƠN VỊ ĐO LƯỜNG TRONG HÓA SINH

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Đọc đúng tên các loại đơn vị quốc tế sử dụng trong hoá sinh
2. Trình bày được các đơn vị thường dùng trong hóa sinh
3. Thực hiện được cách đổi qua lại giữa các loại đơn vị thường dùng và đơn vị

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

4. Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG

1. Các đơn vị thường dùng

1.1. Đơn vị khối lượng-Kilogram (Kg) các các bội số

- Kilogram (Kg)
- Gam (g) = 0,001 kg = 10^{-3} kg
- Miligram (mg) = 0,001 g = 10^{-3} g
- Microgam (μ g) = 0,000 001g = 10^{-6} g
- Nanogam (ng) = 0,000 000 001g = 10^{-9} g
- Picrogam (pg) = 0,000 000 000 001g = 10^{-12} g

1.2. Đơn vị lượng chất - mol và các bội số

- Milimol (mmol) = 0,001 mol = 10^{-3} mol
- Micromol (umol) = 0,000 001 mol = 10^{-6} mol
- Nanomol (nmol) = 0,000 000 001mol = 10^{-9} mol
- Picromol (pmol) = 0,000 000 000 001mol = 10^{-12} mol

1.3. Đơn vị thể tích

- Lit (L) = 0,001 m³ = 1dm³
- Decilit (dL) = 0,1L
- Mililit (mL) = 0,001L = 10^{-3} L
- Microlit (μ L) = 0,000 001⁻⁶ L

1.4. Đơn vị thời gian

- Giây(s)
- Phút (min) = 60 giây
- Giờ (h) = 60 phút=3600 giây

1.5. Đơn vị nồng độ

* Nồng độ lượng chất

- Mol/lít (mol/L)
- Milimol/lít (mmol/L)
- Micromol/lít ($\mu\text{mol/L}$)
- Nanomol/lít (nmol/L)
- Picromol/lít (pmol/L)

* Nồng độ khối lượng

- Gam / lít (g/L)
- Miligam / lít (mg/L)
- Microgam / lít ($\mu\text{g/L}$)
- Nanogam / lít (ng/L)
- Picrogam / lít (pg/L)

* Nồng độ đương lượng

- Equivalan (Eq) = Mol \times hoá trị
- Mili Equivalan (mEq) = mmol \times hoá trị

1.6. Đơn vị hoạt độ của enzym

* Đơn vị cũ - U

Một đơn vị hoạt độ của enzym (U) là lượng enzym xúc tác sự biến đổi micromol cơ chất trong một phút ở những điều kiện xét nghiệm nhất định.

$$1\text{U} = 1\mu\text{mol/phút.}$$

* Đơn vị mới - Katal (Kat)

- Một đơn vị hoạt độ của enzym (Kat) là lượng enzym xúc tác sự biến đổi một m cơ chất trong một giây và trong điều kiện xét nghiệm nhất định.

- + 1 Kat = 1mol/giây
- + 1 mKat = 1mmol/giây = 10^{-3} Kat
- + 1 uKat = 1 μmol /giây = 10^{-6} Kat
- + 1 nKat = 1nmol/giây = 10^{-9} Kat

2. Chuyển giữa các đơn vị cũ sang mới

2.1. Chuyển đổi từ đơn vị nồng độ lượng chất sang nồng độ khối lượng và ngược lại

$$\text{g/L} \times \frac{1}{\text{TLPT}} = \text{mol/L hoặc g/L} = \text{mol/L} \times \text{TLPT}$$

$$\text{mg/L} \times \frac{1}{\text{TLPT}} = \text{mmol/L hoặc mg/L} = \text{mmol/L} \times \text{TLPT}$$

2.2. Chuyển đổi từ đơn vị nồng độ lượng chất sang nồng độ đương lượng và ngược lại

$$1\text{mmol/L} \times \text{hóa trị} = 1\text{mEq/L}$$

$$1\text{mEq/L} \times \text{hóa trị} = 1\text{mmol/L}$$

2.3. Chuyển đơn vị hoạt độ enzyme từ U/l sang Kat/L

$$\text{U/L} \times 16,67 = \text{nKat/L}$$

$$\text{nKat/L} \times 0,06 = \text{U/L}$$

3. Lý do sử dụng đơn vị SI

- Về pháp lý: Cần thống nhất các loại đơn vị trên toàn thế giới.
- Về khoa học: Biểu thị theo đơn vị mới giúp ta hiểu rõ hơn mối liên quan sinh lý giữa các chất.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đơn vị khối lượng, lượng chất và thể tích?
2. Trình bày đơn vị thời gian, nồng độ và hoạt độ enzym?

BÀI 3: LẤY VÀ BẢO QUẢN BỆNH PHẨM HOÁ SINH, HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên tắc của kỹ thuật lấy bệnh phẩm máu, nước tiểu một lần và nước tiểu 24 giờ
2. Mô tả được quy trình lấy lấy máu tĩnh mạch và mao mạch, quy trình xét nghiệm nước tiểu một lần, quy trình xét nghiệm nước tiểu 24 giờ, quy trình lấy dịch cơ thể và cách bảo quản
3. Liệt kê được tiêu chuẩn của mẫu và tiêu chuẩn từ chối mẫu bệnh phẩm

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

4. Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

1.1. Nguyên tắc lấy mẫu bệnh phẩm máu

- Đối chiếu bệnh nhân (mẫu máu): Lượng mẫu đủ, đúng chỉ định chuyên môn, phiếu xét nghiệm đủ thông tin.

- Bảo đảm an toàn khi thực hiện kỹ thuật.

1.2. Nguyên tắc lấy bệnh phẩm nước tiểu một lần

Mẫu nước tiểu một lần (ngẫu nhiên) được coi là bệnh phẩm phổ biến trong phòng xét nghiệm vì tính thuận tiện, đơn giản, thường được sử dụng trong các xét nghiệm định tính, bán định lượng các thành phần trong nước tiểu.

1.3. Nguyên tắc lấy bệnh phẩm nước tiểu 24 giờ

Nước tiểu 24 giờ là toàn bộ số lượng nước tiểu trong một ngày đêm (đủ 24 giờ). Một số xét nghiệm định lượng, nhất là đối với bệnh nhân đang được theo dõi, điều trị tiến hành lấy nước tiểu 24 giờ. Ví dụ: ure, creatinin, protein, catecholamin.

2. Quy trình

2.1. Quy trình lấy máu tĩnh mạch và mao mạch

*** Lấy máu tĩnh mạch**

- Hướng dẫn bệnh nhân ngồi hoặc nằm thoải mái trên giường, nếu là trẻ nhỏ phải có người giữ để trẻ khỏi giãy giụa. Trấn an bệnh nhân, luôn để tay bệnh nhân ở vị trí thoải mái.

- Lựa chọn ống nghiệm theo chỉ định.

- Dán mã vạch vào phiếu chỉ định và các ống nghiệm tương ứng. Cách dán mã vạch lên ống nghiệm: Dán mã vạch từ trên xuống cách đáy ống nghiệm từ 1s-1,5 cm, dán mã thẳng, không di lệch, không làm nhãn mã vạch, dán 1/3 nhãn ống và 2/3 thân ống.

- Ghi tên, tuổi, mã số bệnh nhân, khoa phòng của người bệnh vào ống nghiệm.

- Sát khuẩn tay nhanh.

- Mang găng sạch, luôn dùng găng sạch cho mỗi bệnh nhân và mỗi quy trình mới. - Chọn vị trí lấy máu thích hợp. Nếu không quan sát thấy tĩnh mạch có thể dùng đầu ngón trỏ để nắn tĩnh mạch, ước lượng kích thước và độ sâu của tĩnh mạch.

- Sát khuẩn vị trí lấy máu bằng bông cồn 70% hai lần, từ trong ra ngoài theo hình tròn ốc đường kính 10 mm, để da khô tự nhiên, không sờ vào vị trí lấy máu sau khi sát khuẩn.

- Buộc dây ga rô trên chỗ lấy máu 5 - 10 cm. Lưu ý: chỉ garo khi cần thiết, không nên garo quá lâu.

- Kiểm tra bơm kim tiêm: Xé vỏ bơm kim tiêm, kéo pít tông kiểm tra độ trơn của bơm tiêm.

- Đâm kim: Một tay căng da, một tay từ từ đưa kim nghiêng 15° - 30° qua da vào tĩnh mạch, kéo nhẹ bơm tiêm nếu thấy máu ở đốc kim chứng tỏ kim đã vào tĩnh mạch. Hạ thấp kim, luôn kim song song với mặt da đến 1/2 chiều dài kim.

- Tháo dây garo, kéo nhẹ pít tông lấy đủ lượng máu cần thiết, tránh tạo bọt khí. Rút kim nhanh, một tay căng da, đặt bông khô lên vị trí lấy máu, băng urgo cầm máu cho bệnh nhân.

- Tháo kim khỏi bơm tiêm cho vào hộp đựng rác thải sắc nhọn. Bơm máu vào với thành ống nghiệm một góc 45° . Bơm máu từ từ dọc theo thành ống nghiệm tránh vỡ hồng cầu (nếu lấy máu có chất chống đông thì lắc nhẹ nhàng trong 30 giây).

- Để tránh nhiễm chéo giữa những chất chống đông trong các ống và để giữ vô trùng, khi lấy máu khuyến cáo bơm máu vào các ống theo thứ tự

- Xếp ống nghiệm đựng máu vào giá ống nghiệm theo đúng số thứ tự.

- Ghi đầy đủ thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm: thời gian lấy máu, thể tích lấy, loại xét nghiệm, người lấy.

- Thu dọn dụng cụ và phân loại rác thải theo quy định.

- Gửi bệnh phẩm và giấy chỉ định xét nghiệm đến phòng xét nghiệm.

* *Lấy máu mao mạch*

- Thường lấy ở đầu ngón tay áp út hoặc gót chân, thể tích lấy $\leq 0,5$ mL máu. Đầu ngón tay áp út (ít vận động) được dùng trong chỉ định khí máu, test nhanh tại chỗ. Gót chân dùng trong sàng lọc sơ sinh xác định một số rối loạn bẩm sinh: thiếu năng tuyến giáp, thiếu hụt men G6PD...

- Làm ấm vị trí lấy máu để mao mạch hóa động mạch.

- Dùng bông thấm cồn 70° sát khuẩn vị trí lấy máu.

- Nắm nhẹ nhàng và căng vừa phải đầu ngón tay. Cầm kim chích đâm nhanh vào cạnh đầu ngón tay sâu 2 mm. Vùng này ít gây sự đau đớn đối với bệnh nhân hơn ở vùng đỉnh và bề mặt đầu ngón tay vì ít có các dây thần kinh cảm giác.

- Lấy máu từ giọt thứ 2 trở đi, làm đầy ống mao quản để tránh bọt khí và mẫu máu bị đông. Không nên nắm bóp vì sẽ lẫn nhiều dịch tổ chức vào mẫu máu, vuốt nhẹ nhàng các đầu ngón tay cách xa vị trí lấy máu.

- Nhanh chóng nút kín các đầu ống mao quản khi lấy đủ lượng máu cần thiết.

- Đặt ống mao quản vào dụng cụ chứa mẫu thích hợp. Ghi nhãn với tối thiểu 2 thông tin bệnh nhân: họ tên, mã số bệnh nhân.

- Ghi đầy đủ thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm: thời gian lấy máu, thể tích lấy, loại xét nghiệm, người lấy.

- Gửi bệnh phẩm và giấy xét nghiệm đến phòng xét nghiệm trong vòng 15 phút sau lấy máu. Nếu trì hoãn, phải đặt trong hộp bảo quản lạnh 2 - 8°C và vận chuyển trong vòng 1 giờ sau lấy mẫu.

** Tách các thành phần của máu*

Để tách huyết thanh, máu sau khi lấy vào ống không chứa chất chống đông cần để nhiệt độ phòng trong cho quá trình đông máu xảy ra; đem ly tâm 3000 - 3500 vòng/phút, trong 5 phút, sau đó ly tâm tiếp để nhanh chóng tách được huyết thanh ra khỏi cục máu đông. Nếu cần thiết, sử dụng pipet bán tự động tách phần dịch nổi ở trên cho vào ống nghiệm.

Máu sau khi lấy vào ống có chất chống đông mang ly tâm ngay 3000 - 3500 vòng/phút, trong 5 phút, chất dịch trong ở trên thu được huyết tương. Huyết tương là bệnh phẩm phổ biến trong phòng xét nghiệm hơn so với huyết thanh. Tùy từng loại xét nghiệm có thể dùng các chất chống đông khác nhau

** Bảo quản bệnh phẩm*

Máu lấy xong nên ly tâm ngay để tách riêng các thành phần hữu hình. Không để máu toàn phần quá 4 giờ. Huyết thanh, huyết tương sau khi tách được, cần làm xét nghiệm ngay, nếu chưa thực hiện xét nghiệm bảo quản ở nhiệt độ phòng/4 giờ, 4°C/24 giờ hoặc -24°C/trên 24 giờ.

Các bệnh phẩm khi lấy từ tủ đông lạnh ra phải để cho tan đông từ từ và lắc đều nhẹ nhàng trước khi làm xét nghiệm.

Huyết thanh để 4 - 8°C/5 ngày hoạt lực enzym giảm ~ 10%. Riêng LDH hoạt lực giảm nhanh. Xét nghiệm bilirubin nên làm trên huyết thanh tươi, nếu chưa làm được ngay thì phải cất huyết thanh vào tủ lạnh, để tối, tránh ánh sáng. Một số xét nghiệm đặc biệt, các xét nghiệm hormon cần xem các tài liệu hướng dẫn bảo quản riêng.

2.2. Quy trình xét nghiệm nước tiểu một lần

Nước tiểu ngẫu nhiên là mẫu nước tiểu được lấy vào bất kỳ thời điểm nào trong ngày, tuy nhiên tốt nhất là lấy vào buổi sáng sớm khi mới ngủ dậy. Mẫu nước tiểu này được tích tụ lâu trong bàng quang qua đêm nên không phụ thuộc vào chế độ ăn uống và sự hoạt động của cơ thể lúc ban ngày. Hơn nữa nước tiểu được cô đặc sau một đêm ngủ, các thành phần bất thường bệnh lý, hoặc vi khuẩn niệu sẽ có tỷ lệ cao nên dễ phát hiện.

- Chỉ định: Tổng phân tích nước tiểu, định tính protein niệu, vi khuẩn niệu và các thành phần hữu hình trong nước tiểu.

Cách tiến hành: Sáng sớm, bệnh nhân vệ sinh bộ phận sinh dục-tiết niệu trước khi lấy nước tiểu. Đi tiểu bỏ phần đầu dòng, hứng nước tiểu giữa dòng vào 1 hoặc 2 ống nghiệm (theo yêu cầu) mỗi ống từ 5 - 10 mL gửi đến phòng xét nghiệm, không lấy nước tiểu cuối dòng.

- Dụng cụ đựng nước tiểu phải sạch để không bị lẫn tạp chất và vi khuẩn lên men thôi.

- Các mẫu nước tiểu lấy xong nên làm xét nghiệm ngay trong 30 phút kể từ khi lấy mẫu. Nếu chưa có điều kiện làm ngay thì nên đậy kín, để nơi thoáng mát.

2.3. Quy trình xét nghiệm nước tiểu 24 giờ

Cách lấy nước tiểu 24 giờ:

- Chuẩn bị bình đựng nước tiểu sạch, tráng 5 mL dung dịch HCl đậm đặc để sát khuẩn (hoặc sử dụng một số chất bảo quản khác ví dụ acid boric...).

- Vệ sinh sạch bộ phận sinh dục-tiết niệu sạch sẽ.

- Ấn định vào một giờ nhất định: Ví dụ 7 giờ sáng bệnh nhân đi tiểu, bỏ bã nước tiểu đầu, và bắt đầu ghi thời gian. Thu thập tất cả các bã nước tiểu sau đó kể cả phần nước tiểu khi đi đại tiện (lưu ý dặn bệnh nhân nếu có cảm giác muốn đi đại tiện, cần lấy mẫu nước tiểu trước đó), 7 giờ sáng hôm sau đi tiểu lần cuối cùng vào bình sạch.

- Mẫu nước tiểu được bảo quản lạnh hoặc thùng đá lạnh và được đậy chặt tránh bay hơi hoặc bội nhiễm.

- Đo thể tích mẫu nước tiểu (mL) tương ứng với thể tích nước tiểu 24h, ghi vào giấy xét nghiệm.

- Lấy một lượng nước tiểu đủ theo yêu cầu của khoa xét nghiệm. Sau đó gửi mẫu bệnh phẩm có tên, tuổi đúng với phiếu xét nghiệm. Trên phiếu xét nghiệm cần ghi:

+ Họ, tên bệnh nhân, mã số bệnh nhân.

+ Khoa, phòng, giường nằm.

+ Chỉ định xét nghiệm.

*** Bảo quản mẫu nước tiểu**

Các mẫu bệnh phẩm nước tiểu sau khi được lấy, cần đưa tới phòng xét nghiệm càng sớm càng tốt. Nếu chưa phân tích ngay thì có thể giữ nước tiểu ở 2 - 8°C/3 ngày hoặc -20°C lớn hơn 3 ngày.

* *Lưu ý:* hướng dẫn bệnh nhân lấy đúng và đủ bệnh phẩm nước tiểu là vô cùng quan trọng, nhằm đảm bảo chất lượng của mẫu nước tiểu ban đầu hạn chế bị bội nhiễm hoặc biến tính do bảo quản không đúng cách đối với mẫu nước tiểu 24 giờ

2.4. Quy trình lấy dịch cơ thể và cách bảo quản

*** Dịch não tủy**

Là lớp dịch ở trong các khoang dưới màng nhện bao bọc xung quanh não tủy, ở trong ống nội tủy, não thất, bảo vệ cho trung ương thần kinh đối với các biến đổi về áp lực, sang chấn. Thường là một chất lỏng trong suốt, không màu, có nhiều thành phần giống như huyết tương.

Mỗi thương tổn dù nhỏ của não tủy đều ảnh hưởng đến tính chất của dịch não tủy. Phân tích những biến đổi đó có thể chẩn đoán được một số bệnh về thần kinh, theo dõi sự tiến triển của bệnh.

Mẫu dịch não tủy do các bác sĩ lâm sàng có kinh nghiệm lấy mẫu, dịch não tủy được hứng trực tiếp vào các ống nghiệm có nắp xoáy và đảm bảo vô trùng. Lấy tối thiểu 0,5 mL dịch não tủy trong một ống nghiệm và thu thập 3 ống nghiệm riêng biệt.

Thứ tự cho các xét nghiệm: ống thực hiện xét nghiệm hóa sinh, miễn dịch trước, ống thứ hai cho các xét nghiệm vi sinh và ống thứ ba phân tích các xét nghiệm tế bào bởi vì ít bị ảnh hưởng bởi các tế bào do thủ thuật chọc hút.

Dịch não tủy được bảo quản 4⁰ C, vận chuyển ngay đến phòng thí nghiệm càng sớm càng tốt. Nếu trong vòng 24 giờ không thể vận chuyển đến phòng thí nghiệm, phải bảo quản dịch não tủy ở nhiệt độ âm sâu, tối thiểu là -20°C, dịch não tủy dùng cho phân lập virus bảo quản tốt nhất -80°C, đá khô hoặc nitơ lỏng.

** Các dịch khác*

Bao gồm dịch màng phổi, dịch màng bụng, dịch màng tim, dịch khớp... Mẫu dịch này do bác sĩ lâm sàng chọc dò rồi cho vào 3 ống với thể tích 5ml vào ống nghiệm sạch. Sau đó mẫu được gửi ngay đến phòng xét nghiệm càng sớm càng tốt.

3. Tiêu chuẩn của mẫu

+ Tube chứa bệnh phẩm còn nguyên không bị đổ, mất nắp, nứt, bể và có ghi đúng, đủ thông tin bệnh nhân

+ Chất lượng mẫu đạt yêu cầu không bị tán huyết, mủ

+ Thể tích mẫu phải đạt từ: 2ml khi chưa ly tâm hoặc 1.5ml dịch tách chiết

+ Mẫu để đúng loại ống nghiệm

+ Mẫu đúng loại chỉ định (huyết thanh, huyết tương, máu toàn phần)

+ Đảm bảo quy định về thời gian từ lúc lấy mẫu đến lúc được xét nghiệm, thông thường là dưới 24 giờ, hoặc dưới 1 tuần nếu mẫu đã được tách huyết thanh và được bảo quản ở nhiệt độ -20°C

+ Mẫu được vận chuyển đúng qui định: có thùng an toàn đựng mẫu và có các túi gel lạnh để giữ nhiệt độ mát (-20°C) trong thùng vận chuyển.

+ Có đính kèm theo phiếu gửi mẫu đã được điền đúng và đầy đủ thông tin

4. Tiêu chuẩn từ chối mẫu

Không đạt các tiêu chuẩn nêu trên.

Lượng giá

1. Trình bày nguyên tắc của kỹ thuật lấy bệnh phẩm máu, nước tiểu một lần và nước tiểu 24 giờ?

2. Mô tả quy trình lấy lấy máu tĩnh mạch và mao mạch, quy trình xét nghiệm nước tiểu một lần, quy trình xét nghiệm nước tiểu 24 giờ, quy trình lấy dịch cơ thể và cách bảo quản?

3. Liệt kê tiêu chuẩn của mẫu và tiêu chuẩn từ chối mẫu bệnh phẩm?

BÀI 4: PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Phân tích được bản chất ánh sáng, định luật Lambert - Beer về sự hấp thụ ánh sáng.
2. Nêu ứng dụng của phương pháp quang phổ trong hoá sinh.
3. Trình bày được cấu tạo của máy quang phổ

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

4. Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG

Trong mấy chục năm gần đây, trên cơ sở phát triển mạnh mẽ của các ngành khoa học kỹ thuật phương pháp quang phổ đã phát triển mạnh mẽ và được ứng dụng rộng rãi trên toàn thế giới.

Phương pháp quang phổ đơn giản, dễ thực hiện, có độ chính xác và tin cậy cao. Phương pháp quang phổ đã mang lại nhiều thành tựu khoa học mới cho nhiều ngành khoa học như: Hoá sinh, Hoá phân tích, Hoá vô cơ, Hoá hữu cơ, Hoá lý, Hoá dược, Hoá địa chất. Hoá pháp y,

Cường độ hấp thụ quang phổ của nhiều hợp chất mạnh ở các vùng tử ngoại và khả kiến cho phép định lượng các hợp chất này với những lượng rất nhỏ (khoảng vài $\mu\text{g/L}$ hoặc 10 mol/L).

1. Bản chất của ánh sáng

Ánh sáng là một dạng của vật chất, vừa có tính chất hạt, vừa có tính chất sóng.

Về tính chất sóng: Ánh sáng có bản chất sóng điện từ, lan truyền trong không gian có chất và không có chất (chân không). Vận tốc lan truyền của ánh sáng trong chân không là $C = 3 \times 10^{10} \text{ cm/giây} = 3 \times 10^8 \text{ km/giây}$. Dựa vào tính chất sóng, người ta đã giải thích được các hiện tượng giao thoa, nhiễu xạ và phân cực của ánh sáng.

Vùng khả kiến mà mắt người có thể nhận biết được chỉ là một vùng rất nhỏ trong phổ điện từ. Một đặc trưng rất quan trọng về bản chất sóng của ánh sáng, cũng như của quang phổ hấp thụ, là bước sóng của ánh sáng (còn gọi là độ dài sóng, ký hiệu là λ)

Ở các vùng khác nhau của phổ điện từ, ánh sáng đều có chung một bản chất, nhưng khác nhau rất nhiều về độ lớn của bước sóng. Ánh sáng có thể được biểu diễn bằng hai đại lượng đặc trưng: Bước sóng ánh sáng (λ) và tần số ánh sáng (ν)
 Sự liên quan giữa bước sóng và tần số ánh sáng là:

$$\lambda = c/\nu \quad (1)$$

Ở đây: c là vận tốc ánh sáng $= 3 \times 10^{10}$ cm/giây.

Đơn vị độ dài bước sóng thường được sử dụng ở vùng:

- Tử ngoại và khả kiến là μ hoặc nm ($1\text{m} = 10^{-3} = 10^{-6} \text{ mm} = 10^{-9} \text{ m}$).
- Hồng ngoại là μ
- Sóng radio là m.

Về đại lượng tần số ánh sáng, trừ trường hợp sóng vô tuyến sử dụng đơn vị kio chu kỳ (Kc) hoặc mega chu kỳ (Mc), còn ở các vùng khác của quang phổ, người ta sử dụng đơn vị số sóng (ν) là số các sóng trên một đơn vị khoảng cách, được tính bằng cm. Số sóng được liên hệ với bước sóng và tần số bởi phương trình:

$$\nu = 1/\lambda \quad (2)$$

Ví dụ: Số sóng hồng ngoại $\nu = 500/\text{cm}$ nghĩa là có 500 sóng trên 1 cm, đường đi của tia hồng ngoại có bước sóng:

$$\lambda = 1\text{cm}/500 = 104\mu/500 = 20\mu$$

Về tính chất hạt: Ánh sáng có bản chất lượng tử, được thể hiện ở các hiện tượng quang điện, quang hoá và hấp thụ ánh sáng. Ánh sáng được truyền đi trong không gian dưới dạng các hạt photon (còn gọi là quang tử) mang năng lượng. Năng lượng và tần số của hạt photon được liên hệ với nhau bởi phương trình:

$$E = h\nu = h.c/\lambda \quad (3)$$

Ở đây: E là năng lượng photon

h là hằng số Planck $= 6,62 \times 10^{-27}$ erg.giây.

Năng lượng của các photon ở các vùng khác nhau của phổ điện từ được xác định bằng công thức:

$$E \text{ (erg)} = h.c/\lambda = 6,62 \times 10^{-27} \text{ erg.giây} \times 3 \times 10^{17} \text{ nm/giây/nm}.$$

*** Sự chuyển động phân tử và các mức năng lượng của phân tử vật chất**

Cấu tạo phân tử của vật chất phức tạp hơn nhiều so với cấu tạo nguyên tử, vì vậy, chuyển động phân tử cũng rất phức tạp. Chuyển động của phân tử vật chất bao gồm chuyển động của các nguyên tử, chuyển động dao động và chuyển động quay của bản thân phân tử.

Chuyển động của các điện tử trong phân tử tạo thành các đám mây điện tử, trong đó có những điện tử không liên kết và những điện tử tạo thành liên kết phân tử.

Chuyển động dao động là sự thay đổi tuần hoàn vị trí tương đối của các hạt nhân nguyên tử trong phân tử.

Chuyển động quay của phân tử là sự thay đổi tuần hoàn sự định hướng của phân tử trong không gian. Các dạng chuyển động phân tử xảy ra đồng thời và có tương tác lẫn nhau. Mỗi dạng chuyển động phân tử đều có năng lượng đặc trưng. **Năng lượng phân tử** gồm ba dạng năng lượng: năng lượng điện tử (E_e), năng lượng dao động (E_{dd}) và năng lượng quay (E_q):

$$E_{\text{phân tử}} = E_e + E_{dd} + E_q.$$

Như vậy, một phân tử có một dãy các mức năng lượng tử hoá. Phân tử vật chất chỉ thể nhận (thu) hoặc mất (phát) năng lượng theo từng lượng tử một, nghĩa là từng bước tương ứng với sự chênh lệch giữa các mức năng lượng của phân tử một cách gián đoạn. Sự chuyển dịch giữa các mức năng lượng điện tử đòi hỏi một năng lượng lớn hơn nhiều so với sự chuyển dịch giữa các mức năng lượng dao động, còn sự chuyển dịch giữa các mức năng lượng dao động lại đòi hỏi một mức năng lượng lớn hơn nhiều so với sự chuyển dịch giữa các mức năng lượng quay:

$$E_e^1 - E_e^0 \gg E_{dd}^1 - E_{dd}^0 \gg E_q^1 - E_q^0$$

$$\text{Theo tỉ lệ} \quad 100 \quad : \quad 10 \quad : \quad 1$$

Điều hết sức thú vị là độ lớn của sự biến thiên các mức năng lượng điện tử hoá trị của phân tử $E_e^1 - E_e^0$ tương ứng với mức năng lượng của các hạt ánh sáng (photon) có bước sóng 1 trong vùng tử ngoại và khả kiến (200-800 nm). nghĩa là ta có:

$$E_e^1 - E_e^0 \text{ (của phân tử chất hấp thụ)} = h\nu = h.C/\lambda \text{ (của hạt ánh sáng)}$$

Đây chính là cơ sở lý thuyết của phương pháp quang phổ.

