

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B (HBsAg)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/7

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3 - 4
6. Trang thiết bị và vật tư.....	4 - 5
7. Kiểm tra chất lượng.....	5
8. An toàn	5
9. Nội dung thực hiện.....	5
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	5 - 6
11. Lưu ý (cảnh báo)	6
12. Lưu trữ hồ sơ.....	6 - 7
13. Tài liệu liên quan.....	7
14. Tài liệu tham khảo	7

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B (HBsAg)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/7

1. Mục đích

Hướng dẫn các thao tác thực hiện quy trình xét nghiệm sử dụng kit chẩn đoán viêm gan B (HBsAg) của hãng SD BIOSENSOR nhằm chẩn đoán xác định bệnh viêm gan siêu vi B.

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng trong hoạt động xét nghiệm sử dụng kit chẩn đoán xác định bệnh viêm gan siêu vi B tại Khoa Xét nghiệm - Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng thuộc Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

3. Trách nhiệm

Phụ trách kỹ thuật xét nghiệm có trách nhiệm xem xét, giám sát và cập nhật quy trình hướng dẫn này, các nhân viên có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong quy trình hướng dẫn này.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT;
- Khoa Xét nghiệm–Chẩn đoán hình ảnh–Thăm dò chức năng: XN-CĐHA-TDCN.
- Virus: VR;
- Xét nghiệm: XN;
- Viêm gan B: VGB;
- An toàn sinh học: ATSH.

5. Nguyên lý

STANDARD™ Q HBsAg test có hai vạch được phủ trước trên thanh màng nitrocellulose, vạch thử T và vạch chứng C. Cả vạch thử và vạch chứng không xuất hiện trong cửa sổ kết quả trước khi thêm mẫu vào khay thử. Kháng thể đơn dòng kháng IgY gà được phủ lên vùng vạch chứng và kháng thể đơn dòng kháng HBs được phủ lên vùng vạch thử. Kháng thể đơn dòng kháng HBs liên hợp với chất keo vàng được sử dụng để phát hiện HBsAg. Suốt quá trình XN, HBsAg trong mẫu tương tác với kháng thể đơn dòng kháng HBs-gắn keo vàng tạo nên phức hợp hạt keo vàng kháng nguyên-kháng thể.

Phiên bản: 1.0	Trang: 3 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B (HBsAg)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/7

Phức hợp này thẩm thấu qua màng nhờ lực mao dẫn tới vạch thử, vị trí được phủ bởi kháng thể đơn dòng kháng HBs. Một vạch thử màu tím sẽ xuất hiện trong cửa sổ kết quả nếu HBsAg có mặt trong mẫu. Cường độ của vạch thử sẽ khác nhau, phụ thuộc vào lượng HBsAg có trong mẫu. Nếu HBsAg không có mặt trong mẫu, không xuất hiện màu ở vạch thử. Vạch chứng được sử dụng để kiểm soát quá trình và luôn xuất hiện nếu quá trình XN được thực hiện đúng và các thuốc thử của vạch chứng vẫn hoạt động bình thường.

6. Trang thiết bị và vật tư

- Các loại pipet, đầu côn, tube.
- Dung dịch tiệt trùng.
- Máy ly tâm.
- Test nhanh HBsAg.
- Đồng hồ bấm giờ.

❖ Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu XN

• **Huyết thanh**

Lấy máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm không chứa chất chống đông (EDTA, Heparin, Natri citrate), quay ly tâm 2.500 vòng/phút, ly tâm trong 10 phút, thu được phần huyết thanh ở phía trên.

• **Huyết tương**

Lấy máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm chứa chất chống đông (EDTA, Heparin, Natri citrate), quay ly tâm 2.500 vòng/phút, ly tâm trong 10 phút, thu được phần huyết tương ở phía trên

• **Máu toàn phần**

Lấy máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm chứa chất chống đông (EDTA, Heparin, Natri citrate)

❖ **Yêu cầu chất lượng mẫu bệnh phẩm**

- Thời điểm lấy mẫu: Trong mọi thời điểm theo yêu cầu của bệnh nhân cần xét

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B (HBsAg)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/7

nghiệm.

- Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần, không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tán huyết.
- Mẫu bệnh phẩm nếu không được thử nghiệm ngay phải bảo quản ở 2 – 8°C. Nếu sau 24h chưa xét nghiệm thì phải bảo quản mẫu ở -20°C.
- Không sử dụng mẫu bệnh phẩm đông tan trên 3 lần.
- Mẫu bệnh phẩm đã đông băng khi sử dụng phải trộn đều.

7. Kiểm tra chất lượng

- Kiểm tra hạn sử dụng, lô sản xuất, nhiệt độ bảo quản của kit thử HBsAg.
- Kiểm tra chất lượng của Pipetman.
- Kiểm tra mẫu huyết thanh đạt tiêu chuẩn.

8. An toàn

- Khi làm phải mặc đồ bảo hộ y tế.
- Đeo găng tay trong quá trình lấy và làm XN mẫu.
- Vật sắc nhọn phải được chứa trong dụng cụ thích hợp theo quy định.
- Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong quá trình làm xét nghiệm.

9. Nội dung thực hiện

- Để kit thử, mẫu bệnh phẩm,... ở nhiệt độ phòng (20-30°C) trước khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Mở túi đựng sinh phẩm, kiểm tra khay thử và gói silica gel bên trong túi.
- Ghi mã số mẫu trên khay thử.
- Hút 100 µL mẫu huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần cho vào giếng của khay thử. Đặt khay thử trên mặt phẳng nằm ngang và bắt đầu tính thời gian.
- Đọc kết quả sau 20 phút, kết quả có thể được đọc tới 30 phút. Không đọc kết quả sau 30 phút.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

- **Xét nghiệm có giá trị:** Phải có vạch màu tím ở vùng kiểm chứng (C).

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B (HBsAg)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/7

- **Dương tính:** Xuất hiện 2 vạch màu tím trên vùng kiểm chứng (C) và vùng thử (T).
- **Âm tính:** Chỉ có 1 vạch màu tím ở vùng kiểm chứng (C).
- **Kết quả không có giá trị:** Không có vạch màu tím nào xuất hiện tại cả hai vị trí vạch (T) và (C) cho thấy có thể quy trình đã có sai sót hoặc thuốc thử xét nghiệm đã giảm chất lượng, phải xét nghiệm lại. Trường hợp vạch (T) có màu đậm hơn vạch (C), xét nghiệm vẫn được xem là hợp lệ.

❖ **Báo cáo**

- Kiểm tra, biện luận và đánh giá kết quả.
- Ghi kết quả vào sổ xét nghiệm QTKT-VR(II)-01-BM01.
- Ghi phiếu trả lời kết quả với đầy đủ thông tin QTKT-VR(II)-01-BM03.
- Nhân viên thực hiện xét nghiệm kiểm tra, ký vào sổ ghi kết quả xét nghiệm và ký phiếu kết quả xét nghiệm trước khi giao cho bác sĩ trực tư vấn.

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Không sử dụng sinh phẩm hết hạn, các khay thử bị gãy, nứt.
- Các đầu côn xử lý bằng cách ngâm trong dung dịch có hoạt tính clo 0.5% trước khi đưa đi xử lý theo quy trình xử lý rác thải y tế.
- Các ống máu, que thử, ống tách huyết thanh được hấp ưót trước khi đưa đi xử lý theo quy trình xử lý rác thải y tế.

12. Lưu trữ hồ sơ

❖ **Lưu giữ mẫu bệnh phẩm**

Mẫu xét nghiệm sau khi tách huyết thanh, huyết tương và làm XN thì lưu giữ ở - 20°C trong vòng 7 ngày. Ghi ngày lấy và mã số mẫu.

❖ **Lưu hồ sơ**

- Ghi kết quả xét nghiệm vào Sổ kết quả xét nghiệm viêm gan B QTKT-VR(II)-01-BM01.

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B (HBsAg)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	7/7

– Kết quả XN VGB (khám sức khỏe) lưu hồ sơ khám sức khỏe 1 năm tại Khoa XN-
CĐHA-TDCN.

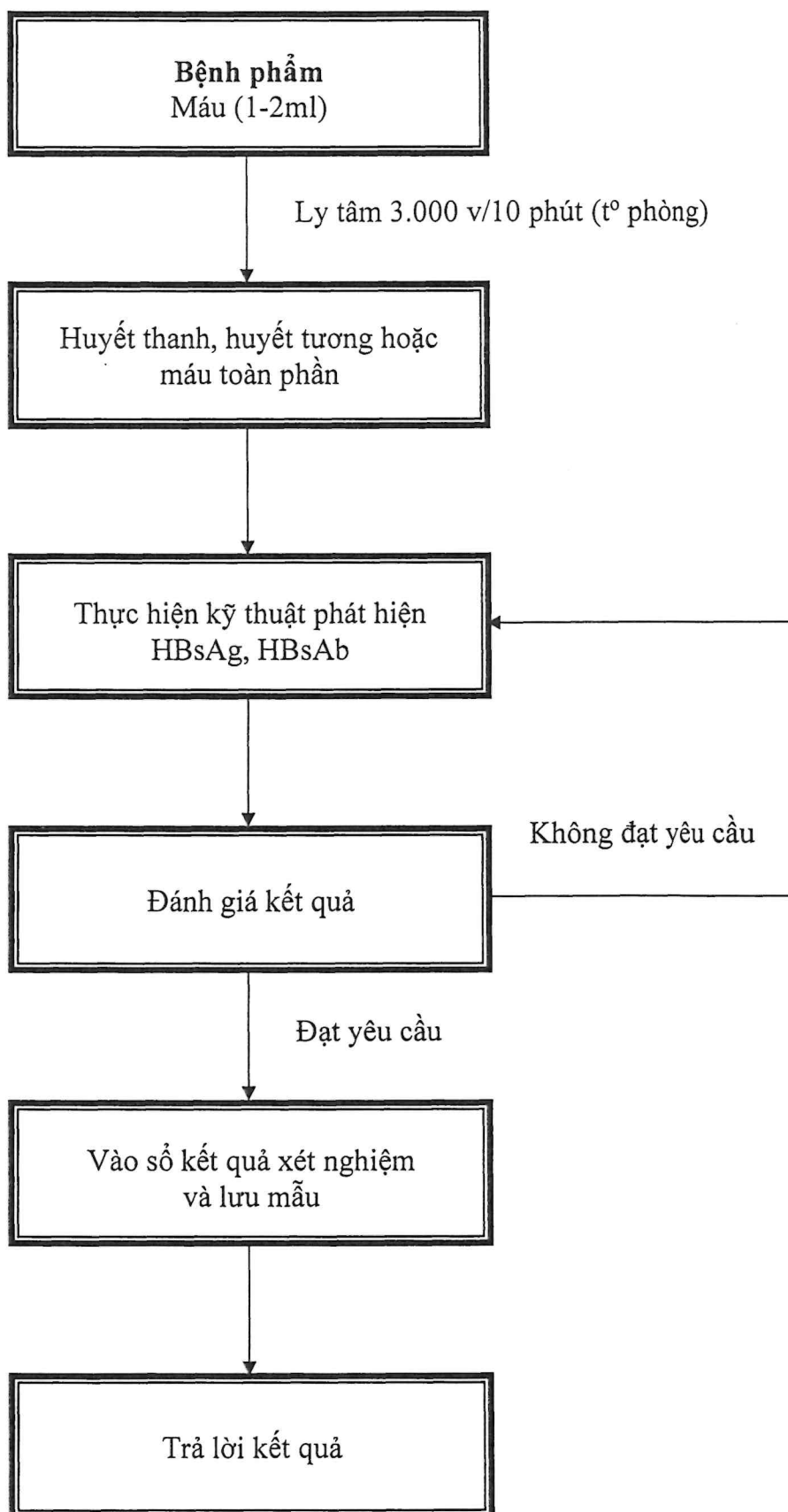
13. Tài liệu liên quan

- Sổ kết quả xét nghiệm viêm gan B QTKT-VR(II)-01-BM01
- Lưu đồ xét nghiệm viêm gan B bằng test nhanh QTKT-VR(II)-01-BM02
- Phiếu kết quả xét nghiệm QTKT-VR(II)-01-BM03

14. Tài liệu tham khảo

- Vi sinh vật Y học, Nhà xuất bản Y học;
- Tài liệu đảm bảo chất lượng phòng thí nghiệm Y tế - Cục Y tế dự phòng năm 2010;
- Hướng dẫn của nhà sản xuất.

LƯU ĐỒ XÉT NGHIỆM VIÊM GAN SIÊU VI B BẢNG TEST NHANH



Số : _____ / KQ-KSBT

PHIẾU KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Bệnh phẩm:.....