1.1. Sự tương tác giữa ánh sáng và các phân tử vật chất

Quang phổ hấp thụ thực chất là quá trình tương tác giữa các hạt photon của ánh sáng với các phân tử vật chất. Khi ta chiếu một chùm tia ánh sáng trắng gồm các hạt photon có các mức năng lượng khác nhau đi qua một dung dịch chất hấp thụ trong suốt, dung dịch chỉ hấp thụ chọn lọc những photon nào có mức năng lượng phù hợp với các mức năng lượng điện tử, năng lượng dao động và năng lượng quay của nó. Điều này có nghĩa rằng phân tử vật chất chỉ hấp thụ những photon nào có mức năng lượng phù hợp để có thể đưa phân tử từ mức năng lượng thấp lên mức năng lượng cao hơn. Thêm vào đó, mức năng lượng phân tử khác nhau cho:

$$\Delta E = E^1 - E^0 = E_{\text{photon}} = h\nu = h \cdot C / \lambda$$

Như vậy, các phân tử vật chất có cấu trúc khác nhau sẽ cho những phổ hấp thụ với các đỉnh có tần số (bước sóng) đặc trưng khác nhau.

Quá trình hấp thụ photon xảy ra trong một khoảng thời gian rất ngắn (khoảng 10 giây). Sau khi hấp thụ photon, mức năng lượng của phân tử vật chất tăng lên, phân tử chuyển sang trạng thái kích thích không bền vững, sau đó, phân tử ngay lập tức trả lại năng lượng thừa và trở lại trạng thái ban đầu bền vững. Năng lượng thừa có thể được trả lại dưới dạng bức xạ ánh sáng có bước sóng dài hơn (năng lượng thấp hơn) như ánh sáng huỳnh quang hoặc lân quang hoặc thành chuyển động nhiệt của phân tử.

1.2. Định luật Lambert - Beer về sự hấp thụ ánh sáng

* **Định luật Lambert | Bouguer:** Cường độ của một chùm tia sáng đơn sắc khi đi qua một dung dịch chất hấp thụ tỷ lệ nghịch với chiều dày của lớp dung dịch mà nó đi qua:

$$I_0 = I_1 \cdot 10^{-kl}$$

Ở đây: I_0 là cường độ chùm sáng tới, I_1 là cường độ chùm sáng đã truyền qua môi trường, k là hệ số hấp thụ và l là chiều dày của môi trường chất hấp thụ.

* **Định Luật Beer:** Sự giảm cường độ dòng sáng khi đi qua một dung dịch chất hấp thụ phụ thuộc vào số lượng các tiểu phân chất hấp thụ mà ánh sáng gặp phải trên đường đi của chùm sáng, nghĩa là phụ thuộc vào nồng độ C của dung dịch chất hấp thụ:

$$k = aC$$

Ở đây: a là hằng số hấp thụ, C là nồng độ chất hấp thụ.

* **Định luật Lambert-Beer:** Kết hợp 2 phương trình trên, ta có:

$$I_1 = I_0 \cdot 10^{-aCl}$$

Một số đại lượng về hấp thụ ánh sáng:

- Độ thấu quang T

$$T = I_1 / I_0 = 10^{-aCl}$$

- Độ hấp thụ quang A (còn gọi là mật độ quang OD):

$$A = OD = \lg 1/T = \lg 1/10^{-aCl} = \lg 10^{aCl} = aCl.$$

- Độ tắt (E): Nếu C là nồng độ phần trăm ($C=1\text{g}/100\text{mL}$) và độ dày của cốc đo là 1 cm thì lúc này độ hấp thụ quang $A = A^{1\%}_{1\text{cm}}$ được gọi là độ tắt E .

- Hệ số tắt phân tử gam (ϵ): Nếu C là nồng độ phân tử gam (1 mol/L) thì độ hấp thụ quang được gọi là hệ số tắt phân tử gam và được ký hiệu là E . Hệ số tắt ϵ là một đặc trưng quan trọng của phổ hấp thụ của một chất hoá học, nó thể hiện khả năng hấp thụ mạnh hay yếu của chất khảo sát ở các bước sóng đặc trưng. Những chất có

$\epsilon < 10^{-2}$ là những chất hấp thụ quang phổ yếu, những chất có $E > 10^{-4}$ là những chất hấp thụ quang phổ mạnh. Hệ số tắt E phụ thuộc vào:

+ Bản chất của dung môi: Dung môi tốt để hoà tan chất cần khảo sát là dung môi hoà tan tốt chất cần đo, không phản ứng với chất cần đo và phải trong suốt trong vùng phổ cần khảo sát. Giới hạn dưới của một số dung môi là:

Nước cất	200nm	Cyclohexan	200nm
Methanol	210nm	Ether	220nm
Chloroform	250nm	Benzen	275nm

Các máy quang phổ hiện nay thường được cấu tạo để đo phổ tử ngoại và khả kiến (có bước sóng từ 200-800 nm). Không khí trong suốt trong vùng này nên có thể sử dụng hệ thống quang học bằng thạch anh, sử dụng cuvet thạch anh (ký hiệu là QS) để đo trong vùng phổ tử ngoại 200 – 400 nm và sử dụng cuvet thủy tinh (ký hiệu là OS) để đo trong vùng phổ khả kiến 400-800nm

Bản chất của chất tan: Chất khảo sát có hệ số tắt mol càng lớn thì độ nhạy của phương pháp càng cao.

+ Độ dài của bước sóng ánh sáng tới: Muốn định lượng một chất hoà tan dưới dạng dung dịch, cần phải xác định bước sóng của tia tới cho độ hấp thụ cực đại, nghĩa là cho hệ số tắt mol cực đại, gọi là λ_{max} .

+ Nhiệt độ môi trường và thời gian hiện màu: Hệ số tắt mol phụ thuộc vào nhiệt độ của dung dịch, vì vậy, khi đo phổ, cần phải giữ cho dung dịch ở một nhiệt độ ổn định. Hệ số tắt mol còn phụ thuộc vào thời gian hiện màu, vì vậy, cần phải đo phổ vào thời gian màu ổn định nhất.

2. Ứng dụng của phương pháp quang phổ trong hoá sinh

Phương pháp quang phổ là một phương pháp phân tích, định lượng các chất hoá học, được ứng dụng trong nhiều ngành khoa học: hoá sinh, hoá phân tích, hoá vô cơ, hoá hữu cơ, hoá lý, hoá địa chất, hoá dược, hoá pháp y và nhiều ngành khoa học khác, cụ thể như sau:

2.1. Định lượng chất hoá học

Nhiều chất hoá học có thể tạo màu nhờ phản ứng với các chất hoá học khác, màu tạo được có độ hấp thụ tối đa ở một bước sóng nào đó; bước sóng đó được sử dụng để đo mật độ quang học, từ đó tính ra nồng độ chất cần khảo sát dựa vào định luật Lambert-Beer.

Ví dụ: protein + Cu^{2+} (môi trường kiềm) \rightarrow phức hợp màu tím hồng (hấp thụ mạnh ở bước sóng 546 nm). Đo màu ở bước sóng 546 nm, đối chiếu với dung dịch protein mẫu được tiến hành trong cùng điều kiện, xác định được nồng độ protein trong dung dịch cần khảo sát.

2.2. Định lượng hoạt độ enzym

Hoạt độ enzym có thể được xác định bằng cách xác định hoặc bằng lượng cơ chất mất đi hay bằng lượng sản phẩm tạo thành, hoặc bằng sự thay đổi nồng độ coenzym tương ứng. Ví dụ: Các coenzym NADH, NADPH có hai đỉnh hấp thụ ở 265 và 340 nm, khi bị oxy hoá thành NAD^+ và NADP^+ thì không còn đỉnh hấp thụ ở 340 nm nữa. Vì vậy, việc đo sự giảm mật độ quang bước sóng 340 nm chính là cơ sở để tính toán lượng NAD^+ hoặc NADP^+ được tạo thành, nghĩa là xác định được hoạt độ của enzym dehydrogenase tương ứng.

3. Cấu tạo máy quang phổ

Các máy đo quang sử dụng trong các phòng thí nghiệm hoá sinh thường gồm hai loại: Máy quang kế (photometer) và máy quang phổ kế (spectrophotometer). Điều khác nhau cơ bản giữa 2 loại máy này là máy quang phổ kế có bộ phận tạo phổ liên tục (sử dụng lăng kính hoặc cách tử), nghĩa là tạo các chùm tia đơn sắc có bước sóng đặc trưng theo ý muốn, trong khi máy quang kế không có bộ phận tạo phổ, chỉ có kính lọc màu tạo ra tia đơn sắc có bước sóng tương ứng với màu của kính lọc màu.

Một máy quang phổ thường có 10 bộ phận chủ yếu sau:

1. Nguồn sáng đèn tungsten (w) cho ánh sáng khả kiến và đèn hydrogen hoặc deuterium (D_2) cho phổ phát xạ liên tục trong vùng tử ngoại;
2. Gương phản xạ: có tác dụng hướng tất cả các tia sáng từ nguồn sáng về một phía;
3. Hệ thống thấu kính hội tụ và phân kỳ: có tác dụng chỉnh cho các tia sáng đi song song với nhau;
4. Bộ phận tạo ánh sáng đơn sắc (monochromator) là lăng kính (reflectance grating) hoặc cách tử (prism) (máy quang kế không có bộ phận này);
5. Khe sáng: có tác dụng chỉ cho một tia đơn sắc đi qua;
6. Kính lọc phụ: có tác dụng lọc các tia tạp còn lại khỏi dòng sáng của tia đơn sắc,
7. Cuvet chứa dung dịch hấp thụ,
8. Bộ phận phát hiện (detector) là tế bào quang điện (phototube) hoặc ống nhân quang (photomultiplier tube): có tác dụng tiếp nhận dòng tia đơn sắc sau khi đã bị dung dịch đo hấp thụ một phần, tạo nên một dòng quang điện
9. Bộ phận khuếch đại (amplifier): có vai trò khuếch đại dòng quang điện;
10. Bộ phận thể hiện kết quả đo phổ đồng hồ đo (meter) hoặc bộ phận ghi (recorder): thể hiện độ hấp thụ quang A hoặc độ truyền qua T

Lượng giá

1. Phân tích bản chất ánh sáng, định luật Lambert - Beer về sự hấp thụ ánh sáng?
2. Nêu ứng dụng của phương pháp quang phổ trong hoá sinh?

3. Trình bày cấu tạo của máy quang phổ?

BÀI 5. ĐIỀU CHẾ MỘT SỐ DUNG DỊCH THUỐC THỬ TRONG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được các nguyên tắc và quy trình pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.
2. Trình bày được các nguyên nhân sai lầm và cách xử lý sự cố khi pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.

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

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

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

- Phải đựng dung dịch thuốc thử trong chai lọ đúng quy định, có nắp đậy đủ kín.
- Phải dán nhãn ghi rõ tên, công thức hóa học, nồng độ của dung dịch thuốc thử chứa trong chai.
- Điều kiện bảo quản của từng loại thuốc thử phải được đảm bảo: nhiệt độ, ánh sáng, thời gian sử dụng.
- Đối với những dung dịch thuốc thử có độc, phải dán nhãn “chất độc” và bảo quản riêng một nơi.
- Thuốc thử phải để nơi khô ráo, tránh xa nguồn nhiệt. Nên sắp xếp thuốc thử theo thứ tự A, B, C.
- Phải cân đong chính xác và thực hiện đúng thứ tự pha chế

2. Chuẩn bị

- Bình định mức
- Cốc có mỏ
- Chai, lọ thủy tinh nút mài
- Cân
- Ống đong
- Ống hút
- Que khuấy thủy tinh

3. Cách pha các loại dung dịch thuốc thử

3.1. Dung dịch đếm số lượng hồng cầu

3.1.1. Dung dịch MARCANO

Công thức: - Natri sunfat: 50g

- Formol 40%: 5ml
- Nước cất cho đủ: 1000ml

3.1.2. Dung dịch nước muối sinh lý

- Công thức:
- Natri clorua: 9g
 - Nước cất cho đủ: 1000ml

3.2. Dung dịch đếm số lượng bạch cầu

3.2.1. Dung dịch LAZARUS

- Công thức:
- Acid acetic (CH_3COOH): 5ml
 - Methylene blue 1%: 3-5 giọt
 - Nước cất vừa đủ: 100ml

3.2.2. Dung dịch TURK

- Công thức:
- Acid acetic (CH_3COOH): 2ml
 - Gentian violet: 1 giọt
 - Nước cất vừa đủ: 98ml

3.3. Cách pha loãng cồn

Có sẵn cồn 95⁰, có thể điều chế cồn có nồng độ khác nhau:

- Cồn 85⁰:
 - + Cồn 95⁰: 98,4 ml
 - + Nước cất: 10,6 ml
- Cồn 70⁰:
 - + Cồn 95⁰: 72,6 ml
 - + Nước cất: 27,4 ml
- Cồn có iod:
 - + Cồn 70⁰: 100 ml
 - + Iod: 2g

3.4. Dung dịch chống đông

- EDTA (Ethylenediamine tetra acetate)
 - + Bột EDTA: 1g
 - + Nước cất vừa đủ: 100ml
- Natri citrate 3,8%
 - + Natri citrate: 3,8g
 - + Nước cất vừa đủ: 100ml

3.5. Cách pha các loại thuốc nhuộm

* Thuốc nhuộm Giemsa đậm đặc

- + Giemsa bột: 7,6g
- + Cồn tuyệt đối: 750ml

+ Glycerin: 250 ml

- Cho Giemsa bột và cối sứ, cho glycerin vào từ từ, nghiền thật mịn bằng chày sứ
- Cho cồn tuyệt đối vào trộn đều

* *Dung dịch nhuộm hồng cầu lưới*

- Xanh cresyl: 1g
- Natri citrate 3%: 20ml
- Nước muối 9 ‰

4. Nguyên nhân sai số

- Cân thiếu hóa chất
- Lấy sai hóa chất
- Pha sai tỷ lệ

Lượng giá

1. Trình bày các nguyên tắc và quy trình pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm?
2. Trình bày các nguyên nhân sai lầm và cách xử lý sự cố khi pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm?

BÀI 5. ĐIỀU CHẾ MỘT SỐ DUNG DỊCH THUỐC THỬ TRONG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được các nguyên tắc và quy trình pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.
2. Trình bày được các nguyên nhân sai lầm và cách xử lý sự cố khi pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.

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

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

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

- Các dụng cụ phục vụ cho việc pha chế hóa chất phải được vệ sinh sạch sẽ và tráng lại bằng nước cất
- Dung dịch kiềm muốn pha chế phải được để trong bát có chất liệu bằng sứ.
- Tính toán chính xác lượng dung môi và chất tan cần pha chế. Các loại hóa chất phải là hóa chất tinh khiết.
- Sau khi đã hoàn thành việc pha chế, không để trộn lẫn các chất vào nhau. Nhớ dán nhãn bên ngoài và đặt lại đúng vị trí quy định.
- Khi pha chế hóa chất trong phòng thí nghiệm, cần dùng bình định mức, ống đong các loại, pipet chia độ...
- Khi muốn trộn lẫn các dung dịch đã pha chế, chỉ sử dụng ống thủy tinh có một đầu bịt bằng cao su.
- Pha chế dung dịch theo nồng độ quy định.
- Tuân thủ những nguyên tắc trong phòng thí nghiệm đối với các chất dễ gây cháy nổ, chất độc.
- Sử dụng đồ bảo hộ như khẩu trang, găng tay, kính mắt... để bảo đảm an toàn.
- Pha chế theo các bước một cách thận trọng, chậm rãi, tránh để xảy ra tai nạn.

2. Pha chế các thuốc thử dùng trong xét nghiệm huyết học

2.1. Pha loãng và bảo quản cón

Muốn giữ được cón tuyệt đối thì cứ 1000ml cón cho thêm vào 50g kali carbonat hoặc 50g đồng Sulfat khan, sẽ giữ được độ cón để làm xét nghiệm.

Cách pha loãng cón

- Phương pháp Lowi

- Cho vào cốc nước chia độ số lượng mililit cón dùng để pha loãng bằng số độ cón

định pha loãng.

- Cho thêm nước cất vào cho đến khi số mililit bằng số độ còn đem pha loãng. Ví dụ: Định pha còn 90° thành còn 70°:

- Cho vào cốc chia độ 70ml còn 90°.

- Cho thêm nước cất vào cho đến khi dung dịch có thể tích = 90 ml thì được còn 70°.

- **Phương pháp Gay- Lussac**

Còn định pha	Thể tích nước thêm vào 100ml còn 90°	Thể tích nước thêm vào 100ml còn 95°
85°	6	13
80°	14	21
75°	22	29
70°	31	39
65°	42	5
60°	54	65
55°	68	78
50°	85	96
45°	105	117
40°	131	144
35°	163	178
30°	206	224
25°	266	287
20°	352	382
15°	500	540
10°	605	655

2.2. Dung dịch chống đông

* Dung dịch natri citrat 3,8%

- Natri citrat : 3,8g

- Nước cất vừa đủ: 100ml

* Chống đông Heparin:

- Heparin 5000 đơn vị

- Nước cất 10ml.

* Dung dịch complexon

- Muối dipotassic của ethylen diamin tetra acetic acid (EDTA): 1,5g

- Nước cất vừa đủ : 100ml

2.3. Cách pha Giemsa đậm đặc (Giemsa mẹ)

- Giemsa bột 0,75g
- Glycerin 35ml
- Cồn methylic 65ml

Cho Giemsa bột vào cối bằng sứ, cho từ từ glycerin vào và dùng chày bằng sứ nghiền thật mịn. Tiếp tục cho cồn vào hoà đều. Đựng dung dịch vào lọ màu, nút lọ thật kín. Bọc lọ bằng giấy đen hoặc để ở chỗ tối, ngày lắc 3 lần, trong 4 ngày liền. Giemsa mẹ để trên 6 tháng mới đem dùng là tốt nhất. Có thể thay bột Giemsa bằng bột Wright theo công thức

- Wright bột 1,3g
- Glycerin 3ml
- Cồn methylic 97ml

2.4. Hỗn hợp Sulfo-cromic

Công thức pha dung dịch sulfocromic

Kali bicromate	60 gam
Acid sulfuric đặc	66ml
Nước cất vừa đủ	1000 ml

Cách pha: Hòa Kalibicromat vào nước trước, khuấy tan kỹ, sau đó đong 66 ml Acid sulfuric đặc đổ từ từ vào dung dịch trên, dùng đũa thủy tinh khuấy đều. (không được làm ngược lại).

Dung dịch pha xong cáo màu cánh gián. Khi chuyển sang màu đen thì bỏ đi.

2.5. Dung dịch nhuộm hồng cầu lưới

* Xanh cresyl trong cồn

- Xanh cresyl ánh lg
- Cồn tuyệt đối 100ml

* Xanh cresyl trong đệm muối citrat và clorua (OMS)

- Xanh cresyl ánh: lg
- Natri citrat 3%: 20ml
- Natri clorua 9%0: 80ml

Lắc cho tan đều rồi lọc. Dùng trong 1 tháng

2.6. Dung dịch đếm số lượng hồng cầu

* Dung dịch Hayem

- Natri clorua : lg
- Natri Sulfat : 5g
- Sublimat : 1,5g
- Nước cất: 200ml

* Dung dịch Marcano

- Natri Sulfat : 50g
- Formol 40% : 5ml
- Nước cất: 1000ml

* Dung dịch nước muối sinh lý

- NaCl : 8,5 g
- Nước cất vừa đủ : 1000ml

2.7. Dung dịch đếm số lượng bạch cầu

* Dung dịch Lazarus

- Acid acetic : 50ml
- Xanh methylen 1% : 20 giọt
- Nước cất vừa đủ : 1000ml

* Dung dịch Hayem

- Acid acetic : 5ml
- Xanh methylen : 0,25g
- Nước cất vừa đủ : 1000ml

* Dung dịch xanh acetic

- Acid acetic : 10ml
- Xanh Toludin 0,25% : 10ml
- Nước cất vừa đủ : 1000ml

* Dung dịch Turk:

- Acid acetic : 20ml
- Nước cất vừa đủ: 1000ml
- Xanh methylen 1%: 20 giọt

2.8. Dung dịch đếm số lượng tiểu cầu

* Dung dịch Marcano: Dung dịch giữ nguyên cả hồng cầu và tiểu cầu

- Natri Sulfat: 50g
- Formol 40%: 5ml
- Nước cất vừa đủ: 1000ml

* Dung dịch urê: Dung dịch làm vỡ hồng cầu và giữ nguyên tiểu cầu

- Urê nguyên chất 0,7g
- Nước muối 9% 7ml
- Nước cất 3ml

* Dung dịch cocain: Dung dịch làm vỡ hồng cầu và giữ nguyên tiểu cầu

- Cocain clohydrat 30g
- Natri clorua 2g

- Nước cất vừa đủ 1000ml

* Dung dịch amonium oxalat 1% trong nước cất:

Dung dịch làm vỡ hồng cầu và giữ nguyên tiểu cầu

Giữ ở nhiệt độ lạnh, trước khi dùng phải lọc.

Lượng giá

1. Trình bày các nguyên tắc và quy trình pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.
2. Trình bày các nguyên nhân sai lầm và cách xử lý sự cố khi pha chế hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.

BÀI 6. KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN TRONG HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được nguyên tắc làm tiêu bản máu đần đạt tiêu chuẩn kỹ thuật.
2. Trình bày một số lưu ý khi lấy bệnh phẩm làm tiêu bản máu đần.
3. Trình bày được tiêu chuẩn tiêu bản đạt yêu cầu và các nguyên nhân sai lầm khi làm tiêu bản

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

4. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học.

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Lấy máu toàn phần dàn mỏng ra và cố định hình dạng các loại tế bào máu, từ đó khảo sát được hình dạng các loại tế bào máu.

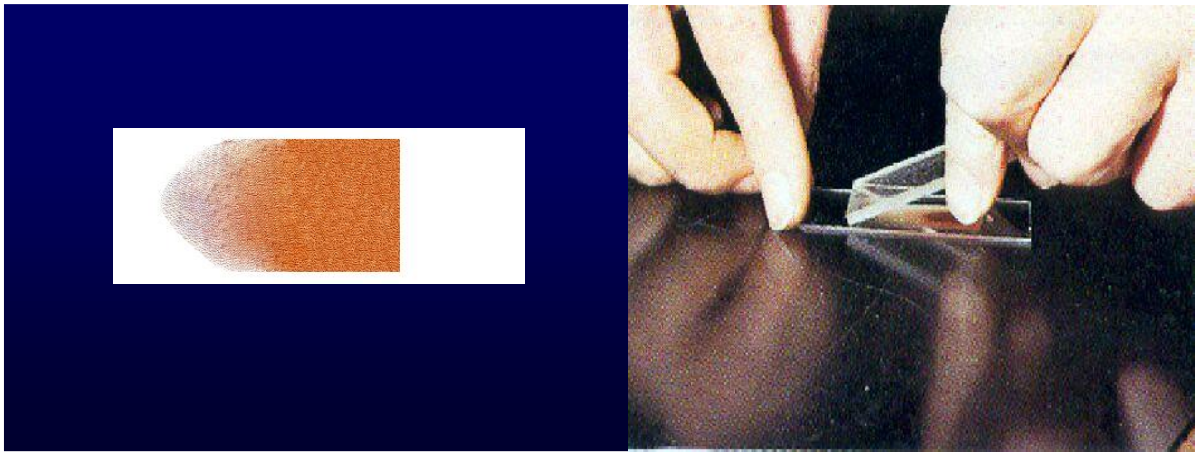
2. Kỹ thuật làm tiêu bản giọt đần

2.1. Ưu nhược điểm của tiêu bản máu đần

- Ưu điểm: Máu đần có ưu điểm nền máu mỏng, hơn nữa máu được cố định bằng cồn, khi nhuộm không có giai đoạn phá vỡ hồng cầu để tẩy Hb nên hình thể tế bào máu đẹp, điển hình và rõ ràng.
- Nhược điểm: máu đần cũng có nhược điểm là số lượng tế bào máu ít ở phần đuôi giọt máu, số lượng tế bào máu nhiều xếp chồng nhiều lớp nên khó quan sát. Nên khi soi quan sát tế bào máu thì sẽ soi ở giữa tiêu bản.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đầy đủ dụng cụ hóa chất
- Kiểm tra đối chiếu thông tin giữa phiếu chỉ định xét nghiệm và ống bệnh phẩm.
- Kiểm tra ống máu: thời gian lấy máu, ống máu, có vỡ hồng cầu không ?
- Lấy 1 lam kính sạch và 1 lam kéo.
- Lấy một giọt máu đường kính chừng 3µm vào phía đầu của một lam kính, cách bờ đầu của lam kính khoảng 1,5cm. Cầm lam kính ở tay không thuận bằng hai ngón tay cái và trỏ, cầm chắc chắn.



Hình. Kỹ thuật làm tiêu bản máu đần

- Tay thuận cầm một lam kéo có bờ thật phẳng, đặt tiếp tuyến với bờ trái của giọt máu. Lam kéo để nghiêng 45° , đợi cho máu lan khắp bờ lam kéo, nếu máu chưa lan hết bờ lam kéo thì đợi cho máu lan đến gần hết bờ của phiến kính thì kéo ngay (không để máu lan hết bờ lam kéo).
- Đẩy ngược lam kéo về phía đầu kia của lam kính có máu. Đẩy nhẹ và đều, không ấn mạnh, không dừng, không run tay. Động tác này còn gọi là kéo máu đần.
- Để khô tự nhiên, tránh bụi, tránh côn trùng (ruồi, gián) ăn máu.

2.3. Tiêu chuẩn của máu đần làm tốt

- Giọt máu đần đạt tiêu chuẩn:
 - + Dài mỏng đều, không có vệt sọc hoặc vệt ngang, không có chỗ trống hoặc lỗ chỗ và không dài quá (dài 2-3cm).
 - + Càng về phía cuối càng phải mỏng và thon dần.
- Giọt máu đần không đạt tiêu chuẩn:
 - + Giọt máu quá dày, khó phát hiện ký sinh trùng.
 - + Giọt máu không đều và quá dài nên mật độ ký sinh trùng ít cho kết quả không đúng.
 - + Giọt máu không liên tục, có hình làn sóng khó phát hiện ký sinh trùng.
- Nguyên nhân làm máu đần không tốt có thể do:
 - + Phần cuối tiêu bản không có đuôi: máu lấy nhiều quá, kéo không tốt.
 - + Tiêu bản dàn không đều: bờ lá kính hoặc phiến kính đẩy không hẳn hoặc tiếp xúc không khít.
 - + Tiêu bản có những vệt dày: đẩy chậm, máu bắt đầu đông.
 - + Tiêu bản có chỗ trống hoặc lỗ chỗ: kính bẩn, kính có mỡ hoặc ruồi, dán ăn.

Chú ý:

- Khi làm tiêu bản máu đàn và giọt đặc trên cùng một phiến kính, hai giọt máu phải cách xa nhau sao cho khi cố định máu đàn bằng cồn thì không ảnh hưởng đến giọt đặc.
- Phải chuẩn bị đầy đủ mọi thứ cần thiết để khi lấy máu ra là làm ngay, nếu máu đã bắt đầu đông thì làm tiêu bản không tốt, nhất là làm giọt đặc.
- Để tiêu bản thật khô mới nhuộm.

3. Kỹ thuật nhuộm tiêu bản giọt máu đàn

3.1. Chuẩn bị dụng cụ

- Ống đong có chia độ với nhiều loại khác nhau: 10ml, 20ml, 50ml, 100ml, 500ml ... bằng thủy tinh trung tính.
- Ống hút nhỏ giọt.
- Cốc mỏ 50 - 250 ml.
- Khay thủy tinh, bát thủy tinh...
- Giá để nhuộm tiêu bản.
- Giá đựng phiến kính để hong khô tiêu bản.
- Đồng hồ báo phút.
- Quạt bàn loại nhỏ (để làm khô tiêu bản).
- Hộp đựng tiêu bản.

3.2. Chuẩn bị hoá chất

- Thuốc nhuộm giem sa (dung dịch Giemsa gốc)

Dung dịch Giemsa gốc cần được đựng trong chai thủy tinh màu trung tính, bảo quản chỗ khô mát và không có ánh sáng.

Công thức pha dung dịch Giemsa gốc:

Giemsa sa bột	3,8g
Cồn tuyệt đối	375 ml
Glyxêrin nguyên chất	125 ml

- Cồn tuyệt đối
- Dung dịch đệm
- Nước trung tính hoặc hơi kiềm (pH khoảng 7-7,2).

Lấy nước cất hoặc nước máy rồi cho thêm vài giọt dung dịch đỏ trung tính 1% (Rouge neutre), lắc đều. Nếu thấy:

+ Nước chuyển sang màu hồng là toan tính. Để đưa pH về trung tính, cho thêm từng giọt dung dịch Natri cacbonat 1%, lắc đều cho tới khi nước chuyển sang màu da cam nhạt là được.

+ Nước chuyển sang màu vàng là kiềm tính. Để đưa pH về trung tính, cho thêm từng giọt axit axetic 1%, lắc đều cho tới khi nước chuyển sang màu da cam nhạt là được.

Trong trường hợp có máy thử pH thì thử và điều chỉnh độ pH bằng máy.