Họ và tên:..... Ngày sinh:/...../..... Nam ☐ Nữ ☐

Địa chỉ:

Nghề nghiệp:

Lý do xét nghiệm: Số CCCD:

YÊU CẦU XÉT NGHIỆM	PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM	KẾT QUẢ
☐ HBsAg ☐ HBsAb (Anti HBs)	Test nhanh	☐ HBsAg: ☐ HbsAb (Anti HBs):

Bác sĩ chỉ định
(Ký, ghi rõ họ tên)

Khoa XN – CDHA - TDCN
(Ký, ghi rõ họ tên)

Khánh Hòa, ngày tháng năm

Thủ trưởng đơn vị
(Ký, ghi rõ họ tên)



	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN KHÁNG THỂ VIÊM GAN B (HBsAb)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/7

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3 - 4
6. Trang thiết bị và vật tư.....	4 - 5
7. Kiểm tra chất lượng.....	5
8. An toàn	5
9. Nội dung thực hiện.....	5
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	5 - 6
11. Lưu ý (cảnh báo)	6
12. Lưu trữ hồ sơ.....	6 - 7
13. Tài liệu liên quan.....	7
14. Tài liệu tham khảo	7

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN KHÁNG THỂ VIÊM GAN B (HBsAb)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/7

1. Mục đích

Hướng dẫn các thao tác thực hiện quy trình xét nghiệm sử dụng kit chẩn đoán của hãng SD BIOSENSOR nhằm phát hiện định tính kháng thể kháng nguyên trên bề mặt virus viêm gan B (HBsAb).

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng trong hoạt động xét nghiệm sử dụng kit chẩn đoán để phát hiện định tính kháng thể kháng nguyên trên bề mặt virus viêm gan B tại Khoa Xét nghiệm - Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng thuộc Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

3. Trách nhiệm

Phụ trách kỹ thuật xét nghiệm có trách nhiệm xem xét, giám sát và cập nhật quy trình hướng dẫn này, các nhân viên có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong quy trình hướng dẫn này.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT;
- Khoa Xét nghiệm–Chẩn đoán hình ảnh–Thăm dò chức năng: XN-CĐHA-TDCN
- Virus: VR;
- Xét nghiệm: XN;
- Viêm gan B: VGB;
- An toàn sinh học: ATSH.

5. Nguyên lý

STANDARD™ Q Anti HBs test có hai vạch được phủ sẵn vạch thử T và vạch chứng C trên bề mặt màng nitrocellulose. Cả vạch thử và vạch chứng không xuất hiện trong cửa sổ kết quả trước khi thêm mẫu vào khay thử. Kháng thể đơn dòng kháng IgY gà được phủ lên vùng vạch chứng và kháng nguyên HBs được phủ lên vùng vạch thử. Kháng nguyên HBs cộng hợp với các hạt keo vàng được sử dụng như chất phát hiện Anti-HBs. Suốt quá trình XN, Anti-HBs trong mẫu tương tác với kháng nguyên HBs cộng hợp với các hạt keo vàng tạo nên phức hợp kháng thể - kháng nguyên - hạt vàng. Phức hợp này di

Phiên bản: 1.0	Trang: 3 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN KHÁNG THỂ VIÊM GAN B (HBsAb)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/7

chuyển trên màng thông qua hoạt động mao dẫn cho đến vạch thử, nơi sẽ bắt giữ bởi kháng nguyên HBs. Một vạch thử màu tím sẽ xuất hiện trong cửa sổ kết quả nếu Anti-HBs có mặt trong mẫu. Cường độ của vạch thử sẽ khác nhau, phụ thuộc vào lượng Anti-HBs có trong mẫu. Nếu Anti-HBs không có mặt trong mẫu, không xuất hiện màu ở vạch thử. Vạch chứng được sử dụng để kiểm soát quá trình và luôn xuất hiện nếu quá trình XN được thực hiện đúng và các thuốc thử của vạch chứng vẫn hoạt động bình thường.

6. Trang thiết bị và vật tư

- Các loại pipet, đầu côn, tube.
- Dung dịch tiệt trùng.
- Máy ly tâm.
- Test nhanh anti-HBs.
- Đồng hồ bấm giờ.

❖ Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu XN

• Huyết thanh

Lấy máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm không chứa chất chống đông (EDTA, Heparin, Natri citrate), quay ly tâm 2.500 v/phút, ly tâm trong 10 phút, thu được phần huyết thanh ở phía trên.

• Huyết tương

Lấy máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm chứa chất chống đông (EDTA, Heparin, Natri citrate), quay ly tâm 2.500 v/phút, ly tâm trong 10 phút, thu được phần huyết tương ở phía trên

• Máu toàn phần

Lấy máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm chứa chất chống đông (EDTA, Heparin, Natri citrate)

❖ Yêu cầu chất lượng mẫu bệnh phẩm

- Thời điểm lấy mẫu: Trong mọi thời điểm theo yêu cầu của bệnh nhân cần xét nghiệm.

Phiên bản: 1.0	Trang: 4 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN KHÁNG THỂ VIÊM GAN B (HBsAb)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/7

– Sử dụng huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần, không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tán huyết.

– Mẫu bệnh phẩm nếu không được thử nghiệm ngay phải bảo quản ở 2 – 8⁰C. Nếu sau 24h chưa xét nghiệm thì phải bảo quản mẫu ở -20⁰C.

– Không sử dụng mẫu bệnh phẩm đông tan trên 3 lần.

– Mẫu bệnh phẩm đã đông băng khi sử dụng phải trộn đều.

7. Kiểm tra chất lượng

– Kiểm tra hạn sử dụng, lô sản xuất, nhiệt độ bảo quản của kit thử anti-HBs.

– Kiểm tra chất lượng của Pipetman.

– Kiểm tra mẫu huyết thanh đạt tiêu chuẩn.

8. An toàn

– Khi làm phải mặc đồ bảo hộ y tế.

– Đeo găng tay trong quá trình lấy và làm XN mẫu.

– Vật sắc nhọn phải được chứa trong dụng cụ thích hợp theo quy định.

– Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong quá trình làm xét nghiệm.

9. Nội dung thực hiện

– Để kit thử, mẫu bệnh phẩm,... ở nhiệt độ phòng (20-30⁰C) trước khi tiến hành làm xét nghiệm.

– Mở túi đựng sinh phẩm, kiểm tra khay thử và gói silica gel bên trong túi.

– Ghi mã số mẫu trên khay thử.

– Hút 100 μ L mẫu huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần cho vào giếng của khay thử. Đặt khay thử trên mặt phẳng nằm ngang và bắt đầu tính thời gian.

– Đọc kết quả sau 15 phút, kết quả có thể được đọc tới 30 phút. Không đọc kết quả sau 30 phút.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

– **Xét nghiệm có giá trị:** Phải có vạch màu tím ở vùng kiểm chứng “C”.

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN KHÁNG THỂ VIÊM GAN B (HBsAb)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/7

– **Dương tính:** Xuất hiện 2 vạch màu tím (vùng kiểm chứng “C” và vùng thử “T”) trong của sổ kết quả, bất kể vạch nào xuất hiện trước, biểu thị kết quả dương tính. Ngay cả khi vạch chứng mờ nhạt, hoặc vạch thử không đồng nhất, thì xét nghiệm phải được xem là đã thực hiện đúng và kết quả xét nghiệm phải được nhận định dương tính với Anti-HBs

– **Âm tính:** Chỉ có 1 vạch màu tím ở vùng kiểm chứng “C”.

– **Kết quả không có giá trị:** Không có vạch màu tím nào xuất hiện tại cả hai vị trí vạch “T” và “C” cho thấy có thể quy trình đã có sai sót hoặc thuốc thử xét nghiệm đã giảm chất lượng, phải xét nghiệm lại. Trường hợp vạch “T” có màu đậm hơn vạch “C”, xét nghiệm vẫn được xem là hợp lệ.

❖ Báo cáo

- Kiểm tra, biện luận và đánh giá kết quả.
- Ghi kết quả vào sổ xét nghiệm QTKT-VR(II)-01-BM01.
- Ghi phiếu trả lời kết quả với đầy đủ thông tin QTKT-VR(II)-01-BM03.
- Nhân viên thực hiện xét nghiệm kiểm tra, ký vào sổ ghi kết quả xét nghiệm và ký phiếu kết quả xét nghiệm trước khi giao cho bác sĩ trực tư vấn.

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Không sử dụng sinh phẩm hết hạn, các khay thử bị gãy, nứt.
- Các đầu côn xử lý bằng cách ngâm trong dung dịch có hoạt tính clo 0.5% trước khi đưa đi xử lý theo quy trình xử lý rác thải y tế.
- Các ống máu, que thử, ống tách huyết thanh được hấp ướt trước khi đưa đi xử lý theo quy trình xử lý rác thải y tế.

12. Lưu trữ hồ sơ

❖ Lưu giữ mẫu bệnh phẩm

Mẫu xét nghiệm sau khi tách huyết thanh, huyết tương và làm XN thì lưu giữ ở -20°C trong vòng 7 ngày. Ghi ngày lấy và mã số mẫu.

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG KIT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN KHÁNG THỂ VIÊM GAN B (HBsAb)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	7/7

❖ **Lưu hồ sơ**

- Ghi kết quả xét nghiệm vào Sổ kết quả xét nghiệm viêm gan B QTKT-VR(II)-01-BM01.
- Kết quả XN kháng thể VGB (khám sức khỏe) lưu hồ sơ khám sức khỏe 1 năm tại Khoa XN-CĐHA-TDCN.

13. Tài liệu liên quan

- Sổ kết quả xét nghiệm viêm gan B QTKT-VR(II)-01-BM01
- Lưu đồ xét nghiệm HBsAb bằng test nhanh QTKT-VR(II)-01-BM02
- Phiếu kết quả xét nghiệm QTKT-VR(II)-01-BM03

14. Tài liệu tham khảo

- Vi sinh vật Y học, Nhà xuất bản Y học;
- Tài liệu đảm bảo chất lượng phòng thí nghiệm Y tế - Cục Y tế dự phòng năm 2010;
- Hướng dẫn của nhà sản xuất.



	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SỐT XUẤT HUYẾT (MAC-ELISA)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/7

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3 - 4
6. Trang thiết bị và vật tư.....	4 - 5
7. Kiểm tra chất lượng.....	5
8. An toàn.....	5
9. Nội dung thực hiện.....	5 - 6
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	6 - 7
11. Lưu ý (cảnh báo)	7
12. Lưu trữ hồ sơ.....	7
13. Tài liệu liên quan.....	7
14. Tài liệu tham khảo	7

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SỐT XUẤT HUYẾT (MAC-ELISA)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/7

1. Mục đích

Hướng dẫn các thao tác thực hiện quy trình xét nghiệm sử dụng Kit Serion Elisa classic Dengue Virus IgM nhằm phát hiện sự có mặt của kháng thể IgM kháng lại virus Dengue có trong mẫu huyết thanh hay huyết tương người.

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng cho việc xét nghiệm chẩn đoán sự có mặt của kháng thể IgM kháng lại virus Dengue có trong mẫu huyết thanh hay huyết tương người tại Khoa XN – CDHA - TDCN - Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

3. Trách nhiệm

Phụ trách kỹ thuật xét nghiệm có trách nhiệm xem xét, giám sát, kiểm tra và cập nhật quy trình hướng dẫn này, các nhân viên có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong quy trình hướng dẫn này.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT.
- Khoa Xét nghiệm–Chẩn đoán hình ảnh–Thăm dò chức năng: XN-CDHA-TDCN.
- Virus: VR.
- Xét nghiệm: XN.
- Phòng xét nghiệm: PXN.
- An toàn sinh học: ATSH.
- Kháng thể IgM: IgM.
- Sốt xuất huyết: SXH.
- Enzym Linked Immunosorbent Assay: ELISA.

5. Nguyên lý

- Kit Serion Elisa là loại sinh phẩm dùng để phát hiện định tính lớp kháng thể IgM kháng lại virus Dengue dựa trên kỹ thuật miễn dịch gắn men.
- Các giếng được gắn kháng nguyên virus Dengue để kết hợp tương ứng với kháng thể người có trong mẫu thử. Sau khi rửa các kháng thể không đặc hiệu sẽ bị loại bỏ. Sự

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SỐT XUẤT HUYẾT (MAC-ELISA)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/7

kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể được giữ lại và liên kết với cộng hợp. Sự hình thành phức hợp miễn dịch được nhận biết bằng cách thêm dung dịch nền (pNPP) cho phản ứng có màu. Phản ứng dừng lại khi cho dung dịch dừng phản ứng vào (STOP), các giếng sẽ có màu, cường độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ chất phân tích có trong mẫu và được đo bằng phương pháp quang học (sử dụng máy đọc ELISA).

6. Trang thiết bị và vật tư

- Máy đọc ELISA;
- Máy ủ 37°C;
- Máy rửa;
- Tủ ATSH cấp II;
- Pipetman, đầu cone, tube, giấy thấm;
- Máy ly tâm, máy vortex, đồng hồ hẹn giờ.
- ❖ **Thành phần của Kit Serion Elisa (bảo quản 2 - 8°C)**

1. Coated snap – off strip - MTP (12 x 8 giếng)

Mỗi giếng được gắn kháng nguyên virus Dengue.