Tùy theo yêu cầu của xét nghiệm mà có thể thay đổi pH của nước dùng để pha dung dịch nhuộm. Muốn xem hình thể hồng cầu dùng nước toan tính nhẹ pH = 6,5. Muốn thấy rõ sắc tố của ký sinh trùng sốt rét, dùng nước kiềm nhẹ có pH = 8.

- Dung dịch buffer (dung dịch phosphat buffer, pH = 7,2) gồm có:

+ KH_2PO_4 0,7gam.

+ Na_2HPO_4 1gam.

+ 1000 ml nước cất.

Pha dung dịch giemsa nhuộm

- Pha dung dịch giemsa gốc với dung dịch đệm sẽ được dung dịch giemsa nhuộm. Dung dịch nhuộm không pha sẵn trước, vì để lâu giemsa bị kết tủa, lắng cặn, khi nhuộm sẽ bị bẩn.

- Độ đậm pha dung dịch giemsa nhuộm, có thể pha như sau:

+ Tỷ lệ 10%: 1ml giemsa gốc + 9ml dung dịch đệm.

+ Tỷ lệ 3%: 0,3ml giemsa gốc + 9,7ml dung dịch đệm.

- Khi pha dung dịch giemsa phải chú ý lắc khẽ cho dung dịch nhuộm tan đều không lắc mạnh, phòng kết tủa.

- Không có công thức cố định để pha dung dịch giemsa nhuộm, với mỗi loại dung dịch giemsa gốc, cần nhuộm thử ở những nồng độ khác nhau để tìm ra nồng độ thích hợp.

3.3. Tiến hành kỹ thuật

3.3.1. Cố định tiêu bản

Tiêu bản máu đàn

Cố định giọt đàn bằng cồn tuyệt đối. Dùng ống hút nhỏ cồn tuyệt đối để phủ kín tiêu bản máu đàn, sau vài phút cồn bay hết, tiêu bản khô là được.

3.3.2. Pha dung dịch đệm với hệ đệm phosphat có pH = 7,2

3.3.3. Pha dung dịch thuốc nhuộm

- Nhuộm nhanh với nồng độ giem sa là 10%. Số dung dịch thuốc nhuộm cho 1 giọt đàn là 2 ml

3.3.4. Nhuộm tiêu bản

- Xếp tiêu bản lên giá nhuộm, mặt có máu lên trên. Phủ kín dung dịch nhuộm lên giọt máu, phủ kín nhưng gọn, không nên cho dung dịch nhuộm rộng khắp tiêu bản (mỗi tiêu bản cần khoảng 2ml dung dịch nhuộm giem sa).

- Thời gian nhuộm tùy thuộc vào đậm độ pha dung dịch nhuộm: Dung dịch giemsa nhuộm tỷ lệ 10%: 15 - 20 phút.

Có thể nhuộm tiêu bản trong công nhuộm: Đổ đầy dung dịch nhuộm vào công, đưa tiêu bản máu đã cố định (giọt máu đàn) hoặc đã tẩy phá vỡ hồng cầu (giọt đặc) vào công nhuộm.

3.3.5. Rửa tiêu bản

- Dùng nước cất, nước trung tính để rửa tiêu bản.

- Nhúng sâu tiêu bản đã nhuộm vào khay nước rửa, lấy tiêu bản ra nhẹ nhàng. Rửa như vậy vài lần, tốt nhất là rửa 3 lần và mỗi lần qua một khay nước rửa.

- Phải đưa cả tiêu bản cùng với dung dịch nhuộm vào sâu khay nước rửa. Không nên đổ hết dung dịch nhuộm đi rồi mới đưa tiêu bản vào khay rửa, như vậy tiêu bản dễ bị có cặn thuốc nhuộm.

- Nghiêng giá tiêu bản để nước chảy hết, cắm tiêu bản vào giá phơi để hong khô tự nhiên, mặt máu quay xuống dưới để tránh bụi.

Chỉ khi nào tiêu bản thật khô mới soi dưới kính hiển hoặc cất bảo quản trong hộp đựng tiêu bản, muốn làm tiêu bản khô nhanh dùng quạt, không dùng nhiệt độ.

3.3.6. Đánh giá tiêu bản nhuộm

- Tiêu bản nhuộm tốt, khi xem dưới kính hiển vi thấy như sau:

+ Tiêu bản sạch, không cặn, không bụi.

+ Hồng cầu bắt màu xanh tím hoặc xanh da trời, hoặc có màu hồng nhạt.

+ Bạch cầu đơn nhân có màu xanh tím. Nguyên sinh chất của bạch cầu limpho có màu xanh lơ nhạt. Bạch cầu ưa axit có những hạt màu đồng đỏ rõ. Bạch cầu đa nhân trung tính có những hạt to nhỏ, không đều, màu xanh lơ tới đỏ.

+ Tiểu cầu tụ lại từng đám có từ 2 - 5 tiểu cầu, tiểu cầu có màu đỏ tươi hoặc tím nhạt.

3.3.7. Bảo quản tiêu bản

Tiêu bản nếu lưu lại lâu dài cần bảo quản tốt. Khi soi xong phải lau tiêu bản, để nghiêng tiêu bản, nhỏ 1 - 2 giọt xylen lên phía trên giọt máu rồi dùng khăn vải mềm, mỏng, sạch lau nhẹ cho sạch. Tiêu bản để chỗ không có ánh sáng, tốt nhất là để trong hộp gỗ.

Lượng giá

1. Trình bày nguyên tắc làm tiêu bản máu đàn đạt tiêu chuẩn kỹ thuật.
2. Trình bày một số lưu ý khi lấy bệnh phẩm làm tiêu bản máu đàn.
3. Trình bày được tiêu chuẩn tiêu bản đạt yêu cầu và các nguyên nhân sai lầm khi làm tiêu bản.

BÀI 7: SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN KÍNH HIỂN VI QUANG HỌC

MỤC TIÊU:

* Kiến thức

1. Mô tả được cấu tạo, chức năng các bộ phận của kính hiển vi quang học.
2. Trình bày được quy trình sử dụng và bảo quản kh hiển vi quang học.

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
4. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG:

1. Cấu tạo

1.1. Bộ phận quang:

- 1) **Nguồn sáng (đèn hoặc gương):** phản xạ ánh sáng lên vật cần soi.
- 2) **Gương:** hình tròn, có một mặt phẳng, một mặt lõm. Gương phẳng dùng để lấy ánh sáng gần. Gương lõm lấy ánh sáng xa hơn.
- 3) **Tụ quang:** là một hệ thống thấu kính có tác dụng tập trung, hội tụ ánh sáng lên vật cần soi. Dưới hộp tụ quang còn được gắn 2 bộ phận là chắn sáng và lọc sáng.
 - + Chắn sáng: có cần gạt làm cho lỗ của chắn sáng to hay bé nhằm điều chỉnh độ lớn của chùm sáng.
 - + Lọc sáng: hình tròn màu xanh, có tác dụng làm dịu ánh sáng khi soi kính, khi không cần thiết có thể tháo ra.
- 4) **Vật kính:** đầu dưới vật kính được gắn một hệ thống thấu kính, đầu trên tiếp xúc với hệ thống lăng kính và thị kính. Vật kính có tác dụng phóng đại hình ảnh của vật lên nhiều lần tùy từng loại vật kính, giúp chúng ta quan sát được chi tiết các thành phần của vật. Có nhiều loại vật kính với độ phóng đại khác nhau. Hệ số phóng đại có thể là: 4x, 8x, 10x, 40x, 100x...
 - + Vật kính có độ phóng đại nhỏ thì kích thước ngắn, vật kính có độ phóng đại lớn thì kích thước dài.
 - + Khoảng cách giữa vật kính và mâm kính:
 - Vật kính 10x: khoảng cách xa (khoảng 15,98mm).
 - Vật kính 40x: khoảng cách gần (khoảng 4,31mm).
 - Vật kính 100x: khoảng cách rất ngắn (khoảng 1,81mm).
 - + Cửa sổ ánh sáng (khả năng phân ly của các loại vật kính).

- Vật kính 10x: cửa sổ ánh sáng lớn, khả năng phân ly nhỏ, có khả năng nhìn rõ 2 vật xa nhau.
- Vật kính 40x: cửa sổ ánh sáng và khả năng phân ly tương đối lớn, có khả năng nhìn được 2 vật tương đối gần nhau.
- Vật kính 100x: Cửa sổ rất nhỏ, khả năng phân ly rất lớn, có khả năng nhìn được 2 vật rất gần nhau.

5) **Thị kính:** hình tròn, được gắn ở đầu ống kính. Thị kính được cấu tạo bởi một hệ thống thấu kính, có tác dụng phóng đại hình ảnh của vật. Hệ số phóng đại của thị kính có thể là 6x, 8x, 10x...

1.2. Bộ phận cơ:

1) **Đế kính:** hình chữ nhật hoặc hình móng ngựa, chắc chắn, giữ vững kính hiển vi.

2) **Thân kính:** hình cong hoặc hình gấp khúc, đầu trên gắn với mâm xoay, đầu dưới gắn với đế kính, có tác dụng nâng đỡ kính hiển vi. Trên thân kính có gắn mâm kính, ốc đại cấp, ốc vi cấp.

3) **Mâm kính:** hình tròn hoặc hình vuông tùy theo từng cơ sở sản xuất, dùng để mang tiêu bản. ở giữa mâm kính có một lỗ tròn để cho ánh sáng đi từ dưới lên. Trên mâm kính có hệ thống xa chuyển.

4) **Mâm xoay:** hình tròn, để mang vật kính, có thể xoay cùng chiều hoặc ngược chiều kim đồng hồ.

5) **Kẹp tiêu bản:** giữ chắc tiêu bản trên mâm kính.

6) **Ống kính:** hình trụ tròn, được gắn ở đầu trên của thân kính và mang thị kính. Một kính hiển vi có thể có một ống kính (kính 1 mắt) hoặc hai ống kính (kính 2 mắt).

7) **Ốc điều chỉnh xa chuyển:** giúp di chuyển tiêu bản theo chiều trước – sau, phải – trái để quan sát được toàn bộ tiêu bản.

8) **Ốc vĩ cấp (ốc đại cấp):** di chuyển mâm kính lên hoặc xuống với độ di chuyển lớn.

9) **Ốc vi cấp:** di chuyển mâm kính lên hoặc xuống với độ di chuyển rất nhỏ.

10) **Ốc điều chỉnh tụ quang:** di chuyển tụ quang lên hoặc xuống.

11) **Công tắc đèn và ốc điều chỉnh cường độ ánh sáng.**

12) **Hệ thống xa chuyển:** gồm bộ phận kẹp giữ tiêu bản và bộ phận đẩy tiêu bản nhờ ốc di chuyển gắn ở phía dưới mâm kính.

2. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học

2.1. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x10:

- 1) Lấy ánh sáng thích hợp.
- 2) Xoay vật kính x10 về vị trí làm việc.
- 3) Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.
- 4) Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến mức tối đa.
- 5) Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.
- 6) Điều chỉnh ánh sáng và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.
- 7) Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.
- 8) Sau khi soi xong đưa kính về tư thế nghỉ
 - 8.1. Xoay ốc điều chỉnh ánh sáng đèn về mức tối thiểu, tắt đèn.
 - 8.2. Hạ mâm kính xuống, lấy tiêu bản ra ngoài.
 - 8.3. Hạ thấp tụ quang, đóng hết màn chắn sáng.
 - 8.4. Xoay vật kính về điểm mù hoặc xoay vật kính trượt khỏi rãnh đối với kính không có điểm mù.
 - 8.5. Lau kính bằng khăn mềm. Chụp kính bằng vải mềm hoặc bao kính.

2.2. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x40:

- 1) Lấy ánh sáng thích hợp.
- 2) Xoay vật kính x40 về vị trí làm việc.
- 3) Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.
- 4) Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi tiêu bản và vật kính sát nhau
- 5) Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.
- 6) Điều chỉnh ánh sáng và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.
- 7) Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.
- 8) Sau khi soi xong đưa kính về tư thế nghỉ
 - 8.1. Xoay ốc điều chỉnh ánh sáng đèn về mức tối thiểu, tắt đèn.
 - 8.2. Hạ mâm kính xuống, lấy tiêu bản ra ngoài.
 - 8.3. Hạ thấp tụ quang, đóng hết màn chắn sáng.
 - 8.4. Xoay vật kính về điểm mù hoặc xoay vật kính trượt khỏi rãnh đối với kính không có điểm mù.

8.5.Lau kính bằng khăn mềm. Chụp kính bằng vải mềm hoặc bao kính.

2.3. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học vật kính dầu (x100):

- 1) Lấy ánh sáng tối đa (bật đèn, điều chỉnh đèn ở ánh sáng tối đa, mở màn chắn sáng, nâng tụ quang lên tối đa).
- 2) Xoay vật kính dầu về vị trí làm việc.
- 3) Nhỏ 1 giọt dầu lên phần bệch phẩm trên tiêu bản, đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyên đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.
- 4) Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi tiêu bản chạm giọt dầu.
- 5) Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng từ từ mâm kính lên đến khi thấy vi trường thì dừng lại.
- 6) Điều chỉnh ốc vi cấp (vặn vào trong hoặc ra ngoài) để lấy hình ảnh rõ nét.
- 7) Một tay điều chỉnh xa chuyên, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dích dắc” để tìm hình ảnh cần quan sát.
- 8) Sau khi soi xong đưa kính về tư thế nghỉ

8.1. Xoay ốc điều chỉnh ánh sáng đèn về mức tối thiểu, tắt đèn.

8.2.Hạ mâm kính xuống, lấy tiêu bản ra ngoài.

8.3.Hạ thấp tụ quang, đóng hết màn chắn sáng.

8.4.Xoay vật kính về điểm mù hoặc xoay vật kính trượt khỏi rãnh đối với kính không có điểm mù.

8.5.Lau vật kính bằng khăn mềm thấm cồn tuyệt đối, lau lại bằng khăn mềm, khô, sạch.

8.6.Lau kính bằng khăn mềm. Chụp kính bằng vải mềm hoặc bao kính.

8.7.Đối với tiêu bản: dùng giấy thấm để thấm hết dầu trên tiêu bản.

4. Bảo quản kính hiển vi

4.1. Chống bụi

- Thường xuyên lau chùi kính: lau kính bằng khăn mềm, khô, sạch. Lau bộ phận cơ học riêng, bộ phận quang học riêng.

- Vật kính dầu sau khi sử dụng xong phải lau sạch bằng khăn mềm thấm cồn tuyệt đối, sau đó phải lau lại bằng khăn khô.

4.2. Chống mốc

- Thường xuyên lau chùi kính: lau kính bằng khăn mềm, khô, sạch. Lau bộ phận cơ học riêng, bộ phận quang học riêng.

- Vật kính dầu sau khi sử dụng xong phải lau sạch bằng khăn mềm thấm cồn tuyệt đối, sau đó phải lau lại bằng khăn khô

4.3. Chống xước

- Khi vận chuyển kính: một tay cầm đế kính, một tay cầm thân kính di chuyển nhẹ nhàng.

Lượng giá

1. Mô tả được cấu tạo, chức năng các bộ phận của kính hiển vi quang học.
2. Trình bày quy trình sử dụng và bảo quản kính hiển vi quang học.
3. Trình các yêu cầu về bảo quản kính hiển vi quang học.

BÀI 8: SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN THIẾT BỊ MÁY MÓC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU:

*** Kiến thức**

1. Liệt kê được các thành phần cấu tạo nồi hấp ướ́t, tủ sấy, tủ ấ́m, tủ bảo quản hóa chất (tủ lạnh), tủ an toàn sinh học cấp 2.
2. Trình bày được quy trình sử dụng nồi hấp ướ́t, tủ sấy, tủ ấ́m, tủ bảo quản hóa chất (tủ lạnh), tủ an toàn sinh học cấp 2.
3. Trình bày được cách bảo quản được nồi hấp ướ́t, tủ sấy, tủ ấ́m, tủ bảo quản hóa chất (tủ lạnh), tủ an toàn sinh học cấp 2.

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

4. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập.
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học.

NỘI DUNG:

1. Nồi hấp

1.1. Cấu tạo

- Thân nồi: hình trụ tròn, làm bằng sắt dày để chịu được áp suất cao, phía ngoài được sơn chống gỉ, bên trong có thùng đựng dụng cụ.
- Thùng đựng dụng cụ: làm bằng kim loại, có những lỗ thùng để hơi nước xung quanh vào và không khí trong thùng thoát ra, dùng để chứa các dụng cụ cần tiệt khuẩn.
 - Giá đỡ thùng (kiềng)
 - Vòi tháo nước
- Nắp nồi: làm bằng kim loại xung quanh có khóa nắp nồi và vòng đệm cao su cho khít.
 - Khóa nắp nồi: có thể hình chữ T hoặc hình tròn.
 - Van thoát khí: gắn trên thân nồi hoặc nắp nồi, dùng để thoát khí khi bắt đầu đun hoặc xả hơi khi đun xong.
 - Van an toàn (van bảo hiểm): Thường là một nút cao su, gắn ở trên thân nồi hoặc nắp nồi, dùng để thoát khí khi áp suất trong nồi quá cao, tránh nổ nồi hấp.
 - Áp kế: gắn trên thân hay nắp nồi, đo áp suất khi hấp.
 - Bộ phận cung cấp nhiệt: hệ thống máy so ở đáy.

1.2. Quy trình sử dụng

- 1) Chuẩn bị dụng cụ:

- Dụng cụ thủy tinh: gói hoặc buộc lại.
 - Hộp kim loại: để mở nắp.
- 2) Xếp các dụng cụ vào nồi hấp sao cho hơi nước nóng tiếp xúc được với từng dụng cụ.
 - 3) Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ.
 - 4) Đổ nước vào nồi: ngập may so không ngập kiềng.
 - 5) Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi.
 - 6) Đóng nắp nồi, vặn khóa nắp.
 - 7) Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp với dụng cụ cần tiệt trùng.
 - 8) Mở van xả hơi.
 - 9) Kiểm tra van an toàn.
 - 10) Cắm điện.
 - 11) Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5- 7 phút đóng van xả hơi.
 - 12) Theo dõi đồng hồ áp suất: trong quá trình vận hành không được cho thêm dụng cụ vào, phải thường xuyên theo dõi nếu có sự cố phải cắt điện ngay, báo cho người phụ trách.
 - 13) Khi hấp xong, rút phích điện
 - 14) Khi áp kế trở về 0, chờ về 5 – 10 phút, mở nắp nồi từ từ nếu hấp dụng cụ. Nếu hấp môi trường thì không xả hơi, để nguội hẳn mới mở nắp.
 - 15) Lấy thùng dụng cụ ra từ từ.
 - 16) Tháo nước.
 - Chú ý: vận hành nồi hấp (thiết bị tạo áp suất cao) phải hết sức thận trọng, bảo đảm an toàn lao động tránh nổ và gây bỏng.

1.3. Bảo quản và kiểm tra chất lượng

- Lau chùi nồi hấp thường xuyên.
- Các van an toàn, van xả hơi nếu hỏng phải thay ngay.

2. Tủ ấm

2.1. Cấu tạo

- Vỏ tủ: Làm bằng sắt hay bằng tôn. Bên ngoài được sơn chống rỉ, ở trong có chất cách nhiệt.
- Quạt: Để ở phía sau tủ, giúp phân bố nhiệt đều trong lòng tủ và duy trì nhiệt độ.
- Khoang tủ: Khoang tủ có một hoặc được chia làm nhiều ngăn bởi những vì sắt. Nhiệt độ trên từng ngăn như nhau.

- Cửa tủ: Được cấu tạo bởi 2 cánh, cánh trong bằng kính, cánh ngoài bằng sắt dày, xung quanh cửa tủ được viền một lớp nỉ để khé kín cánh tủ.

- Nguồn cung cấp nhiệt: Hệ thống máy so nằm trong ống sứ cách điện ở đáy tủ.

- Bộ phận điều chỉnh:

- Núm điều chỉnh nhiệt độ.
- Hệ thống đèn báo.
- Nhiệt kế.
- Quy trình sử dụng

2.2. Quy trình sử dụng

- 1) Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng.
- 2) Cắm điện.
- 3) Đặt bệnh phẩm hay hóa chất vào tủ.
- 4) Đóng cửa tủ.
- 5) Theo dõi nhiệt độ để điều chỉnh.
- 6) Bảo quản và kiểm tra chất lượng

2.3. Bảo quản và kiểm tra chất lượng

- Lau chùi tủ thường xuyên.

- Khi máy có sự cố thì rút phích điện, sửa chữa

3. Tủ sấy

3.1. Cấu tạo

- Vỏ tủ: làm bằng tôn thép, có 2 lớp, ở giữa 2 lớp có nhiều tấm amiang để cách điện.

- Cửa tủ: làm bằng tôn thép dày, ở giữa cũng có lớp amiang. Xung quanh cửa tủ có viền 1 lớp nỉ hoặc cao su chịu nhiệt để khé kín cánh cửa tủ. Khoang tủ: có một hoặc nhiều ngăn.

- Xung quanh lòng tủ được mạ một lớp đồng hay kền để chống gỉ. Bộ phận cung cấp nhiệt: là hệ thống máy so ở đáy tủ.

- Bộ phận điều chỉnh, gồm có:

- Núm điều chỉnh có các số từ 0 – 10. Mỗi số tương ứng với nhiệt độ trên nhiệt kế khác nhau, tăng dần. Ví dụ:
 - Số 0: tương ứng 50 độ C
 - Số 5: tương ứng 80 – 100 độ C.
 - Số 10: tương ứng 180 – 200 độ C. Tùy theo từng hãng sản xuất.
- Công tắc điện.

- Đèn báo: có điện vào đèn đỏ sáng; đủ nhiệt theo yêu cầu đèn xanh sáng.
 - Lỗ thông hơi: thoát hơi khi nhiệt độ lên cao.
 - Nhiệt kế: điều chỉnh nhiệt độ cần thiết.
- Ngoài ra còn có hệ thống quạt để điều hòa nhiệt độ trong tủ.

3.2. Quy trình sử dụng

1) Chuẩn bị dụng cụ

- Dụng cụ thủy tinh gói bằng giấy gói.
- Hộp kim loại phải mở nắp.
- Chú ý: không sấy dụng cụ bằng nhựa, cao su, vải dễ cháy.

2) Xếp dụng cụ vào các ngăn: không được xếp sát đáy hoặc sát thành tủ và quá chặt.

3) Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ.

4) Đóng cửa tủ.

5) Cắm điện.

6) Điều chỉnh nhiệt độ ở 180 độ C.

7) Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt 180 độ C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy.

- Chú ý: Trong khi sấy phải thường xuyên theo dõi, không được mở cửa tủ hoặc cho thêm dụng cụ vào khi nhiệt độ đã lên cao.

8) Sau khi sấy xong:

- Tắt điện (rút phích điện).
- Vặn núm điều chỉnh về số 0. Khi nhiệt độ xuống dưới 400C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra.

- Chú ý: Chỉ lấy dụng cụ ra khỏi tủ sau khi đã ngắt điện và nhiệt độ trong tủ đã xuống dưới 50 độ C.

3.3. Bảo quản và kiểm tra chất lượng

- Khi sấy xong phải lau chùi tủ
- Kiểm tra các bộ phận điều chỉnh, nếu hỏng phải đề nghị sửa ngay

4. Tủ bảo quản hóa chất (tủ lạnh)

4.1. Cấu tạo

- Vỏ tủ: làm bằng kim loại hoặc nhựa, ở giữa có lớp cách nhiệt.
- Khoang tủ: 2 khoang.
- Ngăn trên (ngăn đá): là bộ phận chứa giàn lạnh.
- Ngăn dưới: rộng, chia làm nhiều ngăn.
- Cửa tủ: làm bằng nhựa, có lớp cách nhiệt ở giữa.

- Bộ phận bốc hơi (giàn lạnh): chứa các ống sinh hàn kín, bên trong chứa các chất sinh hàn ở thể khí như amoniac, etylclorua, freon 12, freon 22 hoặc hỗn hợp khí khác. Tùy theo các chất sinh hàn mà khả năng làm lạnh khác nhau.

- Bộ phận ngưng tụ (giàn nóng): nằm phía sau tủ, chứa các chất sinh hàn ở thể lỏng.

- Máy nén: Nằm ở đáy tủ. Khi máy nén hoạt động phải tiêu thụ một nguồn điện năng lớn (150 – 200W). Hoặc khi nhiệt độ trong giàn lạnh tăng hơn nhiệt độ điều chỉnh cũng làm mô tơ quay. Khi nhiệt độ giảm tới mức cần thiết thì bộ phận điều chỉnh ngắt điện.

- Bộ phận điều chỉnh: Nằm phía trong tủ gồm núm điều chỉnh nhiệt độ và đèn báo.

4.2. Quy trình sử dụng

1) Mở tủ lạnh.

2) Xếp các nguyên liệu cần lưu giữ vào các ngăn phù hợp.

3) Xoay núm điều chỉnh nhiệt độ về số cần thiết.

4) Đóng cửa tủ.

5) Cắm điện.

6) Khi lấy các nguyên liệu ra khỏi tủ phải ngắt điện

4.3. Bảo quản và kiểm tra chất lượng:

- Tủ lạnh nên kê sát tường, tốt nhất cách tường 10 – 30 cm. - Khi di chuyển phải di chuyển thẳng đứng.

- Đảm bảo nguồn điện vào tủ lạnh đúng điện thế, công suất. - Buồng sinh hàn bao giờ cũng có khay chứa nước.

- Khi buồng sinh hàn có nhiều đá phải ngắt điện, lau chùi sạch.

- Không nên để quá nhiều nguyên liệu vào tủ lạnh cùng một lúc làm quá công suất của tủ.

- Không mở tủ lạnh tùy tiện để đảm bảo cho tủ hoạt động thường xuyên và bảo quản các nguyên liệu trong tủ.

- Định kỳ vệ sinh tủ.

- Không được dùng vật nhọn cậy đá.

- Không để nước nóng vào ngăn đá.

- Không nên lấy hết đá ra khỏi ngăn sinh hàn.

- Khi nghi hỏng, mời cán bộ chuyên môn đến kiểm tra, sửa chữa

5. Tủ an toàn sinh học cấp II

5.1. Cấu tạo


- Hệ thống tạo và điều khiển dòng khí:


- Hệ thống tạo dòng và điều khiển khí hiện đại, tạo dòng khí đồng đều trên toàn bộ bề mặt buồng làm việc và tuyệt đối không dò rỉ khí.
- Hệ thống màng lọc hiệu năng cao (HEPA Filter) với bộ lọc sơ bộ hoàn hảo đảm bảo cho tuổi thọ của bộ lọc chính tăng lên nhiều lần, các Filter có thể tháo dễ dàng mà không cần dụng cụ.
- Có cửa kính chắn bằng thủy tinh hữu cơ ở phía trước có chỗ cho tay vào để thao tác thí nghiệm đảm bảo độ an toàn cho người sử dụng và môi trường buồng thí nghiệm.
- Cửa tủ có thể kéo hết lên phía trên hoặc hết xuống phía dưới giúp người sử dụng dễ dàng vệ sinh cả phía trên và phía dưới của cửa kính.
- Cửa tủ thiết kế dạng Smart, khi đóng cửa thì chức năng khử trùng bằng đèn cực tím sẽ hoạt động, quạt sẽ chuyển sang chế độ chờ Standby.





-Hệ thống điều khiển:


- Điều khiển tủ bằng bộ vi xử lý điện tử, các chức năng an toàn ở panel phía trước, có bộ cảnh báo khi tốc độ dòng khí đảm bảo độ an toàn cao. Với hệ thống phím màng dễ dàng điều khiển và lam sạch được cung cấp cùng với bộ hiển thị lưu lượng dòng khí.

5.2. Quy trình sử dụng:


- Kết nối tủ với nguồn điện. Nhấn và giữ nút  trong 5s để bật hoặc tắt tủ.
- Đóng tủ đến vị trí dưới cùng.


- Nhấn nút  để bật đèn UV (nếu cần).
- Kéo cửa kính lên mức thứ 2 để sử dụng.

- Khi tất cả các đèn hiển thị trên     hiển thị màu xanh có nghĩa tủ đã khởi động xong và có thể tiến hành thao tác trong tủ.

- Trong trạng thái tủ hoạt động bình thường, cửa kính kéo lên ở mức thứ 2, nhấn nút  để hiển thị tốc độ gió trong buồng thao tác và thời gian hoạt động của tủ.


- Nhấn nút  để bật đèn chiếu sáng.


- Nhấn nút  để cấp điện cho ổ cắm bên trong tủ.


- Nhấn nút  để tắt âm thanh báo động (trừ khi mất điện nguồn cấp cho tủ).


- Để thay đổi thời gian bật đèn UV (sau khoảng thời gian cài đặt đèn UV sẽ tự tắt):

+ Bật tủ và kéo cửa kính lên vạch thứ 2.

+ Nhấn và giữ nút  cho đến khi màn hình hiển thị thời gian bật UV.

+ Nhấn nút  để tăng thời gian, bước nhảy là 30 phút.

+ Nhấn nút  để giảm thời gian, bước nhảy là 30 phút.