2. Huyết thanh chuẩn - STD (2 lọ x 2 mL)

3. Chứng âm - NEG (1 lọ x 2 mL)

4. Dung dịch cộng hợp - APC (1 lọ x 13 mL)

5. Dung dịch rửa - WASH (1 lọ x 33.3 mL)

Pha dung dịch rửa theo tỉ lệ 1:30 với nước cất (1 mL WASH + 30 mL nước cất).

Bảo quản ở 2 – 8°C được 2 tuần, ở nhiệt độ phòng là 1 tuần.

6. Dung dịch pha loãng mẫu - DILB (2 lọ x 50 mL)

Pha loãng với mẫu theo tỉ lệ 1:100 (1 µL huyết thanh + 100 µL DILB)

7. Dung dịch dừng phản ứng – STOP (1 lọ x 15 mL)

8. Dung dịch nền - pNPP (1 lọ x 13 mL)

❖ Thu thập mẫu và chuẩn bị XN

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương, không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị tán

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SỐT XUẤT HUYẾT (MAC-ELISA)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/7

huyết.

– Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương nếu được thử nghiệm trong vòng 5 ngày sau khi thu thập phải bảo quản 2-8°C. Muốn bảo quản lâu hơn mẫu phẩm được giữ ở -20°C. Các mẫu nên đưa về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

– Mẫu bệnh phẩm đã đông băng khi sử dụng phải cho tan hoàn toàn và trộn đều. Không sử dụng mẫu đông tan trên 3 lần.

– Các mẫu bị tan huyết, chứa yếu tố thấp khớp, mỡ máu, yếu tố vàng da có thể làm sai lệch kết quả.

7. Kiểm tra chất lượng

- Kiểm tra hạn sử dụng, lô sản xuất, nhiệt độ bảo quản của kit Serion Elisa.
- Kiểm tra chất lượng của Pipetman.
- Kiểm tra mẫu huyết thanh hoặc huyết tương đạt tiêu chuẩn.

8. An toàn

- Đeo găng tay trong quá trình làm XN mẫu.
- Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong PXN.

9. Nội dung thực hiện

Bước 1: Để kit ổn định ở nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Lấy số lượng strip tương ứng với số lượng mẫu và chứng cần XN. Các strip còn lại đặt vào bao đựng. Dán miệng bao, bảo quản 2-8°C. Ghi sơ đồ mẫu với 1 giếng trắng (Blank), 1 giếng chứng âm (Negative), 2 giếng chứng dương (Positive).

Bước 2: Cài đặt máy ủ 37°C.

Bước 3: Pha loãng mẫu bệnh nhân với dung dịch pha loãng mẫu (DILB) với tỷ lệ 1:100 (10µL mẫu + 1000 µL DILB, trộn đều).

Bước 4: Cho 100 µL chứng và mẫu đã pha loãng vào mỗi giếng. Cho mẫu và chứng theo sơ đồ đã ghi (giếng A1 là giếng trắng, chứng âm ở giếng B1, chứng dương ở giếng C1 & D1)

Bước 5: Dán tấm Plate. Ủ 37°C ± 1°C / 1 giờ ± 5 phút.

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SỐT XUẤT HUYẾT (MAC-ELISA)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/7

Bước 6: Rửa 4 lần với 300 μ L dung dịch rửa đã pha loãng. Vỗ nhẹ tấm plate trên giấy thấm.

Bước 7: Cho 100 μ L dung dịch cộng hợp (APC) vào mỗi giếng trừ giếng trắng A1.

Bước 8: Dán tấm plate. Ủ $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C} / 30 \pm 1$ phút.

Bước 9: Lặp lại bước 6.

Bước 10: Cho 100 μ L dung dịch nền (pNPP) vào tất cả các giếng. Ủ $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C} / 30 \pm 1$ phút.

Bước 11: Cho 100 μ L dung dịch dừng phản ứng (STOP) vào tất cả các giếng.

Bước 12: Đọc ở bước sóng 405nm (độ dài bước sóng tham chiếu 620 – 690 nm: 650nm) trong vòng 60 phút sau khi cho dung dịch dừng phản ứng.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

- **Xét nghiệm có giá trị khi**

- OD (Giếng trắng Blank A1) $< 0,25$
- OD (Giếng chứng âm B1) < 0
- OD (Giếng chứng dương C1 & D1): chênh lệch không quá 20%
- OD trung bình ((Giếng chứng dương (C1 + D1)/2): trong phạm vi 0,42 – 1,41

- **Mẫu Dương tính khi:** OD mẫu $> 0,436 \times$ OD trung bình

- **Mẫu Âm tính khi:** OD mẫu $< 0,296 \times$ OD trung bình

- **Xét nghiệm lại khi:** $0,436 \times$ OD trung bình $< \text{OD mẫu} < 0,296 \times$ OD trung bình

- ❖ **Giới hạn định lượng**

- Giới hạn định lượng: 5 – 200 U/mL
- Trường hợp mẫu bệnh phẩm cho kết quả XN vượt quá giới hạn định lượng trên thì nên pha loãng mẫu để làm XN. Kết quả phải được nhân với hệ số pha loãng đã sử dụng.

- ❖ **Báo cáo**

- Kiểm tra, biện luận và đánh giá kết quả.
- Ghi kết quả vào sổ kết quả XN sốt xuất huyết QTKT-VR(II)-03-BM02.

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VR(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SỐT XUẤT HUYẾT (MAC-ELISA)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	7/7

- Báo cáo kết quả giám sát huyết thanh và virus Dengue QTKT-VR(II)-03-BM03
- Lập danh sách gửi mẫu phân lập virus Dengue (nếu có) QTKT-VR(II)-03-BM04

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Tuân thủ các quy định thực hành trong PXN.
- Không sử dụng sinh phẩm hết hạn.
- Các đầu cone xử lý bằng cách ngâm trong dung dịch có hoạt tính Clo 0,5% trước khi đưa đi xử lý theo quy trình xử lý rác thải y tế.
- Các giếng làm XN, ống pha loãng huyết thanh được hấp ưót trước khi đưa đi xử lý theo quy trình xử lý rác thải y tế.

12. Lưu trữ hồ sơ

❖ Lưu giữ mẫu bệnh phẩm

Lưu giữ mẫu bệnh phẩm -20⁰C một năm

❖ Lưu giữ hồ sơ

Ghi kết quả vào sổ xét nghiệm QTKT-VR(II)-03-BM02.

Phiếu kết quả in từ máy đọc, sơ đồ mẫu được lưu vào hồ sơ kết quả XN sốt xuất huyết 5 năm tại Khoa XN-CĐHA-TDCN.