+ Nhấn nút  lần nữa để lưu lại. Thời gian cài đặt được từ 0 – 24 giờ.

- Trong trạng thái tủ OFF, nhấn giữ nút trong 5 s để bật tắt chế độ báo động nếu **I** là bật, **0** là tắt.

5.3. Bảo quản và kiểm tra chất lượng.:

- Nếu hiển thị đèn trên là màu đỏ trong thời gian dài cần kiểm tra thay thế bộ lọc.

- Lau vệ sinh bằng cồn 70 độ cho bề mặt kim loại và bề mặt kính.

- Cửa kính có thể kéo xuống hoàn toàn để có thể vệ sinh cả phía trên.

➤ **Chú ý:** Không dùng các chất tẩy rửa có chứa Clo lau bề mặt Inox.

Lượng giá

1. Trình bày thành phần cấu tạo, các bước vận hành, bảo quản nồi hấp ướt?
2. Trình bày thành phần cấu tạo, các bước vận hành, bảo quản tủ sấy?
3. Trình bày thành phần cấu tạo, các bước vận hành, bảo quản tủ âm?
4. Trình bày thành phần cấu tạo, các bước vận hành, bảo quản tủ lạnh?
5. Trình bày thành phần cấu tạo, các bước vận hành, bảo quản tủ an toàn sinh học cấp 2?

BÀI 9: MỘT SỐ KỸ THUẬT NHUỘM THƯỜNG DÙNG TRONG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU:

*** Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên lý của các kỹ thuật nhuộm Xanh methylen, nhuộm Gram, nhuộm Ziehl Neelsen.
2. Mô tả được quy trình kỹ thuật nhuộm Xanh methylen, nhuộm Gram, nhuộm Ziehl Neelsen.

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

3. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập.
4. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học.

NỘI DUNG:

1. Nhuộm xanh methylen

1.1. Nguyên lý

- Thuốc nhuộm xanh Methylen là thuốc nhuộm cation mang điện tích dương, màng tế bào của vi khuẩn mang điện tích âm. Vì vậy khi cho thuốc nhuộm gây ra hiện tượng bắt màu do sự kết hợp của hai loại điện tích trái dấu.

1.2. Quy trình kỹ thuật

- Chuẩn bị, thiết bị, đồ dùng
- Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm
- Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm
- Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm
- Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm
- Dàn bệnh phẩm, để khô tự nhiên
- Cố định tiêu bản bằng nhiệt
- Phủ thuốc nhuộm xanh methylen
- Để khô tiêu bản
- Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn

1.3. Nhận định kết quả

Các loại vi khuẩn có trong bệnh phẩm đều bắt màu xanh

2. Nhuộm Gram

2.1. Nguyên lý

- Phương pháp này dựa trên sự khác nhau về cấu tạo vách tế bào vi khuẩn Gram âm và Gram dương. Trong quá trình nhuộm, vi khuẩn Gram dương vẫn giữ

được màu tím của thuốc nhuộm tím gentian, còn vi khuẩn Gram âm không giữ được màu tím của gentian và sẽ bắt màu hồng fuchsin. Khi soi trên kính hiển vi với vật kính lớn giúp nhận định về hình thái và tính chất bắt màu của vi khuẩn.

2.2. Quy trình kỹ thuật

- Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
- Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm
- Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm
- Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm
- Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm
- Khử trùng que cấy
- Dàn bệnh phẩm
- Để khô tự nhiên
- Cố định tiêu bản bằng nhiệt
- Nhuộm tím gentian
- Nhuộm lugol
- Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối
- Nhuộm đỏ fuchsin
- Để khô tiêu bản
- Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn

2.3. Nhận định kết quả

- Quan sát ở vật kính dầu 100x. Nếu nhuộm đúng vi khuẩn Gram dương bắt màu xanh tím, Gram âm bắt màu đỏ

3. Nhuộm Ziehl- neelsen

3.1. Nguyên lý

- Phương pháp nhuộm Ziehl - Neelsen sử dụng 2 hoá chất nhuộm màu là carbol fuchsin và xanh methylen kết hợp với chất tẩy màu (hỗn hợp acid-alcohol) để phát hiện các trực khuẩn kháng cồn kháng acid (thường gặp là Mycobacteria hay còn gọi là trực khuẩn lao)

3.2. Quy trình kỹ thuật

- Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
- Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm
- Cố định tiêu bản bằng nhiệt
- Nhuộm màu đỏ fuchsin
- Tẩy màu bằng cồn acid
- Nhuộm màu xanh methylen
- Để khô tiêu bản

- Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn

3.3. Nhận định kết quả

- Quan sát phết nhuộm kháng acid qua kính hiển vi, dưới vật kính dầu, trực khuẩn kháng acid bắt màu đỏ cánh sen, mảnh, còn vi khuẩn thường cũng như các nền khác như tế bào biểu mô hay bạch cầu bắt màu xanh.

- Khi trả lời một kết quả nhuộm kháng acid, không được kết luận là dương tính M. tuberculosis mà chỉ trả lời là có hiện diện trực khuẩn kháng acid.

Lượng giá

1. Trình bày nguyên lý, các bước tiến hành và nhận định kết quả của kỹ thuật nhuộm Xanh methylen?
2. Trình bày nguyên lý, các bước tiến hành và nhận định kết quả của kỹ thuật nhuộm Gram?
3. Trình bày nguyên lý, các bước tiến hành và nhận định kết quả của kỹ thuật nhuộm Ziehl – Neelsen?

BÀI 10: TIỆT TRÙNG VÀ KHỬ TRÙNG

MỤC TIÊU:

* Kiến thức

1. Trình bày được định nghĩa và các biện pháp tiệt trùng
2. Trình bày được định nghĩa và thực hiện được các biện pháp khử trùng

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện được tính tích cực trong học tập, tự học, tìm kiếm thông tin, tổng hợp kiến thức nhằm phát triển năng lực cho bản thân.
4. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG:

1. Tiệt trùng

1.1. Định nghĩa:

- Tiệt trùng (sterilization) là tiêu diệt tất cả các vi sinh vật và bất hoạt virus hoặc tách bỏ chúng hoàn toàn ra khỏi vật cần tiệt trùng.

- Tất cả các vật liệu đưa vào trong cơ thể của người bệnh đều phải đảm bảo là đã được tiệt trùng, ví dụ bơm kim tiêm, thuốc tiêm, chỉ khâu vết mổ, catheter, dịch truyền, mảnh ghép ...

1.2. Các biện pháp tiệt trùng

- *Khí nóng khô*: Sử dụng không khí được sấy nóng để tiệt trùng, bằng cách dùng tủ sấy (sterilizatoor, drying oven) duy trì ở nhiệt độ 170-180°C/1 giờ. Mọi vi sinh vật, kể cả nha bào đều bị tiêu diệt vì các thành phần hữu cơ bị huỷ hoại; song bông và giấy sẽ không bị chuyển màu nâu.

Không khí là môi trường dẫn nhiệt kém nên nếu xếp dụng cụ đầy chặt hoặc quá nhiều và tủ sấy không có bộ phận tạo luồng khí chuyển động (quay vòng) thì ở khoảng giữa không đạt được nhiệt độ như yêu cầu, do vậy cần duy trì nhiệt độ cao hơn và thời gian lâu hơn.

Luôn luôn phải kiểm tra độ tiệt trùng bằng các chỉ điểm chuyên biệt, thường xuyên bằng chỉ điểm hoá học và định kỳ bằng chỉ điểm sinh học.

Khí nóng khô thường được áp dụng để tiệt trùng các vật dùng chịu nhiệt như kim loại, đồ gốm, thuỷ tinh, ...

- *Hơi nước căng*: Tiệt trùng bằng cách sử dụng lò hấp (autoclave). Tác dụng diệt vi sinh vật là nhờ hơi nước căng và bão hoà ở nhiệt độ trên 100°C; nhờ hơi nước mà tác dụng diệt vi sinh vật tăng lên (căng: hơi nước ở áp suất cao tương ứng với nhiệt độ đạt được; bão hoà: pha hơi cân bằng với pha lỏng của nước).

Thông thường để tiệt trùng các đồ vật nhiễm khuẩn cần phải duy trì ở 120°C (1,0 at) trong 30 phút; nếu 134°C chỉ cần 15 phút.

Kiểm tra độ tiệt trùng thường xuyên bằng chỉ điểm hoá học và định kỳ bằng chỉ điểm sinh học chuyên biệt.

Tiệt trùng bằng lò hấp thường được áp dụng cho các dụng cụ kim loại, đồ vải, cao su, một số chất dẻo và dung dịch lỏng.

Vận hành lò hấp là làm việc với thiết bị tạo áp suất cao nên phải nghiêm chỉnh chấp hành qui định đảm bảo an toàn lao động.

- *Phương pháp Tyndan:*

+ Nguyên tắc: đun cách thủy ở nhiệt độ nhỏ hơn 100 độ C ba lần liên tiếp, cách nhau 12 giờ. Đun cách thủy lần đầu, vi sinh vật bị tiêu diệt nhưng chưa diệt được nha bào. Sau kích thích nhiệt nhiều nha bào này chồi chuyển thành dạng sinh dưỡng, vì vậy sau giờ lại đun cách thủy để tiêu diệt chúng và tác dụng của việc đun cách thủy lần 3 cũng vậy. Mỗi lần đun nóng từ 15-20 phút, với những bình có đường kính lớn cần đun nóng từ 30-35 phút.

+ Phương pháp tyndan được áp dụng để tiệt trùng những chất sẽ bị hỏng hoặc giảm chất lượng ở nhiệt độ >100 độ C, như dung dịch có albumin (đông ở 70 độ C và biến chất ở 100 độ C) hoặc các môi trường có glucid.

- *Lọc vô trùng:* Những chất khí và lỏng thì phải lọc vô trùng nếu không thể dùng nhiệt độ được, ví dụ như vacxin, sản phẩm huyết thanh, các dung dịch nhạy cảm nhiệt độ, không khí và các chất khác; trong một chừng mực nhất định, cả nước uống.

Có hai kỹ thuật lọc là:

+ *Màng lọc:* Giữ lại các vi sinh vật trên bề mặt; dòng chảy đi qua màng lọc với các khe hở có độ lớn khác nhau.

+ *Lọc sâu:* Dòng chảy đi qua một lớp vật liệu có cấu tạo sợi, hạt. Việc giữ lại vi sinh vật dựa trên nguyên tắc gắn những vi sinh vật vào cấu tạo mạng; nhờ hiệu lực vật lý khác nhau nên có thể giữ lại được cả những vật thể rất nhỏ. Thông thường người ta dùng sợi thủy tinh để lọc không khí (khả năng giữ được vật thể lớn hơn 0,5 µm là 99,95%) và dùng cây nến gốm để lọc chất lỏng.

So với các biện pháp vật lý để tiệt trùng thì lọc vô trùng có nhiều yếu tố không chắc chắn, nên chỉ dùng cho không khí hoặc những sản phẩm sinh học không thể áp dụng được các biện pháp tiệt trùng khác.

- *Hoá chất:* Tiệt trùng bằng ethylenoxid (CH₂OCH₂) là dựa trên phản ứng hoá học, nhờ hoạt tính của nguyên tử oxy trong cấu tạo phân tử.

- *Tia gama:* Bức xạ ion hoá giàu năng lượng có thể giết chết vi sinh vật.

Tia gama được áp dụng để tiệt trùng chỉ katgút và các vật dụng nhạy cảm với ethylenoxid hay nhiệt độ như catheter và các mảnh ghép.

Ngoài ra còn dùng để tiệt trùng các dụng cụ và bông băng trong những túi đóng sẵn.

2. Khử trùng

2.1. Định nghĩa

- Khử trùng (disinfection) là làm cho vật được khử trùng không còn khả năng gây nhiễm trùng (chỉ tiêu diệt mầm bệnh mà không phải tất cả các vi sinh vật).

- Khử trùng phải đạt yêu cầu bất hoạt không hồi phục lại (irreversible inactivating) các mầm bệnh; do vậy tác dụng chế khuẩn (ví dụ kháng sinh) không đáp ứng yêu cầu này.

- Khử trùng có vai trò quan trọng khi các tác nhân gây bệnh có thể tồn tại ở nhiều nơi mà việc tiệt trùng vì nhiều lý do kinh tế và thực tế không thể sử dụng rộng rãi được.

- Có cả hai biện pháp vật lý và hoá học để khử trùng. Nhiều loại chất hoá học được sử dụng và thường được pha thành các dung dịch lỏng làm chất sát khuẩn (disinfectans). Những hoá chất diệt vi sinh vật trên da và niêm mạc nhầy còn gọi là chất chống nhiễm trùng (antiseptics).

2.2. Các biện pháp khử trùng

*** Biện pháp vật lý**

- *Hơi nước nóng:*

Luồng hơi nước nóng 80-100°C thường được dùng nhất vì nó giết được các tế bào sinh trưởng ở trạng thái tự do trong vài phút.

Áp dụng:

- Khử trùng quần áo, chăn màn, các dụng cụ đã dùng của người bệnh.
- Pasteur hoá sữa 72°C/15 giây hoặc Pasteur hoá đồ uống khác 62°C/30 phút

- *Tia cực tím (Ultraviolet - UV):*

Sóng điện từ với bước sóng 13,6-400 nm (gọi là tia cực tím - UV), nhất là 257nm, có tác dụng khử trùng. Liều sử dụng 100-500 Wsec/cm² diệt được 90% hầu hết các loài vi khuẩn, nhưng không diệt được nha bào và bào tử nấm.

Tác dụng của tia cực tím dựa trên cơ chế: Cấu trúc của các phân tử của vi sinh vật như acid nucleic bị biến đổi khi hấp thụ bức xạ này, dẫn đến đột biến làm hỏng chất liệu di truyền và chết.

Tia UV chỉ dùng để khử trùng không khí hay nước sạch; nó có thể gây viêm kết mạc và giác mạc.

Các bóng đèn UV chỉ có tuổi thọ 1-2 năm. Cường độ chiếu xạ ($Wsec/cm^2$) cần được theo dõi để kiểm tra hiệu lực và ngăn ngừa ảnh hưởng đến con người.

Trong đời sống hàng ngày, việc phơi nắng các dụng cụ (như chăn, màn...) là một cách sử dụng tia UV trong ánh sáng mặt trời. Các phòng ở của người bệnh nên có nhiều ánh sáng tự nhiên, nhất là người bệnh lao.

* **Biện pháp hoá học**

- *Cồn*: Thường được dùng là dung dịch ethanol 80%, isopropanol 70% và n-propanol 60%. Những dung dịch đặc hơn do hút nước trong tế bào ra mạnh nên hiệu quả kém hơn.

Cồn không diệt được nha bào. Tác dụng diệt virus có nhiều ý kiến khác nhau.

Áp dụng: Khử trùng da, nhất là khử trùng bàn tay trong phẫu thuật và vệ sinh phòng bệnh. Ưu điểm là thời gian tác dụng ngắn, có khả năng thấm vào da kể cả lỗ chân lông và tuyến mồ hôi, nhưng nhược điểm là bay hơi và dễ cháy.

- *Phenol và dẫn xuất của nó*:

Thường sử dụng dung dịch 0,5 - 4%; không diệt được nha bào và virus nhưng vững bền so với chất sát khuẩn khác.

Phenol có thể "ăn" da, niêm mạc và còn có thể gây độc thần kinh.

Người ta dùng chỉ số phenol để đánh giá tác dụng sát khuẩn của một hoá chất. *Chỉ số phenol* là tỷ số giữa nồng độ phenol thấp nhất và nồng độ chất sát khuẩn thấp nhất cùng có tác dụng như nhau lên một loài vi khuẩn trong một thời gian nhất định.

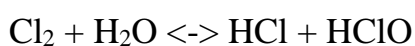
- *Nhóm halogen*:

Tác dụng sát khuẩn do phản ứng oxy hoá và halogen hoá các chất hữu cơ. Phản ứng oxy hoá xảy ra nhanh và không quay trở lại được, còn halogen hoá thì chậm hơn và không mạnh bằng. Những phản ứng này xảy ra với nhiều chất hữu cơ khác nhau, do đó sẽ làm giảm hoạt tính sát khuẩn trong những dung dịch có nhiều chất bản hữu cơ hay các chất oxy hoá và halogen khác, nhất là amoniac.

Halogen có phổ tác dụng rộng và thời gian tác dụng ngắn.

+ Clo: được sử dụng nhiều ở cả dạng khí nguyên chất và dạng hợp chất hữu cơ hay vô cơ.

Clo dùng để thanh khuẩn nước ăn (nồng độ 0,1 - 0,3 mg/L), nước bể bơi (0,5 mg/L).



$2 HClO \leftrightarrow 2HCl + O_2$ (HClO có hoạt tính giải phóng oxy, nhưng không giết được các vi khuẩn lao và virus đường ruột).

Chlorua vôi thường được sử dụng nhất để khử trùng chất nôn, chất thải và dụng cụ thô (pha 1/15 với nước) hoặc rắc hồ xí.

Chloramin tinh khiết pha loãng 1% có khả năng khử trùng bàn tay trong 5 phút tác dụng; để khử trùng cho dụng cụ phải ngâm 20 phút. Khử trùng đồ vải và tẩy uế, dùng dung dịch 1,5 - 2,5% trong thời gian 2 - 12 giờ. Chloramin thô được dùng để tẩy uế như chlorua vôi.

+ Iốt: Dung dịch iốt và dung dịch cồn iốt (gồm 7% I, 3% KI, 90% cồn) được sử dụng nhiều để sát trùng da.

Nhược điểm của halogen là phản ứng không đặc hiệu xảy ra rất nhanh với nhiều chất hữu cơ khác nhau và khí clo còn có tính độc, có thể có dị ứng với iốt.

- *Muối kim loại nặng*: Hoạt tính kháng khuẩn theo thứ tự Hg, Ag, Cu, Zn. Chủ yếu có tác dụng chế khuẩn, không diệt được nha bào, virus và khả năng diệt các vi khuẩn kháng acid yếu. Trong y học, các hợp chất hữu cơ của Hg ví dụ phenol-borat-thủy ngân được dùng để sát trùng vết thương, da và niêm mạc.

- *Aldehyd*: Quan trọng nhất là formaldehyd. Dung dịch 0,5-5,0% và khí 5gam/cm³ thường được dùng và có tác dụng tiêu diệt được cả vi khuẩn, nấm và virus; nếu đủ thời gian và ở nhiệt độ cao còn diệt được cả nha bào.

Áp dụng: Dung dịch nước để lau chùi sàn nhà và đồ dùng; khí dùng để khử trùng không khí và máy móc lớn.

Formaldehyd kích thích da và niêm mạc, có thể dẫn tới dị ứng và nghi ngờ có thể gây ung thư. Do làm tủa protein nên không dùng để khử trùng chất thải. Để trung hoà formaldehyd, dùng amoniac, sulfit hoặc histidin.

- *Các chất oxy hoá (H₂O₂, KMnO₄) và thuốc nhuộm* (ví dụ xanh methylen) được pha thành dung dịch lỏng dùng làm chất sát khuẩn.

- *Acid và bazơ*

Acid và bazơ có tác dụng diệt khuẩn vì tính điện phân thành H⁺ và OH⁻ mạnh.

Tóm lại, chất sát khuẩn là những chất hoá học khác nhau, phá huỷ vi khuẩn nhanh chậm khác nhau, bằng cách tác động trực tiếp lên toàn bộ cấu trúc tế bào vi khuẩn, thông qua quá trình lý học hay lý hoá làm cho vi khuẩn vỡ ra hay nguyên tương ngưng tụ lại.

Nồng độ chất sát khuẩn được sử dụng rất gần với liều độ cho cơ thể con người, vì vậy chỉ dùng chất sát khuẩn để điều trị tại chỗ.

Lượng giá

1. Trình bày định nghĩa và các phương pháp tiệt trùng?
2. Trình bày định nghĩa và các phương pháp khử trùng?

BÀI 11: NƯỚC DÙNG TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU:

* Kiến thức

1. Nêu được tính chất và tác dụng của một số loại nước thường dùng trong phòng xét nghiệm
2. Trình bày được nguyên tắc điều chế nước cất, nước khử khoáng, nước đệm, nước RO.
3. Trình bày được các biện pháp kiểm tra chất lượng các loại nước thường dùng

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

4. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học

NỘI DUNG:

1. Nước thường

1.1. Tính chất: Là loại nước ngầm nông, ngầm sâu, nước bề mặt, nước thường có chứa các chất vô cơ, hữu cơ, thậm chí cả vi khuẩn. Nước thường dùng trong PXN phải đạt tiêu chuẩn vệ sinh.

1.2. Tác dụng: vệ sinh, rửa chai lọ, dụng cụ làm xét nghiệm.

1.3. Kiểm tra chất lượng của nước

- Phương pháp cảm quan:

- + Nhìn: nước phải trong, không màu
- + Ngửi: không mùi
- + Nếm: không có mùi vị đặc biệt

- Thử các tính chất hóa học và chất hữu cơ: bằng bộ thử chuyên dụng

- Nuôi cấy: Trong các môi trường cần thiết để xác định vi khuẩn gây bệnh

Nếu nước đục hoặc chứa nhiều sắc phải dùng hệ thống lọc.

1.4. Dự trữ và cung cấp nước

- Nên chứa nước vào bể lớn, có hệ thống vòi hoặc ống dẫn
- Đảm bảo cung cấp nước hàng ngày

2. Nước cất

2.1. Tính chất: Là loại nước đã được điều chế tinh khiết để loại bỏ các chất hữu hình và vi khuẩn. Nước cất thường có pH trung tính.

2.2. Tác dụng:

- Pha hóa chất, thuốc thử, thuốc nhuộm.
- Pha chế môi trường

- Pha chế dung dịch đệm
- Tráng dụng cụ lần cuối cùng trước khi sấy khô

2.3. Nguyên tắc điều chế:

- Nước thường được đun sôi
- Hơi nước được bốc lên qua ống sinh hàn
- Hơi nước được ngưng tụ thành nước cất

2.4. Dự trữ và kiểm tra chất lượng nước

- **Dự trữ:** Nước cất chỉ dùng trong 1 tuần. Nước cất nên chứa trong bình thủy tinh hoặc bình nhựa có nút để tránh tiếp xúc với không khí và tránh ô nhiễm
- Kiểm tra chất lượng nước:
 - + Đong 10ml nước cất vào trong ống nghiệm
 - + Nhỏ 2 giọt HNO_3
 - + Nhỏ 1ml AgNO_3
- Kết quả:
 - + Nước trong: chất lượng tốt
 - + Nước đục hoặc hơi đục: chất lượng không tốt

3. Nước khử khoáng

3.1. Tính chất: Là nước đã được khử các ion kim loại nhưng vẫn còn vết các chất hữu cơ. Nước khử khoáng không tinh khiết bằng nước cất.

3.2. Tác dụng: thay thế nước cất để

- Pha hóa chất, thuốc thử, thuốc nhuộm
- Tráng dụng cụ lần cuối cùng trước khi sấy khô

3.3. Nguyên tắc điều chế: cho nước thường chảy qua một thiết bị trao đổi ion (thiết bị trao đổi ion là một cột dài chứa đầy các hạt nhựa nhỏ). Một đầu có nước chảy vào và một đầu có nước chảy ra. Khi nước chảy qua thiết bị ion sẽ xảy ra hiện tượng các ion kim loại (các muối hòa tan) sẽ được hấp thu bởi các hạt nhựa

3.4. Dự trữ và kiểm tra chất lượng:

- Dự trữ: Nước khử khoáng chỉ dùng trong 1 tuần. Nước khử khoáng nên chứa trong các bình thủy tinh hoặc bình nhựa có nút để tránh tiếp xúc với không khí và tránh ô nhiễm.
- Kiểm tra chất lượng:
 - + Nếu có thiết bị đồng hồ kiểm tra: Kiểm tra điện trở của nước, nếu thiết bị khử ion còn tác dụng thì điện trở của nước đã khử ion cao hơn 20 ôm. Nếu điện trở thấp hơn 20 hoặc bằng 0 chứng tỏ nước chưa được khử hết các chất khoáng phải thay thiết bị khác.
 - + Không có đồng hồ:

Xác định bằng giấy chỉ thị màu

Xác định pH nguồn nước chảy vào và pH của nguồn nước chảy ra

Kết quả: pH của 2 nguồn nước bằng nhau, chứng tỏ hạt nhựa đã hết tác dụng. Nếu pH của nguồn nước chảy ra kiềm tính hơn là hạt nhựa còn tác dụng.

Quan sát sự đổi màu của hạt nhựa (tùy theo hãng sản xuất), có thể từ màu trắng chuyển qua màu đen phải thay hạt nhựa khác....

4. Nước đệm

4.1. Tính chất: là nước giữ cho pH trung tính, tùy theo yêu cầu, nước đệm có pH nhất định

4.2. Tác dụng: dùng để pha hóa chất hoặc thuốc nhuộm làm cho tế bào nhuộm bắt màu đặc trưng. Ví dụ: KST sốt rét

4.3. Nguyên tắc điều chế: dùng hệ đệm phosphate pha với nước cất hoặc nước khử khoáng điều chỉnh bằng dung dịch Na_2HPO_4 2% và dung dịch KH_2PO_4 2%

4.4. Dự trữ và kiểm tra chất lượng:

Kiểm tra chất lượng nước đệm trước khi dùng là rất quan trọng, có thể kiểm tra pH bằng máy hoặc hộp so màu Lovibond

- Nếu pH < 7,2 (pH acid) cho thêm vài giọt Na_2HPO_4
- Nếu pH > 7,2 (pH kiềm) cho thêm vài giọt KH_2PO_2

5. Nước RO

5.1. Tính chất: Nước RO là Reverse Osmosis Water, nghĩa là nước thẩm thấu ngược. Nước RO đạt được độ tinh khiết cần thiết để cung ứng cho phòng xét nghiệm, nhất là với các xét nghiệm sử dụng máy có yêu cầu cao về nguồn nước đủ về số lượng và chất lượng.

5.2. Tác dụng: Nước RO dùng nhiều trong các máy xét nghiệm sinh hóa, huyết học.

5.3. Nguyên tắc điều chế: RO hoạt động theo cơ chế thẩm thấu ngược. Đầu tiên nguồn nước sẽ được kiểm duyệt chất lượng và xử lý → sau đó được bơm qua hệ thống màng lọc để loại bỏ tạp chất đưa vào bình chứa → tránh nước bình chứa có khả năng nhiễm khuẩn sẽ tái tiết trùng và đưa qua hệ thống lọc tinh

5.4. Dự trữ và kiểm tra chất lượng

- Kiểm tra màu sắc
- Kiểm tra độ pH: Nước tinh khiết thường có độ pH từ 6,5 đến 8,5.
- Kiểm tra độ dẫn điện: Nước tinh khiết thường có độ dẫn điện rất thấp, còn nước bản thường có độ dẫn điện cao hơn.

Lượng giá

1. Trình bày tính chất và tác dụng của nước đệm?

2. Trình bày nguyên tắc điều chế nước RO?
3. Trình bày các biện pháp kiểm tra chất lượng các loại nước khử khoáng?

PHẦN THỰC HÀNH

BÀI 12. THỰC HÀNH AN TOÀN SINH HỌC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU

* **Kỹ năng**

1. Thực hiện được các bước theo quy trình an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm tại phòng thực hành của trường.
2. Xử lý được một số sự cố trong phòng xét nghiệm.

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

3. Thận trọng, tỉ mỉ, tự chịu trách nhiệm với kết quả khi thực hiện kỹ thuật
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

- Nguyên tắc an toàn sinh học

An toàn sinh học trong phòng xét nghiệm là trạng thái an toàn cho con người và môi trường khi làm việc với vi sinh vật có nguy cơ gây bệnh truyền nhiễm cho người và các mẫu bệnh phẩm có khả năng chứa vi sinh vật có nguy cơ gây bệnh truyền nhiễm cho người tại phòng xét nghiệm.

Khử nhiễm là quá trình làm sạch, khử trùng hoặc tiệt trùng để loại bỏ, tiêu diệt vi sinh vật; loại bỏ hay trung hòa những hóa chất nguy hiểm và chất phóng xạ.

Làm sạch là quá trình loại bỏ bụi, chất hữu cơ trong phòng xét nghiệm bằng cách quét, hút, lau khô bụi, rửa, lau chùi bằng nước, chất tẩy rửa và một số hóa chất làm sạch.

2. Chuẩn bị

Thiết bị, dụng cụ:

- Hộp xử lý sự cố
- Khăn/ giấy thấm
- Chổi, hốt rác
- 2 loại xô đựng rác thải là Xanh và Vàng

Hóa chất và môi trường

- Chất khử nhiễm

3. Tiến hành

3.1. Xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm trong tủ an toàn sinh học

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng

2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó
3	Thay găng tay mới
4	Lấy bộ xử lý sự cố đồ mẫu
5	Dùng khăn/ giấy thấm phủ lên mẫu bệnh phẩm bị đổ, đổ chất khử nhiễm (30')
6	Thay găng tay mới
7	Lấy vật sắc nhọn (nếu có) bằng kẹp bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn
8	Xử lý khăn/ giấy thấm và vật sắc nhọn theo đúng quy định
9	Lau bề mặt làm việc tủ ATSH
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn
12	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách quản lí PXN

3.2. Xử lý tràn đổ bệnh phẩm ra ngoài tủ an toàn sinh học

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó
3	Thay găng tay mới
4	Lấy bộ xử lý sự cố đồ mẫu
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh
6	Dùng kẹp gấp dụng cụ đựng mẫu cho vào túi đựng rác thải lây nhiễm
7	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong
8	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên
9	Đợi trong khoảng thời gian thích hợp (30 phút)
10	Thay găng tay mới
11	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm
12	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ
13	Thu dọn và xử lý dụng cụ
14	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn
15	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN

3.3. Xử lý sự cố bị vật sắc nhọn đâm

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó
3	Bộc lộ vết thương
4	Gấp bỏ mảnh thủy tinh hoặc vật sắc nhọn tại vị trí vết thương nếu có

5	Nặn máu
6	Xả vết thương dưới nước tối thiểu 5' và đồng thời nặn máu
7	Sát khuẩn vết thương
8	Sử dụng băng gạc để che vết thương
9	Thu dọn và xử lý dụng cụ
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn
11	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách

3.4. Xử lý sự cố khi hóa chất bị đổ trong phòng xét nghiệm

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ/ bộ dụng cụ xử lý sự cố
2	Lấy khăn ẩm khoanh vùng, trùm lên dập ngọn lửa
3	Không có khăn ướt, dùng áo blouse, thảm, vải ướt
4	Nếu đám cháy lan rộng, dùng bình chữa cháy dập lửa
5	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó
6	Tắt các thiết bị điện ở gần
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy
8	Sau khi dập tắt ngọn lửa, dùng kẹp thu dọn mảnh vỡ cho vào thùng rác đựng vật sắc nhọn
9	Lau dọn khu vực đèn còn vỡ
10	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN

3.5. Xử lý sự cố khi xảy ra cháy nổ

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ/ bộ dụng cụ xử lý sự cố
2	Dập đám cháy nhỏ bằng vật dụng phù hợp
3	Khóa hoặc di dời các bình gas lân cận
4	Mở cửa sổ, cửa ra vào
5	Tắt các thiết bị điện ở gần
6	Bật chuông báo cháy, báo động
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy
8	Báo cáo với người phụ trách và ghi chép sự cố xảy ra

3.6. Xử lý sự cố khi làm việc với hóa chất

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó
3	Thay găng tay mới

4	Lấy bộ xử lý sự cố
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh
6	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong
7	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên
8	Thay găng tay mới
9	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm
10	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ
11	Thu dọn và xử lý dụng cụ
12	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn
13	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN

4. Nhận định kết quả

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

5. Tổ chức thực hiện

- Chia nhóm ra thực hiện
- Mỗi SV sẽ thực hiện 1 số bước của quy trình, các SV khác quan sát theo bảng kiểm.
- Chỉ tiêu giao theo nhóm

LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm trong tủ an toàn sinh học

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng				
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó				
3	Thay găng tay mới				
4	Lấy bộ xử lý sự cố đổ mẫu				
5	Dùng khăn/ giấy thấm phủ lên mẫu bệnh phẩm bị đổ, đổ chất khử nhiễm (30')				2
6	Thay găng tay mới				
7	Lấy vật sắc nhọn (nếu có) bằng kẹp				

	bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn				
8	Xử lý khăn/ giấy thấm và vật sắc nhọn theo đúng quy định				
9	Lau bề mặt làm việc tủ ATSH				
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				
12	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách quản lí PXN				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

2. Thang điểm xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm ngoài tủ an toàn sinh học

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố				
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó				
3	Thay găng tay mới				
4	Lấy bộ xử lý sự cố đổ mẫu				
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh				
6	Dùng kẹp gấp dụng cụ đựng mẫu cho vào túi đựng rác thải lây nhiễm				2
7	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong				2
8	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên				2
9	Đợi trong khoảng thời gian thích hợp (30 phút)				
10	Thay găng tay mới				
11	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm				
12	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ				
13	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
14	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

15	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN				
----	---	--	--	--	--

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

3. Thang điểm xử lý sự cố bị vật sắc nhọn đâm vào tay

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố				
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó				
3	Bộc lộ vết thương				
4	Gấp bỏ mảnh thủy tinh hoặc vật sắc nhọn tại vị trí vết thương nếu có				2
5	Nặn máu				
6	Xả vết thương dưới nước tối thiểu 5' và đồng thời nặn máu				2
7	Sát khuẩn vết thương				
8	Sử dụng băng gạc để che vết thương				
9	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				
11	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

4. Thang điểm xử lý sự cố đèn cồn đang cháy bị đổ vỡ

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ/ bộ dụng cụ xử lý sự cố				
2	Lấy khăn ẩm khoanh vùng, trùm lên dập ngọn lửa				2
3	Không có khăn ướt, dùng áo blouse, thảm, vải ướt				2

4	Nếu đám cháy lan rộng, dùng bình chữa cháy dập lửa				2
5	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó				
6	Tắt các thiết bị điện ở gần				
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy				
8	Sau khi dập tắt ngọn lửa, dùng kẹp thu dọn mảnh vỡ cho vào thùng rác đựng vật sắc nhọn				
9	Lau dọn khu vực đèn còn vỡ				
10	Ghi chép, báo cáo với người phụ trách				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

5. Thang điểm xử lý sự cố cháy trong phòng xét nghiệm

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ dụng cụ xử lý sự cố				
2	Dập đám cháy nhỏ bằng vật dụng phù hợp				
3	Khóa hoặc di dời các bình gas lân cận				
4	Mở cửa sổ, cửa ra vào				
5	Tắt các thiết bị				
6	Bật chuông báo cháy, báo động				
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy				
8	Báo cáo với người phụ trách và ghi chép sự cố xảy ra				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

6. Thang điểm xử lý sự cố khi làm việc với hóa chất

STT	Nội dung	Mức điểm	Hệ số
-----	----------	----------	-------

		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố				
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó				
3	Thay găng tay mới				
4	Lấy bộ xử lý sự cố đồ mẫu				
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh				
6	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong				2
7	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên				2
8	Thay găng tay mới				
9	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm				
10	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ				
11	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
12	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				
13	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

CÁC PHỤ LỤC

1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm trong tủ an toàn sinh học

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng	Thiết bị, dụng cụ, đồ dùng sẵn sàng, thuận tiện	Đầy đủ, gọn gàng sạch và vô khuẩn: Dung dịch khử nhiễm Khăn/ giấy thấm Panh, kẹp, chổi, hốt rác
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó	Thông báo và tìm sự hỗ trợ	Thông báo kịp thời, bình tĩnh
3	Thay găng tay mới	Đảm bảo sự an toàn	Đúng kỹ thuật

		khí xử lý sự cố	
4	Lấy bộ xử lý sự cố đồ mẫu	Sẵn sàng xử lý sự cố	Lấy đúng bộ xử lý sự cố
5	Dùng khăn/ giấy thấm phủ lên mẫu bệnh phẩm bị đổ, đổ chất khử nhiễm (30')	Khử trùng vùng bệnh phẩm đổ	Phủ được toàn bộ bệnh phẩm bị đổ. Thời gian phải đủ để khử khuẩn
6	Thay găng tay mới	Đảm bảo sự an toàn khi xử lý sự cố	Đúng kỹ thuật
7	Lấy vật sắc nhọn (nếu có) bằng kẹp bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn	Tránh sự va chạm tay với vật sắc nhọn	Dùng kẹp bỏ vào đúng hộp đựng vật sắc nhọn
8	Xử lý khăn/ giấy thấm và vật sắc nhọn theo đúng quy định	Đảm bảo an toàn không có sự lây nhiễm	Xử lý đúng cách, không gây lây nhiễm
9	Lau bề mặt làm việc tủ ATSH	Chắc chắn bề mặt làm việc được khử khuẩn	Lau sạch, khử khuẩn
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định
12	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách quản lý PXN	Sự cố được ghi chép, báo cáo	Ghi chép, báo cáo đúng và đủ

Phụ lục 2. Quy trình xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm ngoài tủ an toàn sinh học

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố	Thiết bị, dụng cụ, đồ dùng sẵn sàng, thuận tiện	Đầy đủ, gọn gàng sạch và vô khuẩn: - Dung dịch khử nhiễm - Khăn/ giấy thấm - Panh, kẹp, chổi, hốt rác
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần	Thông báo và tìm sự hỗ trợ	Thông báo kịp thời, bình tĩnh

	đó		
3	Thay găng tay mới	Đảm bảo sự an toàn khi xử lý sự cố	Đúng kỹ thuật
4	Lấy bộ xử lý sự cố đổ mẫu	Sẵn sàng xử lý sự cố	Lấy đúng bộ xử lý sự cố
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh	Tạo được cảnh báo cho những người xung quanh	Đặt được dấu hiệu cảnh báo phù hợp với điều kiện thực tế
6	Dùng kẹp gấp dụng cụ đựng mẫu cho vào túi đựng rác thải lây nhiễm	Đảm bảo không chạm tay vào vật sắc nhọn và bệnh phẩm lây nhiễm	Cho đúng vào túi đựng rác thải lây nhiễm
7	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong	Tránh bệnh phẩm lan ra ngoài	Không làm bệnh phẩm tràn ra rộng thêm
8	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên	Khử trùng vùng bệnh phẩm đổ	Phủ được toàn bộ bệnh phẩm bị đổ
9	Đợi trong khoảng thời gian thích hợp (30 phút)	Vi khuẩn đã được diệt sạch	Đợi đủ thời gian
10	Thay găng tay mới	Đảm bảo sự an toàn khi xử lý sự cố	Đúng kỹ thuật
11	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm	Đảm bảo an toàn không gây lây nhiễm	An toàn và đúng túi đựng rác thải lây nhiễm
12	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ	Nơi xảy ra sự cố không còn bẩn	Sạch sẽ và khô ráo
13	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
14	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định
15	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lý PXN	Sự cố được ghi chép, báo cáo	Ghi chép, báo cáo đúng và đủ

Phụ lục 3. Quy trình xử lý sự cố bị vật sắc nhọn đâm vào tay

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố	Thiết bị, dụng cụ, đồ dùng sẵn sàng, thuận tiện	Đầy đủ, gọn gàng sạch và vô khuẩn: Dung dịch sát khuẩn, khử nhiễm Băng gạc Khăn/ giấy thấm Panh, kẹp
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó	Thông báo và tìm sự hỗ trợ	Thông báo kịp thời, bình tĩnh
3	Bộc lộ vết thương	Vết thương được bộc lộ	Vết thương bộc lộ, không bị bịt và khép kín
4	Gấp bỏ mảnh thủy tinh hoặc vật sắc nhọn tại vị trí vết thương nếu có	Mảnh thủy tinh hoặc vật sắc nhọn được gấp bỏ khỏi vị trí vết thương nếu có	Gấp hết mảnh thủy tinh, vật sắc nhọn khỏi vết thương
5	Nặn máu	Loại bỏ phần máu ngoài có thể lây nhiễm	Nặn bỏ được phần máu ngoài có thể lây nhiễm
6	Xả vết thương dưới nước tối thiểu 5' và đồng thời nặn máu	Giảm tối đa nguy cơ lây nhiễm	Xả vết thương dưới nước đủ thời gian và đồng thời nặn máu
7	Sát khuẩn vết thương	Vết thương được sát khuẩn	Sát khuẩn kín vùng vết thương
8	Sử dụng băng gạc để che vết thương	Vết thương được che phủ bằng băng gạc	Dùng băng gạc che phủ kín vết thương
9	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định
11	Ghi chép, báo cáo	Sự cố được ghi chép, báo	Ghi chép, báo cáo đúng và

sự cố với người phụ trách	cáo	đủ
------------------------------	-----	----

Phụ lục 4. Quy trình xử lý sự cố đèn còn đang cháy bị đổ vỡ

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ/ bộ dụng cụ xử lý sự cố	Sẵn sàng xử lý sự cố	Chuẩn bị đầy đủ, bộ dụng cụ dễ nhìn thấy, tiện sử dụng: Khăn vải, panh/ kẹp, bình chữa cháy, chổi, khăn lau, hốt rác
2	Lấy khăn ẩm khoanh vùng, trùm lên dập ngọn lửa	Khăn ướt ngăn cản oxi tham gia sự cháy	Khăn ướt được phủ hoàn toàn và dập được lửa
3	Không có khăn ướt, dùng áo blouse, thảm, vải ướt	Dập cháy nhanh chóng khi không có khăn ẩm	Tìm và sử dụng được đồ dùng thích hợp để dập đám cháy
4	Nếu đám cháy lan rộng, dùng bình chữa cháy dập lửa	Dập ngọn lửa bằng bình chữa cháy	Lấy và sử dụng được bình chữa cháy
5	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó	Thông báo và tìm sự hỗ trợ	Thông báo kịp thời, bình tĩnh
6	Tắt các thiết bị điện ở gần	An toàn điện, không để phát ra tia lửa điện	Các thiết bị điện ở gần được tắt
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy	Đội cứu hộ PCCC đến kịp thời dập lửa và cứu người	Báo đúng vị trí với đội PCCC
8	Sau khi dập tắt ngọn lửa, dùng kẹp thu dọn mảnh vỡ cho vào thùng rác đựng vật sắc nhọn	Phòng tránh vật sắc nhọn đâm vào tay chân	Thu dọn sạch sẽ
9	Lau dọn khu vực đèn còn vỡ	Khu làm việc sạch sẽ	Sạch sẽ
10	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN	Sự cố được ghi chép, báo cáo	Ghi chép, báo cáo đúng và đủ

Phụ lục 5. Quy trình xử lý sự cố cháy trong phòng xét nghiệm

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ/ bộ dụng cụ xử lý sự cố	Sẵn sàng xử lý sự cố	Chuẩn bị đầy đủ, bộ dụng cụ để nơi dễ nhìn thấy, tiện sử dụng: Khăn vải, cát, bình chữa cháy
2	Dập đám cháy nhỏ bằng vật dụng phù hợp	Đám cháy nhỏ được dập sớm, không để lan rộng	Sử dụng khăn/ vải ướt, cát, bình chữa cháy để dập lửa nhanh chóng
3	Khóa hoặc di dời các bình gas lân cận	Tránh vụ cháy nổ liên hoàn xảy ra	Khóa hoặc di dời các bình gas lân cận cách xa khu vực xảy ra cháy
4	Mở cửa sổ, cửa ra vào	Tránh nhiệt độ trong phòng tăng cao dẫn đến áp suất tăng gây nổ	Đảm bảo phòng được thông thoáng
5	Tắt các thiết bị điện ở gần	An toàn điện, không để phát ra tia lửa điện	Các thiết bị điện ở gần được tắt
6	Bật chuông báo cháy, báo động	Cảnh báo cho những người xung quanh về sự cố cháy và tìm sự hỗ trợ	Chuông và đèn báo cháy hoạt động, báo động được cho người xung quanh
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy	Đội cứu hộ PCCC đến kịp thời dập lửa và cứu người	Báo đúng vị trí với đội PCCC
8	Báo cáo với người phụ trách và ghi chép sự cố xảy ra	Sự cố được ghi chép, báo cáo	Ghi chép, báo cáo đúng và đủ

Phụ lục 6. Quy trình xử lý sự cố khi làm việc với hóa chất

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố	Thiết bị, dụng cụ, đồ dùng sẵn sàng, thuận tiện	Đầy đủ, gọn gàng sạch và vô khuẩn: Dung dịch khử nhiễm Khăn/ giấy thấm

			Panh, kẹt, chổi, hốt rác
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó	Thông báo và tìm sự hỗ trợ	Thông báo kịp thời, bình tĩnh
3	Thay găng tay mới	Đảm bảo sự an toàn khi xử lý sự cố	Đúng kỹ thuật
4	Lấy bộ xử lý sự cố	Sẵn sàng xử lý sự cố	Lấy đúng bộ xử lý sự cố
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh	Tạo được cảnh báo cho những người xung quanh	Đặt được dấu hiệu cảnh báo phù hợp với điều kiện thực tế
6	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong	Tránh để hóa chất lan ra ngoài	Không làm hóa chất tràn ra rộng thêm
7	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên	Khử trùng vùng hóa chất đổ	Phủ được toàn bộ hóa chất bị đổ
8	Thay găng tay mới	Đảm bảo sự an toàn khi xử lý sự cố	Đúng kỹ thuật
9	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm	Đảm bảo an toàn không gây lây nhiễm	An toàn và đúng túi đựng rác thải lây nhiễm
10	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ	Nơi xảy ra sự cố không còn bẩn	Sạch sẽ và khô ráo
11	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
12	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định
13	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN	Sự cố được ghi chép, báo cáo	Ghi chép, báo cáo đúng và đủ

2. Bảng kiểm

Phụ lục 1. Bảng kiểm xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm trong tủ an toàn sinh học

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt

1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng		
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó		
3	Thay găng tay mới		
4	Lấy bộ xử lý sự cố đồ mẫu		
5	Dùng khăn/ giấy thấm phủ lên mẫu bệnh phẩm bị đổ, đổ chất khử nhiễm (30')		
6	Thay găng tay mới		
7	Lấy vật sắc nhọn (nếu có) bằng kẹp bỏ vào hộp đựng vật sắc nhọn		
8	Xử lý khăn/ giấy thấm và vật sắc nhọn theo đúng quy định		
9	Lau bề mặt làm việc tử ATSH		
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		
12	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách quản lí PXN		

Phụ lục 2. Bảng kiểm xử lý sự cố tràn đổ bệnh phẩm ngoài tủ an toàn sinh học

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố		
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó		
3	Thay găng tay mới		
4	Lấy bộ xử lý sự cố đồ mẫu		
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh		
6	Dùng kẹp gấp dụng cụ đựng mẫu cho vào túi đựng rác thải lây nhiễm		
7	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong		
8	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên		
9	Đợi trong khoảng thời gian thích hợp (30 phút)		
10	Thay găng tay mới		
11	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm		

12	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ		
13	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
14	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		
15	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lí PXN		

Phụ lục 3. Bảng kiểm xử lý sự cố bị vật sắc nhọn đâm vào tay

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố		
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó		
3	Bộc lộ vết thương		
4	Gấp bỏ mảnh thủy tinh hoặc vật sắc nhọn tại vị trí vết thương nếu có		
5	Nặn máu		
6	Xả vết thương dưới nước tối thiểu 5' và đồng thời nặn máu		
7	Sát khuẩn vết thương		
8	Sử dụng băng gạc để che vết thương		
9	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		
11	Ghi chép, báo cáo sự cố với người phụ trách		

Phụ lục 4. Bảng kiểm xử lý sự cố đèn cồn đang cháy bị đổ vỡ

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ/ bộ dụng cụ xử lý sự cố		
2	Lấy khăn ẩm khoanh vùng, trùm lên dập ngọn lửa		
3	Không có khăn ướt, dùng áo blouse, thảm, vải ướt		
4	Nếu đám cháy lan rộng, dùng bình chữa cháy dập lửa		
5	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó		
6	Tắt các thiết bị điện ở gần		
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy		
8	Sau khi dập tắt ngọn lửa, dùng kẹp thu dọn mảnh		

	vỡ cho vào thùng rác đựng vật sắc nhọn		
9	Lau dọn khu vực đèn cồn vỡ		
10	Ghi chép, báo cáo với người phụ trách		

Phụ lục 5. Bảng kiểm xử lý sự cố cháy trong phòng xét nghiệm

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ dụng cụ xử lý sự cố		
2	Dập đám cháy nhỏ bằng vật dụng phù hợp		
3	Khóa hoặc di dời các bình gas lân cận		
4	Mở cửa sổ, cửa ra vào		
5	Tắt các thiết bị		
6	Bật chuông báo cháy, báo động		
7	Gọi 114 khi không thể khống chế đám cháy		
8	Báo cáo với người phụ trách và ghi chép sự cố xảy ra		

Phụ lục 6. Bảng kiểm xử lý sự cố khi làm việc với hóa chất

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, bộ xử lý sự cố		
2	Báo cho đồng nghiệp làm việc gần đó		
3	Thay găng tay mới		
4	Lấy bộ xử lý sự cố		
5	Đặt dấu hiệu cảnh báo chú ý cho những người xung quanh		
6	Trải giấy thấm lên dung dịch bị đổ từ ngoài vào trong		
7	Đổ dung dịch diệt khuẩn lên trên		
8	Thay găng tay mới		
9	Gấp giấy thấm cho vào túi đựng chất thải lây nhiễm		
10	Lau sạch khu vực bị đổ vỡ		
11	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
12	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		
13	Ghi chép, báo cáo sự cố với người quản lý PXN		

BÀI 13. THỰC HÀNH PHA MỘT SỐ HÓA CHẤT DÙNG TRONG XÉT NGHIỆM HÓA SINH

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

1. Thực hiện pha chế chính xác các loại hóa chất thường dùng trong xét nghiệm hóa sinh
2. Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

- Khi pha chế dung dịch, người ta thường dùng các loại ống đo, bình định mức, pipet có chia độ. Bình định mức dùng để pha dung dịch theo nồng độ mol/l và nồng độ đương lượng. Vạch ở trên cổ bình cầu hoặc ở trên pipet là để chỉ mức chất lỏng cần lấy vào bình hoặc pipet. Khi khuấy dung dịch cần dùng loại đũa thủy tinh có bọc ống cao su ở đầu để tránh vỡ ống đo hoặc bình, lọ. Bình, lọ để pha chế dung dịch phải được rửa sạch và tráng nước cất trước khi pha.

+ Phải dung nước tinh khiết để pha hóa chất

+ Trước khi pha dung dịch cần phải tính toán lượng chất tan và dung môi

+ Nếu có thể nên kiểm tra lại nồng độ của dung dịch

+ Sau khi pha xong dung dịch, cần phải cho vào lọ có màu thích hợp, đậy kín và dán nhãn để bảo quản tốt dung dịch

- Pha loãng là quá trình theo đó nồng độ hoặc hoạt chất của một chất trong dung dịch được làm giảm đi bằng cách cho thêm dung môi. Trong thực tế phòng xét nghiệm, hầu hết các pha loãng được thực hiện bằng cách chuyển một thể tích chính xác của mẫu gốc vào một bình định mức phù hợp sau đó thêm nước hoặc dung môi khác với thể tích cần thiết, trộn thích hợp để đảm bảo tính đồng nhất. Pha loãng được biểu thị bởi thể tích chất tan (chất phân tích) trong một thể tích xác định. Ví dụ: pha loãng theo thể tích 1/5 nghĩa là ta có 1 thể tích gốc trong số 5 thể tích thu được (1 thể tích gốc và 4 thể tích dung môi).

2. Chuẩn bị

2.1. Chuẩn bị kỹ thuật viên

Mặc trang phục đúng quy định

2.2. Chuẩn bị dụng cụ

- Cân
- Cốc mở
- Pipet
- Bình định mức
- Bình chứa
- Đũa thủy tinh

2.3. Chuẩn bị hóa chất

- Nước muối sinh lý, nước cất
- Huyết thanh
- Protein 60 g/l

3. Tiến hành

3.1. Pha loãng dung dịch protein 20g/l từ dung dịch protein 60g/l

STT	Các bước tiến hành
1	<p>Chuẩn bị người kỹ thuật viên:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chỉnh đôn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng <p>Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chuẩn bị dụng cụ đầy đủ, hóa chất đảm bảo chất lượng
2	Hút 2ml dung dịch protein 60 g/L vào lọ pha dung dịch
3	Hút tiếp 4ml nước cho vào lọ trên
4	Lắc đều, đậy kín nắp lọ đựng dung dịch đã pha
5	Thu dọn, rửa dụng cụ

3.2. Pha loãng huyết thanh

STT	Các bước tiến hành
1	<p>Chuẩn bị người kỹ thuật viên</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chỉnh đôn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng <p>Chuẩn bị dụng cụ, mẫu bệnh phẩm</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chuẩn bị dụng cụ, bệnh phẩm
2	Dùng pipet 500 μ l hút 1 lần dung dịch NaCl 0,9 % vào 1 ống nghiệm
3	Hút bỏ đi 2 lần 50 μ l NaCl 0,9%
4	Hút 2 lần 50 μ l bệnh phẩm vào lượng 400 μ l NaCl 0,9% trên, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/5
5	Hút 50 μ l dung dịch 1/5 trên vào 1 ống nghiệm, hút tiếp 2 lần 50 μ l NaCl 0,9%, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/15
6	Thu dọn, rửa dụng cụ

4. Tổ chức dạy học

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

5. Lượng giá:

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ QUY TRÌNH PHA LOÃNG

6 ml DUNG DỊCH PROTEIN 20 g/L từ DUNG DỊCH PROTEIN 60 g/L

HỌ VÀ TÊN SV:

Ngày lượng giá:

TT	Các bước tiến hành	Thang điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đốn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Chuẩn bị dụng cụ đầy đủ, hóa chất đảm bảo chất lượng				
2*	Hút 2ml dung dịch protein 60 g/L vào lọ pha dung dịch				2
3	Hút tiếp 4ml nước cho vào lọ trên				2
4*	Lắc đều, đậy kín nắp lọ đựng dung dịch đã pha				2
5*	Thu dọn, rửa dụng cụ				

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 18

Quy định: - Không thực hiện/Thực hiện sai = 0

- Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1

- Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ KỸ THUẬT PHA LOÃNG HUYẾT THANH 1/15 BẢNG PIPET 50 μ l và 500 μ l

HỌ VÀ TÊN SV:

Ngày lượng giá:

TT	Các bước tiến hành	Thang điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đốn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng				

	Chuẩn bị dụng cụ, mẫu bệnh phẩm - Chuẩn bị dụng cụ, bệnh phẩm				
2*	Dùng pipet 500 μ l hút 1 lần dung dịch NaCl 0,9 % vào 1 ống nghiệm				2
3*	Hút bỏ đi 2 lần 50 μ l NaCl 0,9%				2
4*	Hút 2 lần 50 μ l bệnh phẩm vào lượng 400 μ l NaCl 0,9% trên, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/5				2
5*	Hút 50 μ l dung dịch 1/5 trên vào 1 ống nghiệm, hút tiếp 2 lần 50 μ l NaCl 0,9%, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/15				2
6	Thu dọn, rửa dụng cụ				

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 22

- Quy định: - Không thực hiện/Thực hiện sai = 0
 - Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1
 - Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

6. Các phụ lục kèm theo

6.1. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH PHA LOÃNG

6 ml DUNG DỊCH PROTEIN 20 g/L từ DUNG DỊCH PROTEIN 60 g/L

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đôn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất	- Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc, đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm - Thuận tiện cho quá trình thao tác và đảm bảo chất lượng	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Dụng cụ chuẩn bị đúng, đủ, thuận tiện trong các thao tác
2	Hút 2ml dung dịch protein 60 g/L vào lọ pha dung dịch	Để pha loãng	Hút đúng 2ml dung dịch protein 60 g/L vào lọ pha dung dịch

3	Hút 4ml tiếp nước cho vào lọ trên	Để pha loãng	Hút tiếp 4 ml nước cho vào lọ trên
4	Lắc đều, đậy kín nắp lọ đựng dung dịch đã pha	Trộn đều dung dịch	Lắc đều hỗn dịch, được dung dịch protein 20 g/L, đậy kín nắp lọ đựng dung dịch đã pha, để vào đúng nơi quy định
5	Thu dọn, rửa dụng cụ	Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế	- Gọn gàng, sắp xếp khoa học - Sạch sẽ

QUY TRÌNH PHA LOÃNG HUYẾT THANH 1/15

BẢNG PIPET 50 μ l và 500 μ l

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chinh đôn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng Chuẩn bị dụng cụ, mẫu bệnh phẩm - Chuẩn bị dụng cụ, bệnh phẩm	Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm Thuận tiện cho quá trình thao tác và đảm bảo chất lượng	Trang phục đúng quy định, gọn gàng Đội mũ, đeo khẩu trang đúng kỹ thuật - Dụng cụ chuẩn bị đúng, đủ, thuận tiện trong các thao tác - Hóa chất đảm bảo chất lượng
2	Dùng pipet 500 μ l hút 1 lần dung dịch NaCl 0,9 % vào 1 ống nghiệm	Dùng để pha loãng huyết thanh	Hút đúng, đủ 500 μ l dung dịch NaCl 0,9 % và không có bọt
3	Hút bỏ đi 2 lần NaCl 0,9%	Rèn luyện kỹ năng sử dụng pipet	Hút đúng 2 lần 50 μ l NaCl 0,9% bỏ đi
4	Hút 2 lần 50 μ l bệnh phẩm vào lượng 400 μ l NaCl 0,9% trên, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/5	Rèn luyện kỹ năng sử dụng pipet	Hút 2 lần 50 μ l bệnh phẩm vào lượng 400 μ l NaCl 0,9% trên, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/5

5	Hút 50 µl dung dịch 1/5 trên vào 1 ống nghiệm, hút tiếp 2 lần 50µl NaCl 0,9%, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/15	Rèn luyện kỹ năng sử dụng pipet	Hút 50 µl dung dịch 1/5 trên vào 1 ống nghiệm, hút tiếp 2 lần 50µl NaCl 0,9%, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/15
6	Thu dọn, rửa dụng cụ	Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế và cộng đồng	Dụng cụ để đúng vị trí. Thu gom, phân loại chất thải đúng quy định

6.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM QUY TRÌNH PHA LOÃNG

6 ml DUNG DỊCH PROTEIN 20 g/L từ DUNG DỊCH PROTEIN 60 g/L

STT	NỘI DUNG	TÊN:.....	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đôn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Chuẩn bị dụng cụ đầy đủ, hóa chất đảm bảo chất lượng		
2	Hút 2ml dung dịch protein 60 g/L vào lọ pha dung dịch		
3	Hút tiếp 4ml nước cho vào lọ trên		
4	Lắc đều, đậy kín nắp lọ đựng dung dịch đã pha		
5	Thu dọn, rửa dụng cụ		

BẢNG KIỂM QUY TRÌNH PHA LOÃNG HUYẾT THANH 1/15

BẢNG PIPET 50µl và 500µl

STT	NỘI DUNG	TÊN:.....	
		Đạt	Không đạt
1	Chỉnh đôn trang phục, thẻ nhân viên Đội mũ, đeo khẩu trang - Chuẩn bị dụng cụ		

	- Chuẩn bị hóa chất		
2	Dùng pipet 500 μ l hút 1 lần dung dịch NaCl 0,9 % vào 1 ống nghiệm		
3	Hút bỏ đi 2 lần NaCl 9‰		
4	Hút 2 lần 50 μ l bệnh phẩm vào lượng 400 μ l NaCl 0,9% trên, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/5		
5	Hút 50 μ l dung dịch 1/5 trên vào 1 ống nghiệm, hút tiếp 2 lần 50 μ l NaCl 0,9%, trộn đều được bệnh phẩm có độ hòa loãng là 1/15		
6	Thu dọn, rửa dụng cụ		

6.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

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

BÀI 14. THỰC HÀNH LẤY VÀ BẢO QUẢN BỆNH PHẨM HOÁ SINH, HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

1. Thực hiện đúng thao tác kỹ thuật lấy bệnh phẩm máu, nước tiểu.
2. Nhận định được kết quả.

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

- Đối chiếu bệnh nhân (mẫu máu): Lượng mẫu đủ, đúng chỉ định chuyên môn, phiếu xét nghiệm đủ thông tin.
- Bảo đảm an toàn khi thực hiện kỹ thuật.