13. Tài liệu liên quan

- Bảng thực hiện kỹ thuật MAC-ELISA DENGUE QTKT-VR(II)-03-BM01
- Sổ kết quả xét nghiệm sốt xuất huyết QTKT-VR(II)-03-BM02
- Báo cáo kết quả giám sát huyết thanh và virus Dengue QTKT-VR(II)-03-BM03
- Danh sách mẫu gửi phân lập virus Dengue QTKT-VR(II)-03-BM04

14. Tài liệu tham khảo

- Vi sinh vật y học, nhà xuất bản Y học;
- Tài liệu đảm bảo chất lượng phòng thí nghiệm Y tế - Cục y tế dự phòng năm 2010;
- Hướng dẫn nhà sản xuất.

SƠ ĐỒ MẪU

- Người thực hiện:

Ngày thực hiện:

- Tên Sinh phẩm:

Số Lot:

Hạn sử dụng:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLANK											
B	NC											
C	PC											
D	PC											
E												
F												
G												
H												

QTKT-VR(II)-03-BM01

1/2

BH01/8/2025

BẢNG THỰC HIỆN KỸ THUẬT MAC-ELISA DENGUE

- Người thực hiện: Ngày thực hiện:

- Người kiểm tra:

- Tên sinh phẩm: Số Lot: Hạn sử dụng:

1. Để kit về nhiệt độ phòng, ghi sơ đồ mẫu. Thời gian:

2. Cài đặt máy ủ 37°C

3. Huyết thanh: Pha loãng 1+100 với dung dịch dilution buffer

Cho 100 µL vào các giếng theo sơ đồ

Thời gian:

4. Ủ 37°C ± 1°C / 1 giờ ± 5 phút.

Thời gian:

5. Rửa 4 lần. (DIL WASH)

Thời gian:

6. Cho 100 µL dd cộng hợp (APC) vào các giếng trừ giếng trắng.

Thời gian:

7. Ủ 37°C ± 1°C / 30 ± 1 phút

Thời gian:

8. Rửa 4 lần. (DIL WASH)

Thời gian:

9. Cho 100 µL dd nền (pNPP) vào tất các giếng.

Thời gian:

10. Ủ 37°C ± 1°C / 30 ± 1 phút

Thời gian:

11. Cho 100 µL dd dừng phản ứng (STOP) vào tất các giếng.

Thời gian:

12. Đọc OD trong vòng 60 phút ở bước sóng 405/650.

Thời gian:

(SỔ KẾT QUẢ XN SXH)
Tháng năm

TT	Số bệnh phẩm	Loại bệnh phẩm	Họ và tên	Tuổi		Địa chỉ	Chẩn đoán lâm sàng	Ngày khởi bệnh	Ngày lấy bệnh phẩm	Người lấy bệnh phẩm	Phân lập			Kết quả xét nghiệm			Ghi chú
				Nam	Nữ						Ngày gửi	Ngày có KQ	Kết quả	Ngày có KQ	Elisa	Khác	
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	

HIV

Số: /XNCDHATDCN-SXH

Khánh Hòa, ngày tháng năm

BÁO CÁO KẾT QUẢ GIÁM SÁT HUYẾT THANH VÀ VIRUS DENGUE
Tháng năm

TT	Số bệnh phẩm	Loại bệnh phẩm	Họ và tên	Tuổi		Địa chỉ	Chẩn đoán lâm sàng	Ngày khởi bệnh	Ngày lấy bệnh phẩm	Người lấy bệnh phẩm	Yêu cầu xét nghiệm			Kết quả		
				Nam	Nữ						Phân lập	Elisa	Khác	Phân lập	Elisa	Khác
1																
2																
3																
4																
5																

Ghi chú: Tên sinh phẩm sử dụng:; Lot:; HSD:

Nơi nhận:
- Viện Pasteur Nha Trang;
- Khoa KSBTN;
- Lưu: XN.

NGƯỜI BÁO CÁO

KHOA XN-CDHA-TDCN

GIÁM ĐỐC



Số: /XNCĐHA/TDCN-SXH

Khánh Hòa, ngày tháng năm

Kính gửi:

DANH SÁCH MẪU GỬI PHÂN LẬP VIRUS DENGUE
Tháng năm

TT	Số labo	Họ và tên	Tuổi		Địa chỉ	Chẩn đoán lâm sàng	Ngày khởi bệnh	Ngày lấy bệnh phẩm	Loại bệnh phẩm	Yêu cầu xét nghiệm		Kết quả
			Nam	Nữ						Phân lập	Elisa	
1											Elisa	
2												
3												
4												
5												

Ghi chú: Tên sinh phẩm sử dụng:; Lot:; HSD:

Nơi nhận:
- Như trên;
- Lưu: XN.

NGƯỜI NHẬN MẪU

NGƯỜI GỬI MẪU

KHOA XN-CDHA-TDCN

LÃNH ĐẠO



	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>COLIFORM & E.COLI</i> TRONG NƯỚC (TCVN 6187-1:2019)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/7

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng.....	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3 - 4
6. Trang thiết bị và vật tư.....	4
7. Kiểm tra chất lượng.....	4
8. An toàn	4
9. Nội dung thực hiện.....	4-5
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	5-6
11. Lưu ý (cảnh báo)	6
12. Lưu trữ hồ sơ.....	6
13. Tài liệu liên quan.....	6
14. Tài liệu tham khảo	7

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>COLIFORM & E.COLI</i> TRONG NƯỚC (TCVN 6187-1:2019)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/7

1. Mục đích

Hướng dẫn này mô tả phương pháp phát hiện và đếm *Coliform* và *E.coli* có trong mẫu nước.

2. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng cho định lượng *Coliform* và *E.coli* trong nước bằng phương pháp màng lọc tại Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng thuộc Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

Phương pháp này thích hợp cho những loại nước có số lượng tổng vi khuẩn dưới 100 khuẩn lạc bao gồm nước uống đóng chai, nước bể bơi khử khuẩn hoặc nước đã qua xử lý làm nước uống.

3. Trách nhiệm

Quản lý kỹ thuật vi sinh có trách nhiệm xem xét, cập nhật quy trình hướng dẫn này và các nhân viên thuộc bộ phận vi sinh có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong hướng dẫn.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT;
- Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng: XN-CDHA-TDCN;
- An toàn sinh học: ATSH;
- Phòng xét nghiệm: PXN;
- Vi sinh vật: VSV.