2. Chuẩn bị

2.1. Chuẩn bị người kỹ thuật viên

- Chỉnh đốn trang phục; Đeo khẩu trang, đi găng

2.2 Chuẩn bị dụng cụ

- Bông cồn, bông khô
- Kim tiêm 5ml
- Garo, gói kê tay
- khay quả đậu
- Ống máu các loại
- Mô hình lấy máu tĩnh mạch

3. Tiến hành

STT	Các bước tiến hành
1	- Chỉnh đốn trang phục - Đeo khẩu trang, đi găng
2	- Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Ghi thông tin bệnh nhân lên các ống nghiệm
3	Xác định vị trí lấy máu
4	Garo
5	Sát khuẩn vị trí lấy máu
6	Lấy máu
7	Rút kim, tháo ga rô, dán urgo
8	Cho máu vào theo đúng thứ tự các ống xét nghiệm, lắc đều nhẹ nhàng

9	Thu dọn dụng cụ
---	-----------------

4. Các bước lưu ý

- Xác định chính xác vị trí lấy máu
- Lấy đúng thể tích máu
- Cho máu vào ống theo đúng thứ tự

5. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

6. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ QUY TRÌNH LẤY MÁU TĨNH MẠCH

HỌ VÀ TÊN SV:

Ngày lượng giá:

TT	Các bước tiến hành	Thang điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đốn trang phục, thẻ nhân viên - Đeo khẩu trang, đi găng tay Chuẩn bị dụng cụ, mẫu bệnh phẩm - Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất				
2	Ghi thông tin bệnh nhân lên ống máu				
3*	Xác định vị trí lấy máu				2
4	Garô				
5	Sát khuẩn vị trí lấy máu				
6*	Lấy máu đúng thể tích				2
7	Rút kim, tháo ga rô, dán urgo				
8*	Cho máu vào ống máu theo đúng thứ tự các ống xét nghiệm, lắc đều nhẹ nhàng				2
9	Thu dọn dụng cụ				

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 26

- Quy định:
- Không thực hiện/Thực hiện sai = 0
 - Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1
 - Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

7. Các phụ lục kèm theo

7.1. Quy trình

QUY TRÌNH LẤY MÁU TĨNH MẠCH

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	- Chỉnh đốn trang phục - Đeo khẩu trang, đi găng	- Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc - Đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	Trang phục đúng quy định, gọn gàng - Đeo khẩu trang, đeo găng đúng kỹ thuật
2	- Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Ghi thông tin bệnh nhân lên các ống nghiệm	Thuận tiện cho quá trình thao tác và đảm bảo chất lượng	- Dụng cụ chuẩn bị đúng, đủ, thuận tiện trong các thao tác - Tránh nhầm lẫn, và đảm bảo chất lượng xét nghiệm
3	Xác định vị trí lấy máu	Để thực hiện kỹ thuật được thuận lợi	Xác định chính xác vị trí lấy máu (Tĩnh mạch to, nhìn rõ, dễ dàng lấy máu)
4	Garô	Để bộc lộ rõ vị trí lấy máu	Cách phía trên vị trí lấy máu 02 cm
5	Sát khuẩn vị trí lấy máu	Đảm bảo vô khuẩn	Sát khuẩn đúng kỹ thuật, xoay từ vị trí lấy máu ra ngoài (2 lần). Để khô còn mới tiến hành lấy máu
6	Lấy máu	Để lấy mẫu bệnh phẩm	Lấy máu đúng, đủ số lượng theo yêu cầu
7	Rút kim, tháo ga rô, dán urgo	Cầm máu	Không làm chảy máu. Dán urgo đúng vị trí
8	Cho máu vào theo đúng thứ tự các ống xét nghiệm, lắc đều nhẹ nhàng	Đảm bảo chất lượng xét nghiệm	Cho máu theo đúng thứ tự: Đông máu, hóa sinh, công thức máu, lắc lên xuống nhẹ nhàng 8-10 vòng
9	Thu dọn dụng cụ	Đảm bảo an toàn cho cán bộ y tế	- Dụng cụ được sắp xếp gọn gàng, sạch sẽ, ngăn nắp

			- Chất thải được để đúng quy định
--	--	--	-----------------------------------

7.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM LẤY MÁU TĨNH MẠCH

STT	NỘI DUNG	TÊN:.....	
		Đạt	Không đạt
1	- Chỉnh đôn trang phục, thẻ nhân viên - Đeo khẩu trang, đi găng		
2	- Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Ghi thông tin bệnh nhân lên các ống nghiệm		
3	Xác định vị trí lấy máu		
4	Garô		
5	Sát khuẩn vị trí lấy máu		
6	Lấy máu		
7	Rút kim, tháo ga rô, dán urgo		
8	Cho máu vào theo đúng thứ tự các ống xét nghiệm, lắc đều nhẹ nhàng		
9	Thu dọn dụng cụ		

7.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

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

BÀI 15. THỰC HÀNH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN DỤNG CỤ THỦY TINH

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

1. Sử dụng được các dụng cụ thủy tinh đúng quy trình.
2. Rửa và bảo quản được dụng cụ thủy tinh.

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

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Sử dụng dụng cụ thủy tinh

1.1. Sử dụng bình chứa

Các dụng cụ chứa có chức năng để chứa và đựng các dung dịch. Chúng không được dùng để đong thể tích chính xác. Dụng cụ không có nắp đậy không được dùng để chứa và lưu trữ dung dịch hay hóa chất.

Cốc thủy tinh thường được dùng để chứa, đựng dung dịch trong thời gian ngắn, dùng đựng dung dịch trong quá trình pha hóa chất, mỏ của cốc thủy tinh giúp cho việc rót, chuyển dung dịch được dễ dàng.

Bình tam giác cũng được sử dụng như công năng của cốc có mỏ tuy nhiên, do cấu tạo đặc biệt, bình còn được sử dụng trong các trường hợp lắc dung dịch...

Bình thủy tinh có nắp thường được dùng đựng hóa chất / dung dịch. Bình dạng nắp đậy phù hợp cho trường hợp đựng hóa chất thường xuyên sử dụng nhiều lần/ ngày. Bình có nắp thiết kế dạng xoắn thường được sử dụng để lưu hóa chất / dung dịch trong thời gian dài, không bị đổ, trào dung dịch trong trường hợp bình bị nghiêng hoặc đổ

1.2. Sử dụng dụng cụ đo thể tích

Dùng để đo chính xác các dung dịch với thể tích nhỏ.

Pipette chia độ: có nhiều vạch trên thân nên có thể đo nhiều thể tích khác nhau trong giới hạn cho phép.

1.3. Sử dụng ống nghiệm

1.4. Sử dụng các dụng cụ khác

Ống đong được dùng trong trường hợp đong các dung dịch có thể tích vài chục tới vài nghìn milliliter. Ống đong có nhiều vạch chia trên thân nên có thể đong được nhiều thể tích theo các vạch chia.

Bình định mức dùng để đong một thể tích dung dịch chính xác. Bình định mức chỉ có 1 vạch nên chỉ đong được thể tích dung dịch duy nhất mà bình quy định. Có thể dùng bình định mức để pha dung dịch.

2. Chuẩn bị

2.1 Dụng cụ - Chai nắp nhựa

- Ống đong 100ml, 250ml, 500ml
- Pipette chia độ 1ml, 2ml, 5ml và 10ml
- Lamén
- Bình định mức 100ml, 250ml, 500ml
- Eppendorf 1.5 ml; 2ml
- Chai cổ mài 100ml, 250ml
- Bình tam giác 250ml, 500ml, 2 lit
- Pipette bầu 1ml, 2ml,
- Cốc thủy tinh (100ml, 250ml, 500ml)
- Đũa thủy tinh
- Pipette Pasteur - Ống nghiệm
- Ống Falcon
- Phễu 5ml và 10ml
- Quả bóp cao su - Đĩa petri
- Cọ rửa

2.2. Hóa chất

- Dung dịch có màu
- Nước
- Nước cất
- Nước rửa bát

3. Tiến hành

3.1. Thao tác với dụng cụ chứa

Bài tập:

- a. Rót dung dịch từ cốc có mỏ 250ml vào bình đựng
- b. Rót dung dịch từ cốc có mỏ 1 lít vào bình đựng

Lưu ý:

Không đựng dung dịch quá vạch giới hạn ghi trên thân của dụng cụ khi di chuyển.

Thao tác cầm và di chuyển dụng cụ chứa đầy dung dịch với thể tích lớn (≥ 1 lit): người thực hiện phải cầm bằng cả hai tay. Một tay đỡ phía dưới của dụng cụ; một tay cầm thân của dụng cụ.

Thao tác rót, chuyển dung dịch: tay cầm ở cổ của dụng cụ khi rót chuyển o dung dịch. Với dụng cụ có thể tích lớn cần phải sử dụng cả hai tay. Một tay cầm và một tay đỡ dụng cụ.

3.2. Thao tác với ống đong

Bài tập:

- a. Đọc các thông số trên thân ống đong
- b. Đong 100ml nước cất bằng ống đong 100ml meri taqiq ub od
- c. Đong 100ml dung dịch có màu bằng ống đong 100ml n
- d. Đong 500ml nước cất bằng ống đong 500ml và đổ vào bình đựng

Lưu ý:

Khi đọc trị số, để dung dịch ở ngang tầm mắt quan sát. Khi mặt thoáng của chất lỏng là một đường thẳng, đọc giá trị mà đáy của vòng khum chạm với vạch trên ống đong.

Đối với chất lỏng không màu, lấy đường chuẩn là đáy của vòng khum, Đối với chất lỏng đậm màu, đường chuẩn là miệng của vòng khum.

Ống đong có thể đong được nhiều thể tích theo các vạch được ghi trên thân của dụng cụ.

4. Rửa dụng cụ

- Sử dụng chổi, cọ phù hợp để rửa các dụng cụ có chiều sâu lớn nhưng thiết diện nhỏ
- Sử dụng miếng bọt biển rửa các dụng cụ không có chiều sâu hoặc có thiết diện lớn
- Dùng bình tia rửa pipette ngay sau khi sử dụng Dùng chất tẩy rửa (được cung cấp bởi phòng xét nghiệm) để rửa các dụng
- Tráng nhiều lần với nước máy để rửa trôi hết chất tẩy rửa
- Tráng lại lần cuối với nước cất.
- Để ráo dụng cụ và sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ dưới 65°C

BÀI 16. PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

1. Thực hiện được quy trình xác định nồng độ protein trong mẫu huyết thanh
2. Vẽ được đồ thị chuẩn và tìm được nồng độ của một dung dịch protein.

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện được sự tuân thủ các quy trình kỹ thuật và các bước kiểm tra
4. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
5. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Dựa trên kỹ thuật Gornall, sử dụng thuốc thử biuret:

Protein + Cu^{2+} (môi trường kiềm) \rightarrow Phức hợp màu tím hồng hấp thụ mạnh ở

$\lambda_{\text{max}} = 546 \text{ nm}$.

2. Chuẩn bị

2.1. Dụng cụ

- Máy quang phổ
- Pipet
- Đầu côn
- Ống nghiệm
- Cuvet

2.2. Hóa chất

- Dung dịch protein 60g/l

3. Tiến hành

Lấy 5 ống nghiệm, ghi số ống nghiệm, lần lượt cho vào từng ống như sau:

Thuốc thử (ml)	Ống nghiệm số				
	0	1	2	3	4
NaCl 0,9%	0,020				
Protein 20g/L		0,020			
Protein 40g/L			0,020		
Protein 60g/L				0,020	
Protein 80g/L					0,020
Thuốc thử Biure	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Lắc kỹ, để 30 phút ở nhiệt độ phòng, đo mật độ quang ở trước sóng 546nm, đối chiếu với ống trắng (ống số 0).

4. Tính kết quả

- Vẽ đồ thị chuẩn với trục hoành là nồng độ dung dịch protein (g/L) và trục tung là mật độ quang, sau đó tính hệ số hấp thụ quang. Hệ số hấp thụ quang được tính tại mỗi điểm dựa theo nguyên tắc:

Trong khoảng mật độ quang OD <0,60, mật độ quang phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ dung dịch chất hấp thụ, ta có:

$$C_{\text{thử}} / C_{\text{mẫu}} = D_{\text{thử}} / D_{\text{mẫu}} \longrightarrow C_{\text{thử}} = C_{\text{mẫu}} \times D_{\text{thử}} / D_{\text{mẫu}}$$

Hệ số hấp thụ quang tại mỗi điểm được tính bằng công thức: $F = C_{\text{thử}} / D_{\text{mẫu}}$

Lấy tổng tất cả các hệ số hấp thụ tương ứng với các nồng độ protein khảo sát chia cho số nồng độ protein khảo sát, ta có hệ số hấp thụ quang (trung bình) của dung dịch protein.

Chú ý: Theo định luật Lamber- Beer, nếu mật độ quang OD >0,60, nó sẽ không còn tăng tuyến tính khi tăng nồng độ chất hoà tan, vì vậy, ống thử cần được pha loãng bằng NaCl 0,9%, khi đó, kết quả $C_{\text{thử}}$ sẽ phải nhân với độ pha loãng.

- Xác định nồng độ protein trong một mẫu huyết thanh

Lấy một ống nghiệm, ghi số, lần lượt cho vào: huyết thanh 0,020 mL, thuốc thử Biure 1,000 mL. Lắc đều, để yên ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo mật độ quang ở bước sóng 546 nm. Tính nồng độ protein theo công thức:

$$\text{Nồng độ protein huyết thanh: } C_{\text{thử}} = C_{\text{mẫu}} \times D_{\text{thử}} / D_{\text{mẫu}} = \text{Hệ số } F \times D_{\text{thử}} \text{ (g/L)}.$$

5. Các bước cần lưu ý

- Hút chính xác thể tích
- Vào đúng kênh đo, chọn và đo đúng bước sóng

6. Tổ chức thực hành

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

7. Lượng giá

THANG ĐIỂM LƯỢNG GIÁ
QUY TRÌNH SỬ DỤNG MÁY QUANG PHỔ
ĐO MẬT ĐỘ QUANG PROTEIN TRONG MẪU CHO TRƯỚC
HỌ VÀ TÊN SV:
Ngày lượng giá:

TT	Các bước tiến hành	Thang điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đốn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Chuẩn bị dụng cụ đầy đủ, bệnh phẩm đảm bảo chất lượng				
2	Bật máy quang phổ, chọn kênh đo				
3	Hút 1000μl thuốc thử biure vào 1 ống nghiệm				
4*	Hút 20μl huyết thanh vào ống nghiệm				2
5	Lắc đều và ủ trong 10 phút				
6*	Đo mật độ quang của ống mẫu				2
7*	Ghi kết quả, nhận định kết quả				2
8	Dọn dụng cụ, vệ sinh máy, tắt máy				

Tổng điểm tối đa của bảng kiểm: 30

- Quy định: - Không thực hiện/Thực hiện sai = 0
 - Thực hiện đúng, không đầy đủ = 1
 - Thực hiện đúng và đầy đủ = 2

8. Các phụ lục kèm theo

8.1. Quy trình kỹ thuật

QUY TRÌNH SỬ DỤNG MÁY QUANG PHỔ
ĐO MẬT ĐỘ QUANG PROTEIN TRONG MẪU CHO TRƯỚC

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
Chuẩn bị			
1	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đốn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng	- Thể hiện sự nghiêm túc khi làm việc, đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm	- Trang phục đúng quy định, gọn gàng

	Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất	- Thuận tiện cho quá trình thao tác và đảm bảo chất lượng	- Dụng cụ chuẩn bị đúng, đủ, thuận tiện trong các thao tác
Thực hiện kỹ thuật			
2	Bật máy quang phổ, chọn kênh đo.	Kiểm tra máy quang phổ đảm bảo để thực hiện kỹ thuật	Bật máy quang phổ, chọn kênh đo, kiểm tra kênh đo xem có hiển thị đúng các chỉ số tiêu chuẩn không
3	Hút 1000 μ l thuốc thử biure vào 1 ống nghiệm	Tạo môi trường phản ứng	Hút 1000 μ l thuốc thử biure vào 1 ống nghiệm
4	Hút 20 μ l huyết thanh vào ống nghiệm	Đề huyết thanh phản ứng với thuốc thử	Hút 20 μ l huyết thanh vào ống nghiệm
5	Lắc đều và ủ	Đề dung dịch đồng nhất và phản ứng xảy ra hoàn toàn	Lắc đều các ống nghiệm ủ 10 phút ở nhiệt độ 37 $^{\circ}$ C trong 10 phút
6	Đo mật độ quang của ống nghiệm	Đề thu được giá trị mật độ quang	Đo đúng
7	Ghi kết quả, nhận định kết quả	Tính được nồng độ của chất cần đo	Nhận định đúng và chính xác
8	Dọn dụng cụ, vệ sinh máy, tắt máy	Đảm bảo an toàn cho nhân viên y tế	- Gọn gàng, sắp xếp khoa học - Sạch sẽ

8.2. Bảng kiểm

BẢNG KIỂM SỬ DỤNG MÁY QUANG PHỔ ĐO MẬT ĐỘ QUANG PROTEIN TRONG MẪU CHO TRƯỚC

STT	NỘI DUNG	TÊN:.....	
		Đạt	Không đạt
1.	Chuẩn bị người kỹ thuật viên - Chỉnh đôn trang phục, đeo khẩu trang, đi găng Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất - Chuẩn bị dụng cụ đầy đủ, bệnh phẩm đảm bảo chất lượng		

2	Bật máy quang phổ, chọn kênh đo		
3	Hút 1000 μ l thuốc thử biure vào 1 ống nghiệm		
4	Hút 20 μ l huyết thanh vào ống nghiệm		
5	Lắc đều và ủ trong 10 phút		
6	Đo mật độ quang của ống mẫu		
7	Ghi kết quả, nhận định kết quả		
8	Dọn dụng cụ, vệ sinh máy, tắt máy		

8.3. Chỉ tiêu thực hành

CHỈ TIÊU BÁO CÁO KẾT QUẢ THỰC HÀNH

Tên sinh viên: Nhóm số:.....

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

BÀI 17. ĐIỀU CHẾ MỘT SỐ DUNG DỊCH THUỐC THỬ TRONG XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

1. Thực hiện pha chế chính xác các loại hóa chất, thuốc thử trong xét nghiệm.
2. Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật

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

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Quy trình điều chế dung dịch Macano

1.1. Chuẩn bị

*** Dụng cụ**

- Bình đong 1000 ml, cốc có mỏ
- Pipet thủy tinh có chia vạch 10, 20, 50 ml
- Bình đựng hóa chất
- Cân phân tích
- Giấy cân

*** Hóa chất**

- Natri sulfat: 50g
- Formol 40%: 5ml
- Nước cất vd: 1000 ml

*** Ý nghĩa:** Dùng để đếm số lượng hồng cầu.

1.2. Tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH MARCANO

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1.	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều

	pha hóa chất		kiện bảo quản, quan sát cảm quan.
4	Cân hóa chất Natrisulfat và đong Formol 40%	Đảm bảo đúng công thức	- Natri sulfat: 50g - Formol 40%: 5ml
5	Cho nước cất vào bình định mức	Để hòa tan Natri sulfat	Đong khoảng 300 ml nước cất vào bình định mức.
6	Pha hóa chất: Cho Natri sulfat vào bình định mức và hòa tan	Hòa tan Natri sulfat hoàn toàn	Natri sulfat: 50g vào bình định mức có nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy tan đều.
7	Cho Formol vào bình định mức	Hòa tan hoàn toàn thuốc thử	Cho 5 ml Formol 40% vào bình định mức và khuấy đều
8	Thêm nước cất vào bình định mức	Đảm bảo đúng công thức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 1000 ml
9	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Sạch sẽ, gọn gàng.	Ngăn nắp và đúng vị trí.
10	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.

1.3. Các bước cần lưu ý

1.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

1.5. Lượng giá: bằng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH MARCANO

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		

2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.		
4	Cân hóa chất Natri sulfat và đong Formol 40%	- Natri sulfat: 50g - Formol 40%: 5ml		
5	Cho nước cất vào bình định mức	Đong khoảng 300 ml nước cất vào bình định mức.		
6	Pha hóa chất: Cho Natri sulfat vào bình định mức và hòa tan	Natri sulfat: 50g vào bình định mức có nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy tan đều.		
7	Cho Formol vào bình định mức	Cho 5 ml Formol 40% vào bình định mức và khuấy đều		
8	Thêm nước cất vào bình định mức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 1000 ml		
9	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Ngăn nắp và đúng vị trí.		
10	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.		

2. Quy trình điều chế dung dịch Lazarus

2.1. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Bình đong 1000 ml, cốc có mỏ
- Pipet thủy tinh có chia vạch 10, 20, 50 ml
- Bình đựng hóa chất
- Cân phân tích
- Giấy cân

* Hóa chất

- Acid acetic (CH_3COOH): 5ml
- Methylene blue 1%: 3- 5 giọt

- Nước cất vd: 100ml

* **Ý nghĩa:** Dùng để đếm số lượng bạch cầu.

2.2. Tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH LAZARUS

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.
4	Đong hóa chất Acid acetic	Đảm bảo đúng công thức	Đong đúng 5 ml acid acetic
5	Cho nước cất vào bình định mức	Để hòa tan Acid acetic	Đong khoảng 30 ml nước cất vào bình định mức.
6	Pha hóa chất: Cho Acid acetic vào bình định mức và hòa tan	Hòa tan Acid acetic hoàn toàn	Acid acetic: 5ml vào bình định mức có nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy tan đều.
7	Cho Xanh metylenl vào bình định mức	Hòa tan hoàn toàn	Cho 3-5 giọt Xanh metylen vào bình định mức và khuấy đều
8	Thêm nước cất vào bình định mức	Đảm bảo đúng công thức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 100 ml
9	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Sạch sẽ, gọn gàng.	Ngăn nắp và đúng vị trí.
10	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.

2.3. Các bước cần lưu ý

2.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

2.5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH LAZARUS

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.		
4	Đong hóa chất Acid acetic	Đong đúng 5 ml acid acetic		
5	Cho nước cất vào bình định mức	Đong khoảng 30 ml nước cất vào bình định mức.		
6	Pha hóa chất: Cho Acid acetic vào bình định mức và hòa tan	Acid acetic: 5ml vào bình định mức có nước cất, dùng thìa thủy tinh khuấy tan đều.		
7	Cho Xanh metylen vào bình định mức	Cho 3-5 giọt Xanh metylen vào bình định mức và khuấy đều		
8	Thêm nước cất vào bình định mức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 100 ml		
9	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Ngăn nắp và đúng vị trí.		
10	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày		

		pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.		
--	--	--	--	--

3. Quy trình điều chế dung dịch NaCl 0,9%

3.1. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Bình đong 1000 ml, cốc có mỏ
- Pipet thủy tinh có chia vạch 10, 20, 50 ml
- Bình đựng hóa chất
- Cân phân tích
- Giấy cân

* Hóa chất

- Natri clorua: 9 g
- Nước cất cho đủ: 1.000ml

* Ý nghĩa: Dùng để đếm số lượng hồng cầu.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHA DUNG DỊCH NaCl 0,9%

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.
4	Cân hóa chất NaCl	Đảm bảo đúng công thức	Cân đúng 9gram
5	Cho nước cất vào bình định mức	Để hòa tan NaCl	Đong khoảng 300 ml nước cất vào bình định mức.
6	Pha hóa chất: Cho NaCl vào bình định mức và hòa tan	Hòa tan NaCl hoàn toàn	NaCl: 9 gram vào bình định mức có nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy tan đều.

7	Thêm nước cất vào bình định mức	Đảm bảo đúng công thức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 1000 ml
8	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Sạch sẽ, gọn gàng.	Ngăn nắp và đúng vị trí.
9	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.

3.3. Các bước cần lưu ý

3.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

3.5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH NaCl 0,9%

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.		
4	Cân hóa chất NaCl	Cân đúng 9gram		
5	Cho nước cất vào bình định mức	Đong khoảng 300 ml nước cất vào bình định mức.		
6	Pha hóa chất: Cho NaCl vào bình định mức và hòa tan	NaCl: 9 gram vào bình định mức có nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy		

		tan đều.		
7	Thêm nước cất vào bình định mức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 1000 ml		
8	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Ngăn nắp và đúng vị trí.		
9	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.		

4. Kỹ thuật điều chế dung dịch chống đông Natri citrate 3,8%

4.1. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Bình đong 1000 ml, cốc có mỏ
- Pipet thủy tinh có chia vạch 10, 20, 50 ml
- Bình đựng hóa chất
- Cân phân tích
- Giấy cân

* Hóa chất

- Natri citrate: 3,8g
- Nước cất vừa đủ: 100ml

* Ý nghĩa: Dùng chống đông máu.

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH Natri citrate 3,8%

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.
4	Cân hóa chất Natri citrat	Đảm bảo đúng công	Cân đúng 3,8gram

		thức	
5	Cho nước cất vào bình định mức	Đề hòa tan NaCl	Đong khoảng 30 ml nước cất vào bình định mức.
6	Pha hóa chất: Cho Natri citrat vào bình định mức và hòa tan	Hòa tan NaCl hoàn toàn	Natri citrat 3,8 gram vào bình định mức có nước cất, dùng thìa thủy tinh khuấy tan đều.
7	Thêm nước cất vào bình định mức	Đảm bảo đúng công thức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 100 ml
8	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Sạch sẽ, gọn gàng.	Ngăn nắp và đúng vị trí.
9	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.

4.3. Các bước cần lưu ý

4.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

4.5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH Natri citrate 3,8%

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm		

		quan.		
4	Cân hóa chất Natri citrat	Cân đúng 3,8gram		
5	Cho nước cất vào bình định mức	Đong khoảng 30 ml nước cất vào bình định mức.		
6	Pha hóa chất: Cho Natri citrat vào bình định mức và hòa tan	Natri citrat 3,8 gram vào bình định mức có nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy tan đều.		
7	Thêm nước cất vào bình định mức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 100 ml		
8	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Ngăn nắp và đúng vị trí.		
9	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.		