5. Nguyên lý

Lọc phần mẫu thử qua màng để giữ lại các VSV, sau đó đặt màng lọc lên đĩa thạch coliform sinh màu và ủ ở $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong $(21 \pm 3)\text{h}$. Đếm các khuẩn lạc dương tính β -D-galactosidase (màu hồng đến đỏ) được giả định là *Coliform*, các khuẩn lạc giả định là *Coliform* được khẳng định âm tính oxidase. Các khuẩn lạc dương tính β -D-galactosidase và

Phiên bản: 1.0	Trang: 3 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>COLIFORM & E.COLI</i> TRONG NƯỚC (TCVN 6187-1:2019)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/7

β -D-glucuronidase (màu xanh đen đến tím) là *E.coli*. Tổng số vi khuẩn *Coliform* là tổng của các khuẩn lạc âm tính oxidase có màu hồng đến đỏ và tất cả các khuẩn lạc có màu xanh đậm đến tím.

6. Trang thiết bị và vật tư

- Nồi hấp
- Tủ ấm $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$
- Máy đo pH
- Thiết bị lọc màng, màng lọc vô khuẩn có đường kính 47 mm hoặc 50 mm, kích thước lỗ lọc $0,45 \mu\text{m}$

- Kẹp vô khuẩn

❖ Môi trường, thuốc thử

- Thạch Chromogenic Coliform Agar (CCA)
- Supplement E.Coli/Coliform Selektiv
- Thạch Tryptic Soy Agar (TSA)
- Nutrient Agar (NA)
- Thuốc thử Oxydase

7. Kiểm tra chất lượng

Kiểm tra hạn sử dụng của lô môi trường, thuốc thử, màng lọc.

8. An toàn

Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong PXN.

9. Nội dung thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị mẫu (nước sạch, nước uống đóng chai, nước đá,...)

Tốt nhất là bắt đầu phép thử ngay sau khi lấy mẫu, nhận mẫu. Nếu mẫu được giữ ở nhiệt độ môi trường (trong tối và không quá 25°C) việc kiểm tra nên tiến hành ngay trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu, nhận mẫu. Trường hợp đặc biệt có thể lưu giữ ở $(5 \pm 3^{\circ}\text{C})$ đến

Phiên bản: 1.0	Trang: 4 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>COLIFORM & E.COLI</i> TRONG NƯỚC (TCVN 6187-1:2019)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/7

24h trước khi kiểm tra.

Bước 2: Lọc và đặt vào môi trường

Lọc 100 mL mẫu thử hoặc một thể tích nhất định theo yêu cầu kiểm tra qua màng lọc. Thể tích mẫu thử tối thiểu cho việc lọc là 10 mL mẫu hoặc mẫu được pha loãng để đảm bảo vi khuẩn phân bố đều trên màng lọc.

Bước 3: Ủ màng lọc

Dùng kẹp vô trùng gấp màng lọc đặt vào đĩa petri có chứa sẵn môi trường CCA, đảm bảo sao cho không có bọt khí dưới màng lọc. Úp ngược đĩa petri này và ủ ở $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong $(21 \pm 3)\text{h}$.

Bước 4: Kiểm tra màng lọc và đếm khuẩn lạc

Sau khi kết thúc thời gian nuôi cấy, kiểm tra màng lọc

- Đếm tất cả các khuẩn lạc **màu hồng đến đỏ** (dương tính β -D-galactosidase) là vi khuẩn *Coliform* **giả định**.
- Đếm tất cả các khuẩn lạc **màu xanh dương đậm đến tím** (dương tính β -D-galactosidase và β -D-glucuronidase) là vi khuẩn là *E.coli*.

Bước 5: Khẳng định

- **Coliform giả định:** Chọn ít nhất 10 khuẩn lạc có màu hồng đến đỏ trên môi trường CCA. Cấy chuyển các khuẩn lạc vào môi trường TSA hoặc NA, ủ $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong $(21 \pm 3)\text{h}$. Thực hiện thử nghiệm Oxidase. Vi khuẩn *Coliform* cho thử nghiệm **Oxidase âm tính**.

• **Lưu ý:** Vi khuẩn *Aeromonas spp* cũng cho phản ứng β -D-galactosidase dương tính (biểu hiện màu hồng đến đỏ), nhưng lại dương tính với phản ứng Oxydase. Do vậy để tránh trường hợp xuất hiện kết quả dương tính giả, những vi khuẩn *Coliform* giả định mà không phải là *E.coli* này cần được khẳng định bởi phản ứng Oxydase âm tính.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

Số lượng vi khuẩn *Coliform* có khuẩn lạc màu hồng đến đỏ hiện diện trên môi trường

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>COLIFORM & E.COLI</i> TRONG NƯỚC (TCVN 6187-1:2019)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/7

CCA được tính toán như sau:

$$C = \frac{A}{B} \times N$$

- **C:** Số lượng vi khuẩn Coliform có trong thể tích mẫu lọc xác định
- **A:** Số khuẩn lạc có màu từ hồng đến đỏ cho kết quả âm tính với phản ứng Oxydase.
- **B:** Số khuẩn lạc có màu từ hồng đến đỏ được cấy chuyển để thử phản ứng Oxydase.
- **N:** Số khuẩn lạc có màu từ hồng đến đỏ đếm được trên đĩa môi trường CCA
 - Số lượng vi khuẩn **Coliform tổng cộng:** là tổng số các khuẩn lạc màu hồng đến đỏ cho phản ứng Oxidase âm tính cộng với tất cả các khuẩn lạc màu xanh dương đậm đến tím.
 - Số lượng vi khuẩn **E.coli:** là tất cả các khuẩn lạc màu xanh dương đậm đến tím đếm được trên môi trường CCA.
 - Kết quả được quy định ghi số khuẩn lạc CFU/100mL hoặc một thể tích khác theo yêu cầu của từng sản phẩm.

❖ Báo cáo

- Ghi chép quá trình thử nghiệm vào báo cáo thử nghiệm QTKT-VSN(II)-01-BM01.
- Nếu kết quả số liệu không có thì thể hiện không phát hiện (KPH) và ghi chú giới hạn phát hiện.

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Tuân thủ các quy định thực hành trong PXN.

12. Lưu trữ hồ sơ

Lưu hồ sơ 5 năm tại Khoa XN-CDHA-TDCN.

13. Tài liệu liên quan

Báo cáo thử nghiệm

QTKT-VSN(II)-01-BM01

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-01
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>COLIFORM & E.COLI</i> TRONG NƯỚC (TCVN 6187-1:2019)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	7/7

14. Tài liệu tham khảo

- TCVN 6187-1:2019 (ISO 9308-1:2014) Chất lượng nước – Phát hiện và đếm *E.coli* và vi khuẩn *Coliform* – Phần 1: Phương pháp màng lọc áp dụng cho nước có số lượng vi khuẩn thấp.
- TCVN 6404:2016 (ISO 7218:2007) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.
- TCVN 8880:2011 (ISO 19458:2006) Chất lượng nước - Lấy mẫu để phân tích vi sinh vật.
- TCVN 9716:2013 (ISO 8199:2005) Chất lượng nước - Hướng dẫn chung về đếm vi sinh vật bằng nuôi cấy.