5. Kỹ thuật điều chế dung dịch Sulfochromic

5.1. Chuẩn bị

* Dụng cụ

- Bình đong 1000 ml, cốc có mỏ
- Pipet thủy tinh có chia vạch 10, 20, 50 ml
- Bình đựng hóa chất
- Cân phân tích
- Giấy cân

* Hóa chất

Kali dicromate	60 gam
Acid sulfuric đặc	66ml
Nước cất vừa đủ	1000 ml

* **Ý nghĩa:** Dung dịch ngâm rửa dụng cụ thủy tinh

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH SULFOCHROMIC

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.

	tế		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.
4	Cân Kalidicromat	Đảm bảo đúng công thức	Cân đúng 60 gram
5	Cho nước cất vào bình định mức	Để hòa tan Kalidicromat	Đong khoảng 300 ml nước cất vào bình định mức.
	Cho Kalidicromat vào bình định mức	Để hòa tan Kalidicromat hoàn toàn	60 gram vào và dùng đũa thủy tinh khuấy đều
6	Cho Acid sulfuric đặc	Hòa tan hoàn toàn acid	Cho từ từ 66 ml acid vào và dùng đũa thủy tinh khuấy đều
8	Thêm nước cất vào bình định mức	Đảm bảo đúng công thức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 1000 ml
9	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Sạch sẽ, gọn gàng.	Ngăn nắp và đúng vị trí.
10	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Tránh nhầm lẫn	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.

5.3. Các bước cần lưu ý

5.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

5.5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH SULFOCROMIC

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu hóa chất và chỉ định pha hóa chất	Kiểm tra, đối chiếu hóa chất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản, quan sát cảm quan.		
4	Cân Kalidicromat	Cân đúng 60 gram		
5	Cho nước cất vào bình định mức	Đong khoảng 300 ml nước cất vào bình định mức.		
	Cho Kalidicromat vào bình định mức	60 gram vào và dùng thìa thủy tinh khuấy đều		
6	Cho Acid sulfuric đặc	Cho từ từ 66 ml acid vào và dùng thìa thủy tinh khuấy đều		
8	Thêm nước cất vào bình định mức	Thêm nước cất vào bình định mức vừa đủ 1000 ml		
9	Thu dọn dụng cụ, tháo găng, rửa tay.	Ngăn nắp và đúng vị trí.		
10	Ghi thông tin lên nhãn lọ đựng hóa chất	Ghi đầy đủ thông tin: tên hóa chất, thành phần, ngày pha chế, người pha chế, điều kiện bảo quản.		

BÀI 18. KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN TRONG HUYẾT HỌC

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

1. Thực hiện được quy trình kéo và nhuộm được tiêu bản máu đản đạt tiêu chuẩn kỹ thuật.
2. Kéo được lam máu dàn đẹp

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện được sự tuân thủ các quy trình kỹ thuật và các bước kiểm tra
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Kỹ thuật làm tiêu bản máu

1.1. Chuẩn bị

- Dụng cụ: lam kính, lam kéo
- + Dụng cụ lấy máu tĩnh mạch hoặc mao mạch,
- + Bông thấm nước, bông cotton
- + Giá nhuộm
- Hóa chất: cồn sát khuẩn.
- Máu tĩnh mạch hoặc máu mao mạch

1.2. Các bước tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN GIỌT MÁU ĐÀN

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu họ tên, tuổi, mã số, khoa
4	Lắc ống nghiệm máu	Trộn đều các tế bào máu	Lắc trộn đều và nhẹ nhàng
5	Lấy máu đặt lên lam kính		Nhỏ 1 giọt máu có lượng máu khoảng 2-3 μ l

6	Kéo tiêu bản giọt đàn	Tạo giọt máu mỏng dần về phía đuôi giọt máu.	Đặt lam kéo tiếp xúc với giọt máu để máu lan đều khắp cạnh lam kéo và đặt lam kéo và lam kính một góc 30- 45° đẩy đều tay về cuối lam kính để dàn máu.
7	Đề giọt máu khô.	Cố định các thành phần trên tiêu bản.	Khô tự nhiên. Tránh bụi, tránh côn trùng ăn.
8	Thu dọn và xử lý chất thải	Bảo vệ người làm XN và môi trường	Sạch và đúng yêu cầu

1.3. Các bước cần lưu ý

1.4. Tổ chức thực hiện

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành Huyết học
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

1.5. Lượng giá: bảng bảng kiểm

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT LÀM TIÊU BẢN GIỌT MÁU ĐÀN

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá	
			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu bệnh phẩm và chỉ định xét nghiệm	Kiểm tra, đối chiếu họ tên, tuổi, mã số, khoa		
4	Lắc ống nghiệm máu	Lắc trộn đều va nhẹ nhàng		
5	Lấy máu đặt lên lam kính	Nhỏ 1 giọt máu có lượng máu khoảng 2-3 µl		

6	Kéo tiêu bản giọt đàn	Đặt lam kéo tiếp xúc với giọt máu để máu lan đều khắp cạnh lam kéo và đặt lam kéo và lam kính một góc 30- 45 ^o đẩy đều tay về cuối lam kính để dàn máu.		
7	Đề giọt máu khô.	Khô tự nhiên. Tránh bụi, tránh côn trùng ăn.		
8	Thu dọn và xử lý chất thải	Sạch và đúng yêu cầu		

2. Kỹ thuật nhuộm Giem sa tiêu bản giọt máu đàn

2.1. Chuẩn bị

- Dụng cụ:
- + Giá nhuộm, giá cài
- + Ống đong pha thuốc nhuộm
- + Pipet
- + Cồn tuyệt đối
- Hóa chất
- + Dung dịch đệm và dung dịch điều chỉnh
- + Dung dịch giem sa cốt
- Bệnh phẩm: tiêu bản giọt đàn đạt yêu cầu

2.2. Các bước tiến hành

QUY TRÌNH KỸ THUẬT NHUỘM TIÊU BẢN GIỌT MÁU ĐÀN

TT	Nội dung	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	An toàn cho người làm xét nghiệm	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Giúp tiến hành kỹ thuật được thuận lợi.	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân
3	Thực hiện kiểm tra đối chiếu tiêu bản và chỉ định xét nghiệm	Tránh nhầm lẫn bệnh nhân.	Kiểm tra, đối chiếu họ tên, tuổi, mã số, khoa
4	Điều chỉnh pH dung dịch đệm	Trộn đều các tế bào máu	Đo pH bằng giấy quỳ hoặc máy đo pH có pH 7,2. Nếu

			pH kiềm điều chỉnh bằng dung dịch acid, dung dịch đệm acid điều chỉnh bằng dung dịch kiềm
5	Cố định tiêu bản giọt đàn	Giữ nguyên hình dạng tế bào máu	Cố định bằng cồn tuyệt đối
6	Pha dung dịch thuốc nhuộm giem sa	Tế bào máu bắt màu đẹp và không có cặn	Pha dung dịch giem sa 10%
7	Nhỏ thuốc nhuộm lên tiêu bản giọt đàn	Đủ thời gian để tế bào máu bắt màu	Thời gian 10 đến 15 phút
8	Rửa tiêu bản	Tiêu bản sạch không có cặn	Rửa tiêu bản dưới vòi nước, để nước đầy thuốc nhuộm cho đến khi nước trong mới nghiêng tiêu bản.
9	Để khô	Tiêu bản không bong khi soi	Khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng
10	Nhận định kết quả	Quan sát chính xác các tế bào máu	Quan sát kính hiển vi vật kính x100: Tiêu bản sạch, hồng cầu bắt màu xanh hồng, bạch cầu nhân bắt màu tím sẫm, các hạt đặc hiệu của bạch cầu bắt màu đúng
11	Thu dọn và xử lý chất thải	Bảo vệ người làm XN và môi trường	Sạch và đúng yêu cầu

2.3. Nhận định kết quả

2.4. Tổ chức dạy học

- Dạy học trực tiếp tại Phòng thực hành
- Giảng viên hướng dẫn thực hành dựa trên quy trình kỹ thuật và bảng kiểm
- Sinh viên thực hành theo nhóm, lần lượt thực hiện quy trình kỹ thuật

2.5. Lượng giá:

BẢNG KIỂM KỸ THUẬT NHUỘM TIÊU BẢN GIỌT MÁU ĐÀN

TT	Nội dung	Tiêu chuẩn	Đánh giá
----	----------	------------	----------

			Đạt	Không đạt
1	Mặc áo Blu, đội mũ, đi găng tay, đeo khẩu trang y tế	Trang phục đầy đủ và đúng theo yêu cầu.		
2	Chuẩn bị dụng cụ và phương tiện hóa chất	Bình thủy tinh, ống đong, pipet, cốc có mỏ Cân phân tích, giấy cân		
3	Thực hiện kiểm tra đôi chiếu tiêu bản và chỉ định xét nghiệm	Kiểm tra, đôi chiếu họ tên, tuổi, mã số, khoa		
4	Điều chỉnh pH dung dịch đệm	Đo pH bằng giấy quỳ hoặc máy đo pH có pH 7,2. Nếu pH kiểm điều chỉnh bằng dung dịch acid, dung dịch đệm acid điều chỉnh bằng dung dịch kiềm		
5	Cố định tiêu bản giọt đàn	Cố định bằng cồn tuyệt đối		
6	Pha dung dịch thuốc nhuộm giem sa	Pha dung dịch giem sa 10%		
7	Nhỏ thuốc nhuộm lên tiêu bản giọt đàn	Thời gian 10 đến 15 phút		
8	Rửa tiêu bản	Rửa tiêu bản dưới vòi nước, để nước chảy thuốc nhuộm cho đến khi nước trong mới nghiêng tiêu bản.		
9	Để khô	Khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng		
10	Nhận định kết quả	Tiêu bản sạch, hồng cầu bắt màu xanh hồng, bạch cầu nhân bắt màu tím sẫm, các hạt đặc hiệu của bạch cầu bắt màu đúng		
11	Thu dọn và xử lý chất thải	Sạch và đúng yêu cầu		

BÀI 19. THỰC HÀNH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN KÍNH HIỂN VI QUANG HỌC

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

1. Thực hiện được quy trình sử dụng kính hiển vi quang học với vật kính x10, x 40, x 100.
2. Bảo quản được kính hiển vi.
3. Thực hiện được các quy trình sử dụng và bảo quản kính hiển vi quang học tại phòng thực hành của trường.

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

4. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
5. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

- Quan sát hình thể trong và ngoài của vi ký sinh vật có kích thước nhỏ, tế bào và các thành phần khác dưới kính hiển vi quang học có thị kính, vật kính là những thấu kính hội tụ có khả năng phóng đại hình ảnh từ 40-1000 lần. Kính hiển vi quang học sử dụng đèn điện là phương tiện không thể thiếu trong xét nghiệm nói chung và xét nghiệm vi sinh, ký sinh trùng nói riêng. Kính hiển vi có chất lượng tốt cần yêu cầu bảo quản phần quang gồm thị kính, vật kính, tụ quang, màn chắn sáng, lọc sáng cho phép cán bộ xét nghiệm tìm và nhận định đúng, nhanh, hiệu quả các vi ký sinh vật gây bệnh.

2. Chuẩn bị

Thiết bị, dụng cụ:

- Kính hiển vi
- Nguồn điện
- Tiêu bản
- khay để tiêu bản

Hóa chất và môi trường

- Dầu soi
- Cồn tuyệt đối

3. Tiến hành

3.1. Sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x10

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
2	Lấy ánh sáng thích hợp.
3	Xoay vật kính x10 về vị trí làm việc.
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến mức tối đa.
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.
8	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.
9	Đỡ kính hiển vi về tư thế nghỉ sau khi sử dụng
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

3.2. Sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x40

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
2	Lấy ánh sáng thích hợp.
3	Xoay vật kính x40 về vị trí làm việc.
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi tiêu bản và vật kính sát nhau
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.
8	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.
9	Đỡ kính về tư thế nghỉ sau khi sử dụng
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

3.3. Sử dụng kính hiển vi quang học vật kính dầu (x100)

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
2	Lấy ánh sáng thích hợp.
3	Xoay vật kính x100 về vị trí làm việc.
4	Nhỏ dầu lên tiêu bản
5	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.
6	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi vật kính chạm giọt dầu
7	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài nâng từ từ mâm kính lên đến khi thấy vi trường thì dừng lại.
8	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.
9	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.
10	Đỡ kính về tư thế nghỉ sau khi sử dụng
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

4. Nhận định kết quả

- Kính nên để ở một vị trí cố định và hạn chế di chuyển làm rơi vỡ. Chỉ bật đèn sử dụng khi cần thiết để giữ tuổi thọ cho bóng đèn.
- Khi nâng ốc đại cấp lên phải nhìn vào mâm kính để tránh việc nâng quá làm vỡ tiêu bản hoặc hỏng đầu vật kính. Khi xoay ốc đại cấp hoặc vĩ cấp phải xoay đều tay ở cả 2 bên tránh làm hỏng gen chỉnh ốc.
- Luôn luôn vệ sinh kính, bảo quản kính hiển vi tránh bụi bẩn.
- Rửa tay trước và sau khi dùng kính để tránh nguy cơ lây nhiễm, chú ý đảm bảo an toàn cho người thực hiện và môi trường.

5. Tổ chức thực hiện

- Chia nhóm ra thực hiện
- Mỗi SV sẽ thực hiện 1 số bước của quy trình, các SV khác quan sát theo bảng kiểm.
- Chỉ tiêu giao theo nhóm

LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x10

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Lấy ánh sáng thích hợp.				
3	Xoay vật kính x10 về vị trí làm việc.				
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.				
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến mức tối đa.				
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.				2
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.				
8	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dích dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.				2
9	Đề kính hiển vi về tư thế nghỉ sau khi sử dụng				2
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

2. Thang điểm sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x40

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Lấy ánh sáng thích hợp.				

3	Xoay vật kính x40 về vị trí làm việc.				
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyên đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.				
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi tiêu bản và vật kính sát nhau				
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.				2
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.				
8	Một tay điều chỉnh xa chuyên, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.				2
9	Đề kính hiển vi về tư thế nghỉ sau khi sử dụng				2
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

3. Thang điểm sử dụng kính hiển vi quang học vật kính dầu (x100)

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Lấy ánh sáng thích hợp.				
3	Xoay vật kính x100 về vị trí làm việc.				
4	Nhỏ dầu lên tiêu bản				
5	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyên đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.				
6	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi vật kính chạm giọt dầu				
7	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra				2

	ngoài nâng từ từ mâm kính lên đến khi thấy vi trường thì dừng lại.				
8	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.				
9	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dích dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.				
10	Đặt kính về tư thế nghỉ sau khi sử dụng				2
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

CÁC PHỤ LỤC

1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x10

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: - Kính hiển vi - Nguồn điện - Tiêu bản - Khay để tiêu bản
2	Lấy ánh sáng thích hợp.	Ánh sáng được lấy phù hợp với vật kính sử dụng	Vật kính 10 cần ánh sáng tối thiểu đủ nhìn: Mức ánh sáng thấp, tụ quang hạ thấp, màn chắn sáng đóng gần hết
3	Xoay vật kính x10 về vị trí làm việc.	Vật kính sẵn sàng	Xoay đúng vật kính, vật kính về đúng phương thẳng đứng
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa	Tiêu bản được cố định trên mâm kính	Tiêu bản được đặt lên mâm kính, giữ chắc chắn, phần bệnh phẩm được đưa vào vị trí quan sát

	mâm kính.		
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến mức tối đa.	Tiêu bản được nâng lên chuẩn bị cho lấy vi trường	Mâm kính được nâng đến giới hạn trên
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.	Lấy vi trường	Lấy được vi trường
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.	Lấy hình ảnh rõ nét	Hình ảnh rõ nét hiển thị qua thị kính
8	Một tay điều chỉnh xa chuyên, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.	Tìm hình ảnh cần quan sát	Tìm được hình ảnh cần quan sát
9	Đề kính hiển vi về tư thế nghỉ sau khi sử dụng	Kính hiển vi về tư thế nghỉ khi kết thúc	Đèn ở mức tối thiểu, tắt đèn Mâm kính hạ, lấy tiêu bản ra tụ quang hạ thấp, đóng chắn sáng Vật kính xoay trượt khỏi rãnh
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 2. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x40

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: Kính hiển vi Nguồn điện Tiêu bản Khay để tiêu bản
2	Lấy ánh sáng thích hợp.	Ánh sáng được lấy phù hợp với vật kính sử dụng	Vật kính 40 cần ánh sáng tối thiểu đủ nhìn: Mức ánh sáng thấp, tụ quang hạ thấp, màn chắn sáng đóng gần hết
3	Xoay vật kính x40 về vị trí làm việc.	Vật kính sẵn sàng	Xoay đúng vật kính, vật kính về đúng phương thẳng đứng
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyên đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.	Tiêu bản được cố định trên mâm kính	Tiêu bản được đặt lên mâm kính, giữ chắc chắn, phần bệnh phẩm được đưa vào vị trí quan sát
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi tiêu bản và vật kính sát nhau	Tiêu bản được nâng lên chuẩn bị cho lấy vi trường	Mâm kính được nâng đến mức sát với vật kính
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.	Lấy vi trường	Lấy được vi trường
7	Điều chỉnh ánh sáng	Lấy hình ảnh rõ nét	Hình ảnh rõ nét hiển thị qua

	và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.		thị kính
8	Một tay điều chỉnh xa chuyên, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.	Tìm hình ảnh cần quan sát	Tìm được hình ảnh cần quan sát
9	Đề kính về tư thế nghỉ sau khi sử dụng	Kính hiển vi trở về tư thế nghỉ khi kết thúc	Đèn ở mức tối thiểu, tắt đèn Mâm kính hạ, lấy tiêu bản ra Tụ quang hạ thấp, đóng chắn sáng Vật kính xoay trượt khỏi rãnh Lau vật kính bằng khăn mềm, khô sạch và lau lại bằng cồn
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 3. Quy trình sử dụng kính hiển vi quang học vật kính dầu (x100)

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: Kính hiển vi Nguồn điện Tiêu bản Khay để tiêu bản
2	Lấy ánh sáng thích hợp.	Ánh sáng được lấy phù hợp với vật kính sử dụng	Vật kính dầu cần ánh sáng tối đa: Mức ánh sáng cao, tụ quang nâng lên, màn chắn sáng mở hết
3	Xoay vật kính x100 về vị trí làm việc.	Vật kính sẵn sàng	Xoay đúng vật kính, vật kính về đúng phương thẳng

			đứng
4	Nhỏ dầu lên tiêu bản	Tiêu bản được nhỏ dầu	Nhỏ đúng 1 giọt dầu soi kính lên phần bệnh phẩm trên tiêu bản
5	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.	Tiêu bản được cố định trên mâm kính	Tiêu bản được đặt lên mâm kính, giữ chắc chắn, phần bệnh phẩm có dầu soi được đưa vào vị trí quan sát
6	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi vật kính chạm giọt dầu	Tiêu bản được nâng lên chuẩn bị cho lấy vi trường	Mâm kính được nâng đến khi vật kính chạm giọt dầu
7	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài nâng từ từ mâm kính lên đến khi thấy vi trường thì dừng lại.	Lấy vi trường	Lấy được vi trường
8	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.	Lấy hình ảnh rõ nét	Hình ảnh rõ nét hiển thị qua thị kính
9	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dích dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.	Tìm hình ảnh cần quan sát	Tìm được hình ảnh cần quan sát
10	Đề kính về tư thế nghỉ sau khi sử dụng	Kính hiển vi trở về tư thế nghỉ khi kết thúc	Đèn ở mức tối thiểu, tắt đèn Mâm kính hạ, lấy tiêu bản ra Tụ quang hạ thấp, đóng chắn sáng Vật kính xoay trượt khỏi

			rãnh Lau vật kính bằng khăn mềm, khô sạch và lau lại bằng cồn Thấm hoặc lau dầu trên tiêu bản.
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

2. Bảng kiểm

Phụ lục 1 Bảng kiểm sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x10

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng		
2	Lấy ánh sáng thích hợp.		
3	Xoay vật kính x10 về vị trí làm việc.		
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.		
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến mức tối đa.		
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.		
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.		
8	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.		
9	Đỡ kính hiển vi về tư thế nghỉ sau khi sử dụng		
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

Phụ lục 2. Bảng kiểm sử dụng kính hiển vi quang học vật kính x40

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

2	Lấy ánh sáng thích hợp.		
3	Xoay vật kính x40 về vị trí làm việc.		
4	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.		
5	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi tiêu bản và vật kính sát nhau		
6	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài hạ từ từ mâm kính xuống đến khi thấy vi trường thì dừng lại.		
7	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vĩ cấp để lấy hình ảnh rõ nét.		
8	Một tay điều chỉnh xa chuyển, một tay điều chỉnh ốc vĩ cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.		
9	Đỡ kính hiển vi về tư thế nghỉ sau khi sử dụng		
10	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

Phụ lục 3. Bảng kiểm sử dụng kính hiển vi quang học vật kính dầu (x100)

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng		
2	Lấy ánh sáng thích hợp.		
3	Xoay vật kính x100 về vị trí làm việc.		
4	Nhỏ dầu lên tiêu bản		
5	Đặt tiêu bản lên mâm kính, dùng kẹp để giữ tiêu bản, điều chỉnh xa chuyển đưa tiêu bản vào giữa mâm kính.		
6	Mắt nhìn vào tiêu bản, tay vặn ốc vĩ cấp vào trong nâng mâm kính lên đến khi vật kính chạm giọt dầu		
7	Mắt nhìn vào thị kính, tay vặn ốc vĩ cấp ra ngoài nâng từ từ mâm kính lên đến khi thấy vi trường thì dừng lại.		

8	Điều chỉnh ánh sáng và ốc vi cấp để lấy hình ảnh rõ nét.		
9	Một tay điều chỉnh xa chuyên, một tay điều chỉnh ốc vi cấp di chuyển tiêu bản theo đường “dịch dắc” để tìm các hình ảnh cần quan sát.		
10	Đặt kính về tư thế nghỉ sau khi sử dụng		
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

BÀI 20. THỰC HÀNH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN THIẾT BỊ MÁY MÓC TRONG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

1. Vận hành được nồi hấp ướ́t, tủ sấy, tủ ấ́m, tủ bảo quản hóa chất (tủ lạnh), tủ an toàn sinh học cấp 2 theo đúng quy trình.
2. Bảo quản được nồi hấp ướ́t, tủ sấy, tủ ấ́m, tủ bảo quản hóa chất (tủ lạnh), tủ an toàn sinh học cấp 2.
3. Thực hiện được các quy trình sử dụng và bảo quản thiết bị máy móc trong phòng xét nghiệm tại phòng thực hành của trường.

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

4. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
5. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG:

1. Nguyên tắc

- Các tranh thiết bị máy móc trong phòng xét nghiệm trong đó có tủ ấ́m, tủ lạnh, nồi hấp, tủ sấy, tủ an toàn sinh học đóng vai trò quang trọng trong việc vận hành triển khai và đảm bảo chất lượng các kỹ thuật xét nghiệm. Máy móc trang thiết bị được sử dụng và bảo quản đúng quy định, có chất lượng tốt góp phần đảm bảo an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm.

2. Chuẩn bị

- Thiết bị, dụng cụ:

- + Tủ ấ́m, tủ lạnh, tủ sấy, tủ ATSH
- + Nồi hấp
- + Ống nghiệm, đĩa petri
- + Đèn cồn, que cấy
- + Lam kính khô sạch
- + Giấy gói
- + Bông không thấm nước
- + Giấy thấm
- + Găng tay, khẩu trang

- Hóa chất và môi trường

- + Cồn 70o
- + Chủng vi khuẩn

Môi trường

3. Tiến hành

3.1. Sử dụng nồi hấp

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ
4	Đổ nước vào nồi
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp
8	Mở van xả hơi
9	Kiểm tra van an toàn
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi
12	Theo dõi đồng hồ áp suất
13	Khi hấp xong rút phích điện
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ
16	Tháo nước
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay

3.2. Sử dụng tủ ẩm

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

3.3. Sử dụng tủ sấy

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
2	Xếp dụng cụ vào các ngăn
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ

4	Đóng cửa tủ
5	Cắm điện
6	Điều chỉnh nhiệt độ ở 180°C
7	Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt 180°C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy.
8	Sau khi sấy xong, tắt điện (rút phích điện)
9	Khi nhiệt độ xuống 40°C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra.
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

3.4. Sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

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

3.5. Sử dụng tủ lạnh

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
2	Xếp các nguyên liệu cần lưu trữ vào các ngăn phù hợp
3	Xoay núm điều chỉnh nhiệt độ về số cần thiết
4	Đóng cửa tủ
5	Cắm điện
6	Khi lấy các nguyên liệu ra khỏi tủ phải ngắt điện (rút phích điện)
7	Thu dọn và xử lý dụng cụ
8	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

4. Nhận định kết quả

- Bệnh phẩm có nguy cơ lây nhiễm nên thao tác chuẩn bị cần được chú ý để đảm bảo an toàn cho người thực hiện và môi trường.
- Thao tác vô trùng cần được thực hiện đúng để đảm bảo không lây nhiễm chéo và hạn chế khả năng phơi nhiễm.

- Phải ghi chép, báo cáo sự cố với yêu cầu kịp thời, đúng và đủ thông tin.

5. Tổ chức thực hiện

- Chia nhóm ra thực hiện.

- Mỗi SV sẽ thực hiện 1 số bước của quy trình, các SV khác quan sát theo bảng kiểm.

- Chỉ tiêu giao theo nhóm.

LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm sử dụng nồi hấp

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng				
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp				2
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ				
4	Đổ nước vào nồi				
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi				
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp				2
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp				
8	Mở van xả hơi				2
9	Kiểm tra van an toàn				2
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành				
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi				
12	Theo dõi đồng hồ áp suất				
13	Khi hấp xong rút phích điện				
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi				2
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ				2
16	Tháo nước				
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

2. Thang điểm sử dụng tủ ấm

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

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

3. Thang điểm sử dụng tủ sấy

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

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

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

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm				2
3	Đóng cửa tủ. Bật đèn UV 30 phút, rồi tắt				
4	Bật đèn và tiến hành các kỹ thuật trong khoang tủ				2
5	Sau khi sử dụng, lấy hết dụng cụ ra ngoài				2
6	Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm				2
7	Đóng cửa tủ. Bật đèn UV trong 30 phút				
8	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
9	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

5. Thang điểm sử dụng tủ lạnh

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng				
2	Xếp các nguyên liệu cần lưu trữ vào các ngăn phù hợp				2
3	Xoay núm điều chỉnh nhiệt độ về số cần thiết				
4	Đóng cửa tủ				
5	Cắm điện				
6	Khi lấy các nguyên liệu ra khỏi tủ phải ngắt điện				2
7	Thu dọn dụng cụ, rửa tay				
8	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

CÁC PHỤ LỤC

1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình sử dụng nồi hấp

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp dụng cụ
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp	Sẵn sàng dụng cụ để tiến hành kỹ thuật	Sắp xếp dụng cụ phù hợp, đủ khoảng cách giữa các dụng cụ với nhau
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ	Kiểm tra nhiệt độ tại thời điểm hiện tại	Kiểm tra được nhiệt độ
4	Đổ nước vào nồi	Có đủ lượng nước trong suốt quá trình hấp dụng cụ	Lượng nước vừa đủ ngập may so không ngập kiềng
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi	Để dụng cụ xếp ngăn nắp	Thùng được đặt đúng chiều, không bị nghiêng
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp	Ngăn áp suất nhiệt độ trong nồi thoát ra	Nắp nồi khóa vừa đủ chặt
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp	Cài đặt nhiệt độ và áp suất điện ra trong khoảng thời gian phù hợp để tiệt trùng dụng cụ	Đặt thời gian, áp suất và nhiệt độ phù hợp với yêu cầu sử dụng
8	Mở van xả hơi	Van xả hơi được mở	Van xả hơi được mở hết
9	Kiểm tra van an toàn	Van an toàn để thoát khí khi áp suất trong nồi quá cao	Van an toàn còn hoạt động
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành	Cung cấp nguồn điện để nồi hoạt động	Nồi hấp sáng đèn, bắt đầu vận hành
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi	Đảm bảo nồi hấp vận hành bình thường	Có hơi nước bay ra, đóng van đúng kỹ thuật
12	Theo dõi đồng hồ áp suất	Theo dõi trong quá trình nồi hoạt động để đảm bảo quá trình diễn ra bình thường	Áp suất đủ

13	Khi hấp xong rút phích điện	Ngừng quá trình hoạt động của tủ	An toàn, đúng kĩ thuật
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi	Đưa áp suất trong nồi về 0 A, đảm bảo an toàn	Khi áp suất về 0, chờ đủ thời gian mới mở nắp nồi
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ	Thùng dụng cụ được lấy ra	Lấy thùng dụng cụ ra, không bị đổ ra ngoài
16	Tháo nước	Giúp nồi khô sạch, sẵn sàng cho phiên làm việc tiếp theo	Tháo hết nước
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay	Dụng cụ được sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng. Bàn tay sạch sau khi hoàn thành nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 2. Quy trình sử dụng tủ ấm

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng	Thiết bị đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: Dụng cụ Hóa chất Bệnh phẩm
2	Cắm điện	Cung cấp nguồn điện cho tủ vận hành	Đèn tủ sáng, báo vào điện
3	Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng	Tạo ra môi trường ổn định để nuôi cấy vi khuẩn	Nhiệt độ được điều chỉnh ở 37°C hoặc mức nhiệt theo yêu cầu nuôi cấy
4	Đặt chủng/môi trường hay hóa chất vào tủ	Chủng/ môi trường hay hóa chất được đặt vào tủ	Chủng/ môi trường hay hóa chất được sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng bên trong tủ
5	Đóng cửa tủ	Giúp quá trình cung cấp nhiệt được diễn ra	Đóng đủ chặt
6	Theo dõi nhiệt độ	Giúp giữ được nhiệt độ ổn	Đảm bảo nhiệt độ được

		định	duy trì đúng, nếu có sai lệch thì điều chỉnh kịp thời
7	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
8	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 3. Quy trình sử dụng tủ sấy

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

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

Phụ lục 4. Quy trình sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng	Thiết bị đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác dễ dàng, thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng
2	Khử trùng tủ bằng cồn 70° và lau bằng giấy thấm	khử trùng sạch tủ để chuẩn bị làm nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định
3	Đóng cửa tủ. Bật đèn UV 30 phút, rồi tắt	Tia UV diệt trùng ở bước sóng chính xác, chiếu xạ vào môi trường làm việc giúp khoang sạch hơn	Đủ thời gian và đúng quy trình
4	Bật đèn và tiến hành các kỹ thuật trong khoang tủ	Chiếu sáng và thực hiện kỹ thuật bên trong tủ	Đèn được bật Thực hiện được các kỹ thuật trong tủ
5	Sau khi sử dụng, lấy hết dụng cụ ra ngoài	Lấy dụng cụ mang đi xử lý và chuẩn bị cho phiên làm việc tiếp theo	Không còn dụng cụ trong khoang tủ
6	Khử trùng tủ bằng cồn	Khử trùng sạch tủ để	Sạch và đúng quy

	70° và lau bằng giấy thấm	chuẩn bị cho phiên làm việc tiếp theo	trình
7	Đóng cửa tủ, bật đèn UV trong 30 phút	Khử trùng bằng tia UV	Đủ thời gian và đúng quy trình
8	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ ngăn nắp, gọn gàng.	An toàn, đúng quy định
9	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 5. Quy trình sử dụng tủ lạnh

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: Dụng cụ Hóa chất Bệnh phẩm
2	Xếp các nguyên liệu cần lưu trữ vào các ngăn phù hợp	Khí lạnh dễ dàng tiếp xúc với các nguyên liệu	Không để quá nhiều nguyên liệu vào tủ lạnh cùng một lúc làm quá công suất của tủ
3	Xoay núm điều chỉnh nhiệt độ về số cần thiết	Giúp kiểm tra nhiệt độ thực tế trong quá trình vận hành tủ	Thực hiện đúng
4	Đóng cửa tủ	Tránh trường hợp nhiệt độ thoát ra ngoài làm không đủ nhiệt để làm lạnh nguyên liệu	Cửa tủ được đóng chặt
5	Cắm điện	Đảm bảo nguồn điện vào tủ lạnh đúng điện thế, công suất cho quá trình tủ hoạt động	Tủ có điện
6	Khi lấy các nguyên liệu ra khỏi tủ phải ngắt điện (rút phích điện)	Tủ lạnh được ngắt điện khi kết thúc quá trình vận hành	Tủ lạnh được ngắt điện

7	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý, sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng	An toàn, đúng quy định
8	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch sau khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

2. Bảng kiểm

Phụ lục 1. Bảng kiểm sử dụng nồi hấp

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng		
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp		
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ		
4	Đổ nước vào nồi		
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi		
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp		
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp		
8	Mở van xả hơi		
9	Kiểm tra van an toàn		
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành		
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi		
12	Theo dõi đồng hồ áp suất		
13	Khi hấp xong rút phích điện		
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi		
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ		
16	Tháo nước		
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay		

Phụ lục 2. Bảng kiểm sử dụng tủ ẩm

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng		
2	Cắm điện		

3	Điều chỉnh nhiệt độ ổn định trước khi sử dụng		
4	Đặt chủng/môi trường hay hóa chất vào tủ		
5	Đóng cửa tủ		
6	Theo dõi nhiệt độ		
7	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
8	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

Phụ lục 3. Bảng kiểm sử dụng tủ sấy

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

Phụ lục 4. Bảng kiểm sử dụng tủ an toàn sinh học cấp 2

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

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

Phụ lục 5. Bảng kiểm sử dụng tủ lạnh

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng		
2	Xếp các nguyên liệu cần lưu trữ vào các ngăn phù hợp		
3	Xoay núm điều chỉnh nhiệt độ về số cần thiết		
4	Đóng cửa tủ		
5	Cắm điện		
6	Khi lấy các nguyên liệu ra khỏi tủ phải ngắt điện		
7	Thu dọn dụng cụ, rửa tay		
8	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn.		

BÀI 21. MỘT SỐ KỸ THUẬT NHUỘM THƯỜNG DÙNG TRONG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

1. Thực hiện được các kỹ thuật nhuộm Xanh methylen, Gram, Ziehl Neelsen theo đúng quy trình.
2. Nhận định đúng kết quả nhuộm Xanh methylen, Gram, Ziehl Neelsen trong một số tình huống.

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

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

- **Nguyên tắc nhuộm Ziehl – Neelsen:** Phương pháp nhuộm Ziehl - Neelsen sử dụng 2 hoá chất nhuộm màu là carbol fuchsin và xanh methylen kết hợp với chất tẩy màu (hỗn hợp acid-alcohol) để phát hiện các trực khuẩn kháng cồn kháng acid (thường gặp là Mycobacteria hay còn gọi là trực khuẩn lao)

- **Nguyên tắc nhuộm xanh methylen:** Thuốc nhuộm xanh Methylen là thuốc nhuộm cation mang điện tích dương, màng tế bào của vi khuẩn mang điện tích âm. Vì vậy khi cho thuốc nhuộm gây ra hiện tượng bắt màu do sự kết hợp của hai loại điện tích trái dấu.

2. Chuẩn bị

- Thiết bị, dụng cụ:

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

- Hóa chất và môi trường:

- + Thuốc nhuộm tím Gentian.
- + Dung dịch lugol.
- + Cồn tuyệt đối.
- + Thuốc nhuộm đỏ Fucsin.
- + Dung dịch cồn acid.
- + Thuốc nhuộm xanh methylen.

- Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn hoặc tiêu bản Lao dương tính đã được cố định.

3. Tiến hành

3.1. Kỹ thuật nhuộm Gram

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

3.2. Kỹ thuật nhuộm Ziehl – Neelsen

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm
3	Cố định tiêu bản bằng nhiệt
4	Nhuộm màu đỏ fucsin
5	Tẩy màu bằng cồn acid

6	Nhuộm màu xanh methylen
7	Để khô tiêu bản
8	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn
9	Nhận định kết quả và kết luận
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

3.3. Kỹ thuật nhuộm Xanh metylen

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị, thiết bị, đồ dùng
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm
3	Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm
5	Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm
6	Dàn bệnh phẩm, để khô tự nhiên
7	Cố định tiêu bản bằng nhiệt
8	Phủ thuốc nhuộm xanh methylen
9	Để khô tiêu bản
10	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn
11	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm
12	Thu dọn và xử lý dụng cụ
13	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn

4. Nhận định kết quả

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

5. Tổ chức thực hiện:

- Chia nhóm ra thực hiện.
- Mỗi SV sẽ thực hiện 1 số bước của quy trình, các SV khác quan sát theo bảng kiểm.

- Chỉ tiêu giao theo nhóm.

LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm nhuộm Gram

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm				
3	Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm				
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm				
5	Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm				
6	Khử trùng que cấy				2
7	Dàn bệnh phẩm				2
8	Để khô tự nhiên				
9	Cố định tiêu bản bằng nhiệt				
10	Nhuộm tím gentian				
11	Nhuộm lugol				
12	Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối				2
13	Nhuộm đỏ fucsin				2
14	Để khô tiêu bản				2
15	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn				
16	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm				
17	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
18	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

2. Thang điểm nhuộm Ziehl – Neelsen

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

2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm				
3	Cố định tiêu bản bằng nhiệt				
4	Nhuộm màu đỏ fucsin				2
5	Tẩy màu bằng cồn acid				2
6	Nhuộm màu xanh methylen				
7	Để khô tiêu bản				
8	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn				
9	Nhận định kết quả và kết luận				
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

3. Thang điểm nhuộm Xanh metylen

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm				
3	Kiểm tra bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm				
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm				
5	Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm				2
6	Dàn bệnh phẩm, để khô tự nhiên				2
7	Cố định tiêu bản bằng nhiệt				
8	Phủ thuốc nhuộm xanh methylen				2
9	Để khô tiêu bản				
10	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn				2
11	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm				2
12	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
13	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

CÁC PHỤ LỤC

1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình nhuộm Gram

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: - Găng tay, khẩu trang - Dung dịch sát khuẩn - Tủ ATSH, - Đèn cồn, que cấy, - Lam kính khô sạch - Bút viết kính
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm	Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp: - Thuốc nhuộm tím Gentian - Dung dịch lugol - Cồn tuyệt đối - Thuốc nhuộm đỏ Fucsin - Bệnh phẩm: Chủng vi khuẩn
3	Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm	Khớp thông tin bệnh phẩm, phiếu xét nghiệm,	Đối chiếu và kiểm tra đúng thông tin trên bệnh phẩm, phiếu xét nghiệm
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm	Lam kính được ghi số hiệu đúng với phiếu xét nghiệm	Ghi đúng số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm
5	Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm	Vùng dàn bệnh phẩm được đánh dấu	Vùng dàn bệnh phẩm được khoanh, kích thước khoảng 1,5 cm
6	Khử trùng que cấy	Que cấy được khử trùng	Đốt que cấy nóng đỏ trên ngọn lửa đèn cồn
7	Dàn bệnh phẩm	Bệnh phẩm được dàn trên tiêu bản	Bệnh phẩm được dàn đều, kín vùng,
8	Để khô tự nhiên	Tiêu bản để khô tự nhiên, chuẩn bị cho	Tiêu bản để khô tự nhiên, không đốt nóng

		bước cố định	
9	Cố định tiêu bản bằng nhiệt	Tiêu bản được cố định bằng nhiệt	Đúng kỹ thuật
10	Nhuộm tím gentian	Vi khuẩn bắt màu tím	Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 45 giây rồi rửa sạch
11	Nhuộm lugol	Giữ thuốc nhuộm tím	Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 45 giây rồi rửa sạch
12	Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối	Tẩy màu tím	Màu tím được tẩy vừa hết thì rửa nước
13	Nhuộm đỏ fucsin	Vi khuẩn bắt màu đỏ	Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 45 giây rồi rửa sạch
14	Để khô tiêu bản	Tiêu bản được để khô	Để khô tự nhiên hoặc dùng tủ ấm
15	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn	Quan sát hình thể vi khuẩn	Nhận định đúng kết quả
16	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm	Đưa ra kết quả và lưu trữ	Đúng, ghi đủ vào phiếu xét nghiệm và sổ lưu.
17	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
18	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 2. Quy trình nhuộm Ziehl – Neelsen

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

2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm	Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp: - Thuốc nhuộm đỏ Fucsin - Dung dịch cồn acid - Thuốc nhuộm xanh methylen - Bệnh phẩm: Tiêu bản Lao dương tính đã được cố định
3	Cố định tiêu bản bằng nhiệt	- Giết chết vi khuẩn, giúp vi khuẩn gắn chặt vào lam kính. - Bắt màu thuốc nhuộm tốt hơn.	- Cất tiêu bản qua ngọn lửa đèn cồn 3 lần. - Thử nhiệt độ tiêu bản trên mu bàn tay, nếu thấy hơi ấm là đạt
4	Nhuộm màu đỏ fucsin	Vi khuẩn bắt màu thuốc nhuộm đỏ fucsin	- Phủ đầy dung dịch carbol fuchsin lên mặt tiêu bản đã được cố định. - Hơ nóng trên ngọn lửa đèn cồn đến khi bốc hơi nhưng không sôi) 3 lần. - Để nguội tự nhiên trong 5 phút. - Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ.
5	Tẩy màu bằng cồn acid	Tẩy sạch màu đỏ của thuốc nhuộm đỏ fucsin.	- Phủ đầy dung dịch Acid-alcohol 3% lên bề mặt tiêu bản cho đến khi phai hết màu đỏ. - Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ.
6	Nhuộm màu xanh methylen	Vi khuẩn bắt màu thuốc nhuộm xanh methylen	- Phủ dung dịch xanh Methylen trong 1-2 phút. - Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ
7	Để khô tiêu bản	Tiêu bản được để khô	Để khô tự nhiên hoặc dùng tủ ẩm

8	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn	Quan sát được hình thể vi khuẩn	Nhận định đúng kết quả
9	Nhận định kết quả và kết luận	Đưa ra kết quả	Kết luận bộ thuốc nhuộm và các điều kiện có đạt tiêu chuẩn về chất lượng hay không.
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

Phụ lục 3. Quy trình nhuộm Xanh metylen

STT	Các bước tiến hành	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị, thiết bị, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi.	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp các mục: Mũ, găng tay, khẩu trang Dung dịch sát khuẩn Tủ ATSH Que cấy Lam kính khô sạch Bút viết kính Giá nhuộm, giá cắm, đồng hồ, xô can
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm	Hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm sẵn sàng, giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp: Thuốc nhuộm xanh methylen Bệnh phẩm: Mủ, dịch, đờm
3	Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm	Khớp thông tin bệnh phẩm, phiếu xét nghiệm	Đối chiếu và kiểm tra đúng thông tin trên bệnh phẩm, phiếu xét nghiệm
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm	Lam kính được ghi số hiệu đúng với phiếu xét nghiệm	Ghi đúng số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm
5	Đánh dấu vùng dàn	Vùng dàn bệnh phẩm	Đúng kỹ thuật

	bệnh phẩm	được đánh dấu	
6	Dàn bệnh phẩm, để khô tự nhiên	Bệnh phẩm được dàn, để khô tự nhiên	Đúng kỹ thuật
7	Cố định tiêu bản bằng nhiệt	Tiêu bản được cố định bằng nhiệt	Đúng kỹ thuật
8	Phủ thuốc nhuộm xanh methylen	Vi khuẩn bắt màu xanh	Thuốc nhuộm phủ kín vùng dàn, để đủ 3 phút rồi rửa sạch
9	Để khô tiêu bản	Tiêu bản được để khô	Để khô tự nhiên hoặc dùng tủ ẩm
10	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn	Quan sát hình thể vi khuẩn	Nhận định đúng kết quả
11	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm	Đưa ra kết quả và lưu trữ	Đúng, ghi đủ vào phiếu xét nghiệm và sổ lưu
12	Thu dọn và xử lý dụng cụ	Dụng cụ được thu dọn và xử lý	An toàn, đúng quy định Có sử dụng dung dịch diệt khuẩn
13	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn	Bàn tay sạch khi kết thúc nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

2. Bảng kiểm

Phụ lục 1. Bảng kiểm nhuộm Gram

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng		
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm		
3	Kiểm tra Bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm		
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm		
5	Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm		
6	Khử trùng que cấy		
7	Dàn bệnh phẩm		
8	Để khô tự nhiên		
9	Cố định tiêu bản bằng nhiệt		
10	Nhuộm tím gentian		

11	Nhuộm lugol		
12	Tẩy màu bằng cồn tuyệt đối		
13	Nhuộm đỏ fucsin		
14	Để khô tiêu bản		
15	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn		
16	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm		
17	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
18	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

Phụ lục 2. Bảng kiểm nhuộm Ziehl – Neelsen

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng		
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm		
3	Cố định tiêu bản bằng nhiệt		
4	Nhuộm màu đỏ fucsin		
5	Tẩy màu bằng cồn acid		
6	Nhuộm màu xanh methylen		
7	Để khô tiêu bản		
8	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn		
9	Nhận định kết quả và kết luận		
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

Phụ lục 3. Bảng kiểm nhuộm Xanh methylen

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng		
2	Chuẩn bị hóa chất, môi trường, sinh bệnh phẩm		
3	Kiểm tra bệnh phẩm và phiếu xét nghiệm		
4	Ghi số hiệu lên lam kính và phiếu xét nghiệm		
5	Đánh dấu vùng dàn bệnh phẩm		
6	Dàn bệnh phẩm, để khô tự nhiên		
7	Cố định tiêu bản bằng nhiệt		
8	Phủ thuốc nhuộm xanh methylen		
9	Để khô tiêu bản		

10	Soi dưới kính hiển vi tìm vi khuẩn		
11	Nhận định, ghi kết quả xét nghiệm		
12	Thu dọn và xử lý dụng cụ		
13	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn		

BÀI 22. KỸ THUẬT TIỆT TRÙNG VÀ KHỬ TRÙNG

MỤC TIÊU

* Kỹ năng

1. Thực hiện được các quy trình khử trùng – tiệt trùng dùng trong xét nghiệm tại phòng thực hành của trường.
2. Thực hiện được các bước theo đúng quy trình kỹ thuật

* Năng lực tự chủ và chịu trách nhiệm

3. Thể hiện tác phong cẩn thận, chính xác và trung thực trong khi thực hiện kỹ thuật.
4. Nghiêm túc đánh giá chất lượng công việc sau khi hoàn thành

NỘI DUNG

1. Kiểm tra độ vô khuẩn

1.1. Kiểm tra độ vô khuẩn các dụng cụ thủy tinh

Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô được thực hiện trong tủ sấy có gắn thiết bị đối lưu không khí để đảm bảo sự phân phối nhiệt đồng đều trong toàn bộ khoang tiệt khuẩn. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt khô là sấy ở nhiệt độ tối thiểu 160 °C trong ít nhất 2 h. Có thể tiến hành tiệt khuẩn ở điều kiện nhiệt độ và thời gian khác với điều kiện chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10⁻⁶ hay nhỏ hơn.

1.2. Kiểm tra độ vô khuẩn môi trường sau pha chế

- Kiểm tra môi trường:

- + Kiểm tra còn hạn sử dụng, còn hạn mở nắp.
- + Quan sát màu sắc, tính chất của môi trường: màu vàng nhạt, khô không bị vón cục, không xuất hiện các màu bất thường như nâu, đen, vón cục..

1.3. Kiểm tra độ vô khuẩn các sinh phẩm

- Nước muối sinh lý
- Huyết tương động vật
- Tăm bông vô khuẩn

Các sinh phẩm phải có nhãn mác đầy đủ, có nguồn gốc rõ ràng và được bảo quản đúng quy định. Nếu có những dấu hiệu bất thường về sinh phẩm cần phát hiện và thay thế.

1.4. Quy trình rửa tay

Thường xuyên rửa tay bằng xà phòng dưới vòi nước chảy trong ít nhất 30 giây mỗi lần. Nếu không có xà phòng và nước sạch thì sử dụng dung dịch vệ sinh tay có chứa cồn (ít nhất 60% cồn)

- Bước 1: Làm ướt tay bằng nước và xà phòng. Chà hai lòng bàn tay vào nhau.
- Bước 2: Chà lòng bàn tay này lên mu và kẽ ngoài các ngón tay của bàn tay kia và ngược lại (5 lần).
- Bước 3: Chà hai lòng bàn tay vào nhau, miết mạnh các kẽ ngón tay (5 lần).
- Bước 4: Chà mặt ngoài các ngón tay này vào lòng bàn tay kia (5 lần).
- Bước 5: Dùng bàn tay này xoay ngón tay cái của bàn tay kia và ngược lại (5 lần)
- Bước 6: Xoay các đầu ngón tay của tay này vào lòng bàn tay kia và ngược lại.

Làm sạch tay dưới vòi nước chảy đến cổ tay và lau khô.

Chú ý: Thời gian mỗi lần rửa tay tối thiểu là một phút. Các bước 2,3,4,5 làm đi làm lại tối thiểu 5 lần.

1.5. Xử lý dụng cụ và các chất thải của phòng xét nghiệm

- Xử lý dụng cụ thủy tinh
 - Dụng cụ đã được khử nhiễm hoặc khử trùng hiệu quả bằng quy trình phù hợp chưa?
 - Nếu chưa, chúng đã được đóng gói bằng phương pháp thích hợp để tiêu hủy tại chỗ ngay hoặc chuyển sang phương cách khác có khả năng tiêu hủy?
- Xử lý chất thải của phòng xét nghiệm: là tất cả các vật liệu cần thải bỏ có liên quan đến các vi sinh vật hoặc mô động vật có khả năng gây nhiễm trùng là:
 - Vật liệu đã được khử nhiễm hoặc khử trùng hiệu quả bằng quy trình phù hợp chưa?
 - Nếu chưa, chúng đã được đóng gói bằng phương pháp thích hợp để tiêu hủy tại chỗ ngay hoặc chuyển sang phương cách khác có khả năng tiêu hủy?
 - Việc thải bỏ vật liệu đã khử nhiễm có liên quan đến bất kỳ nguy hiểm sinh học hoặc nguy hiểm khác với người thực hiện quy trình thải bỏ trực tiếp hoặc người có thể đến tiếp xúc với các vật thải bỏ ở ngoài phòng thí nghiệm hay không?

2. Chuẩn bị

- Thiết bị, dụng cụ:
 - + Tủ sấy, tủ ATSH
 - + Nồi hấp
 - + Ống nghiệm, đĩa petri

- + Đèn cồn, que cấy
- + Lam kính khô sạch
- + Giấy gói
- + Bông không thấm nước
- + Giấy thấm
- + Găng tay, khẩu trang
- Hóa chất và môi trường
 - + Cồn 70o
 - + Chủng vi khuẩn
 - + Môi trường

3. Tiến hành

3.1. Biện pháp tiệt trùng: Khí nóng khô: sử dụng tủ sấy

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

3.2. Biện pháp khử trùng: Hơi nước căng: sử dụng nồi hấp

STT	Các bước tiến hành
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ
4	Đổ nước vào nồi
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp

8	Mở van xả hơi
9	Kiểm tra van an toàn
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi
12	Theo dõi đồng hồ áp suất
13	Khi hấp xong rút phích điện
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ
16	Tháo nước
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay

4. Nhận định kết quả

- Sắp xếp mẫu trong tủ thông thoáng, đảm bảo luồng khí được lưu thông tốt. Đảm bảo độ đồng đều và chính xác nhiệt độ.
- Các dụng cụ khi xếp không được xếp sát đáy hoặc sát thành tủ và quá chặt.
- Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu giúp kiểm tra nhiệt độ thực tế trong quá trình vận hành tủ
- Kiểm tra điện trước khi sử dụng và tắt điện sau khi kết thúc quá trình vận hành để tránh rò rỉ điện hoặc chập cháy. Đảm bảo an toàn cho người thực hiện.

5. Tổ chức thực hiện

- Chia nhóm ra thực hiện
- Mỗi SV sẽ thực hiện 1 số bước của quy trình, các SV khác quan sát theo bảng kiểm.
- Chỉ tiêu giao theo nhóm

LƯỢNG GIÁ

Nội dung: Lượng giá theo mục tiêu bằng thang điểm

1. Thang điểm sử dụng tủ sấy

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị thiết bị, đồ dùng				
2	Xếp dụng cụ vào các ngăn				
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ				
4	Đóng cửa tủ				

5	Cắm điện				
6	Điều chỉnh nhiệt độ ở 180°C				2
7	Theo dõi nhiệt độ trên nhiệt kế, khi nào nhiệt độ đạt 180°C. Duy trì thời gian thích hợp với dụng cụ được sấy.				
8	Sau khi sấy xong, tắt điện (rút phích điện)				
9	Khi nhiệt độ xuống 40°C thì mở hé cửa tủ cho nguội mới lấy dụng cụ ra.				2
10	Thu dọn và xử lý dụng cụ				
11	Rửa tay bằng xà phòng diệt khuẩn				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

2. Thang điểm sử dụng nồi hấp

STT	Nội dung	Mức điểm			Hệ số
		0	1	2	
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng				
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp				2
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ				
4	Đổ nước vào nồi				
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi				
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp				2
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp				
8	Mở van xả hơi				2
9	Kiểm tra van an toàn				2
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành				
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi				
12	Theo dõi đồng hồ áp suất				
13	Khi hấp xong rút phích điện				
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi				2
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ				2

16	Tháo nước				
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay				

Điểm được quy đổi sang thang điểm 10

CÁC PHỤ LỤC

1. Quy trình

Phụ lục 1. Quy trình sử dụng tủ sấy

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

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

Phụ lục 2. Quy trình sử dụng nồi hấp

STT	Các bước thực hiện	Ý nghĩa	Tiêu chuẩn phải đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng	Thiết bị, đồ dùng sẵn sàng giúp cho thao tác kỹ thuật thuận lợi	Đầy đủ, sạch hoặc vô khuẩn, sắp xếp ngăn nắp dụng cụ
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp	Sẵn sàng dụng cụ để tiến hành kỹ thuật	Sắp xếp dụng cụ phù hợp, đủ khoảng cách giữa các dụng cụ với nhau
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ	Kiểm tra nhiệt độ tại thời điểm hiện tại	Kiểm tra được nhiệt độ
4	Đổ nước vào nồi	Có đủ lượng nước trong suốt quá trình hấp dụng cụ	Lượng nước vừa đủ ngập may so không ngập kiêng
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi	Để dụng cụ xếp ngăn nắp	Thùng được đặt đúng chiều, không bị nghiêng
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp	Ngăn áp suất nhiệt độ trong nồi thoát ra	Nắp nồi khóa vừa đủ chặt
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp	Cài đặt nhiệt độ và áp suất điện ra trong khoảng thời gian phù hợp để tiết	Đặt thời gian, áp suất và nhiệt độ phù hợp với yêu cầu sử dụng

		trùng dụng cụ	
8	Mở van xả hơi	Van xả hơi được mở	Van xả hơi được mở hết
9	Kiểm tra van an toàn	Van an toàn để thoát khí khi áp suất trong nồi quá cao	Van an toàn còn hoạt động
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành	Cung cấp nguồn điện để nồi hoạt động	Nồi hấp sáng đèn, bắt đầu vận hành
11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi	Đảm bảo nồi hấp vận hành bình thường	Có hơi nước bay ra, đóng van đúng kỹ thuật
12	Theo dõi đồng hồ áp suất	Theo dõi trong quá trình nồi hoạt động để đảm bảo quá trình diễn ra bình thường	Áp suất đủ
13	Khi hấp xong rút phích điện	Ngừng quá trình hoạt động của tủ	An toàn, đúng kỹ thuật
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi	Đưa áp suất trong nồi về 0 A, đảm bảo an toàn	Khi áp suất về 0, chờ đủ thời gian mới mở nắp nồi
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ	Thùng dụng cụ được lấy ra	Lấy thùng dụng cụ ra, không bị đổ ra ngoài
16	Tháo nước	Giúp nồi khô sạch, sẵn sàng cho phiên làm việc tiếp theo	Tháo hết nước
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay	Dụng cụ được sắp xếp ngăn nắp, gọn gàng. Bàn tay sạch sau khi hoàn thành nhiệm vụ	Sạch và đúng quy định

2. Bảng kiểm

Phụ lục 1. Bảng kiểm sử dụng tủ sấy

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

Phụ lục 2. Bảng kiểm sử dụng nồi hấp

STT	NỘI DUNG	Đánh giá	
		Đạt	Không đạt
1	Chuẩn bị dụng cụ, đồ dùng		
2	Xếp các dụng cụ vào nồi hấp		
3	Đặt hóa chất hoặc băng chỉ thị màu để kiểm tra nhiệt độ		
4	Đổ nước vào nồi		
5	Đặt thùng đựng dụng cụ vào nồi		
6	Đậy nắp nồi, vặn khóa nắp		
7	Chọn nhiệt độ, áp suất, thời gian thích hợp		
8	Mở van xả hơi		
9	Kiểm tra van an toàn		
10	Cắm điện, bật công tắc vận hành		

11	Theo dõi van xả hơi: khi thấy hơi nước bay ra, chờ 5-7 phút đóng van xả hơi		
12	Theo dõi đồng hồ áp suất		
13	Khi hấp xong rút phích điện		
14	Khi áp suất về 0 A, chờ 5 -10 phút, mở nắp nồi		
15	Lấy thùng dụng cụ ra từ từ		
16	Tháo nước		
17	Thu dọn dụng cụ, rửa tay		

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trường Đại học Y Hà Nội, 2007, Vi sinh y học, NXB Y học.
2. Trường Đại học Y Hà Nội, 2007, Bài giảng Ký sinh trùng y học, NXB Y học.
3. Bộ Y tế, 2008, Vi sinh vật học, NXB Y học.
4. Bộ Y tế, 2009, Ký sinh trùng y học, NXB Y học.
5. Trần Văn Bé và CS (2003), Huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
6. Đại học Y Hà Nội (2012), Bài giảng Huyết học - Truyền máu, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
7. Nguyễn Nghiêm Luật và CS (2003), Thực tập hóa sinh, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
8. Đỗ Trung Phần và CS (2009), Tái bản bổ sung cuốn Xét nghiệm huyết học truyền máu, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.