PHIẾU BÁO CÁO THỬ NGHIỆM VI SINH

LOẠI MẪU:

1. Mã số mẫu	2. Lượng mẫu	3. Ngày nhận mẫu	4. Ngày, giờ thực hiện	5. Tên chỉ tiêu	6. Phương pháp
7. Ngày có kết quả	8. Người thực hiện	9. Người kiểm tra	10. Phụ trách Labo	☐ Coliform và E. coli	TCVN 6187-1:2019

Điều kiện bảo quản mẫu: Hạn sử dụng:

Chủng chuẩn kiểm soát	Mã hiệu / Thể hệ	Số thứ tự (Mã số ống chủng)	Ngày bắt đầu sử dụng	Hạn sử dụng
Chứng dương:				
Chứng âm:				
Chứng phân biệt:				

Quy trình xét nghiệm:

- Lọc 100 mL ☐; 250 mL ☐; khác ☐ mẫu → Đặt màng lọc vào đĩa thạch CCA (ủ 36°C±2°C/21h ±3h) → Đếm tất cả KL màu hồng đến đỏ (Coliform giả định), màu xanh dương đậm đến tím (xác định E. coli). Nếu không có KL ủ tiếp đến (44 ± 4)h.
- Chọn 10 KL màu hồng đến đỏ cấy chuyển vào TSA hoặc NA ủ 36°C±2°C/21h±3h. Thử Oxydase (-) xác định Coliform.
- Coliform: KL màu hồng đến đỏ cho phản ứng Oxidase (-) cộng với tất cả các khuẩn lạc màu xanh dương đậm đến tím.
- E.coli: KL màu xanh dương đậm đến tím.

Quy trình xét nghiệm:

[illegible]

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> TRONG NƯỚC (TCVN 8881:2011)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/7

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng.....	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3
6. Trang thiết bị và vật tư.....	3 - 4
7. Kiểm tra chất lượng.....	4
8. An toàn	4
9. Nội dung thực hiện.....	4 - 6
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	6 - 7
11. Lưu ý (cảnh báo)	7
12. Lưu trữ hồ sơ.....	7
13. Tài liệu liên quan.....	7
14. Tài liệu tham khảo	7

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> TRONG NƯỚC (TCVN 8881:2011)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/7

1. Mục đích

Hướng dẫn này mô tả phương pháp định lượng *Pseudomonas aeruginosa* có trong mẫu nước.

2. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng để định lượng *Pseudomonas aeruginosa* trong nước bằng phương pháp màng lọc tại Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng thuộc Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

3. Trách nhiệm

Quản lý kỹ thuật vi sinh có trách nhiệm xem xét, cập nhật quy trình hướng dẫn này và các nhân viên thuộc bộ phận vi sinh có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong hướng dẫn.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT;
- Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng: XN-CĐHA-TDCN;
- An toàn sinh học: ATSH;
- Phòng xét nghiệm: PXN;
- Vi sinh vật: VSV.

5. Nguyên lý

Lọc phần mẫu thử qua màng để giữ lại các VSV, sau đó đặt màng lọc lên đĩa thạch *pseudomonas* và ủ ở $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong (44 ± 4) giờ. Đếm các khuẩn lạc tạo pyocyanin được khẳng định là *Pseudomonas aeruginosa*, các khuẩn lạc huỳnh quang hoặc có màu nâu đỏ khác cần thực hiện các phép thử khẳng định.

6. Trang thiết bị và vật tư

- Các thiết bị, dụng cụ thông thường trong phân tích vi sinh (pipet, ống nghiệm, que cấy, đĩa petri, ...)

Phiên bản: 1.0	Trang: 3 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> TRONG NƯỚC (TCVN 8881:2011)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/7

- Tủ ẩm có khả năng hoạt động ở $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Nồi cách thủy, tủ sấy, nồi hấp ướ́t.
- Máy đo pH / giấy đo pH
- Thiết bị lọc màng, màng lọc vô khuẩn có đường kính 47 mm hoặc 50 mm, kích thước lỗ lọc $0,45\text{ }\mu\text{m}$

- Kẹp vô khuẩn.

❖ **Môi trường, thuốc thử**

- Thạch Pseudomonas/CN;
- Thạch dinh dưỡng (NA, TSA);
- Thạch King B;
- Canh thang Acetamide;
- Thuốc thử Oxydase;
- Thuốc thử Nessler.

7. Kiểm tra chất lượng

Kiểm tra hạn sử dụng của lô môi trường, thuốc thử, màng lọc.

8. An toàn

Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong PXN.

9. Nội dung thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị mẫu thử (nước sạch, nước uống đóng chai, nước đá, ...)

Tốt nhất là bắt đầu phép thử ngay sau khi lấy mẫu, nhận mẫu. Nếu mẫu được giữ ở nhiệt độ môi trường (trong tối và không quá 25°C) việc kiểm tra nên tiến hành ngay trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu, nhận mẫu. Trường hợp đặc biệt có thể lưu giữ ở $(5 \pm 3^{\circ}\text{C})$ đến 24 giờ trước khi kiểm tra.

Bước 2: Lọc và cấy vào môi trường

- Lọc một thể tích nước thích hợp qua màng lọc $0,45\text{ }\mu\text{m}$ hoặc mẫu nước đã pha loãng.

Phiên bản: 1.0	Trang: 4 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> TRONG NƯỚC (TCVN 8881:2011)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/7

– Sau khi lọc, dùng panh kẹp đặt màng lọc lên đĩa thạch *Pseudomonas*/CN, đảm bảo sao cho không có bọt khí dưới màng lọc và bề mặt môi trường.

Bước 3: Ủ màng lọc

Lật úp thạch và ủ màng lọc ở $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong (44 ± 4) giờ và kiểm tra màng lọc sau (22 ± 2) giờ và (44 ± 4) giờ.

Bước 4: Đếm các khuẩn lạc

– Sau khi ủ, đếm tất cả các khuẩn lạc có màu xanh. Các khuẩn lạc này được xem là *Pseudomonas aeruginosa*.

– Kiểm tra dưới đèn cực tím. Đếm tất cả các khuẩn lạc không tạo màu xanh mà phát huỳnh quang dưới đèn cực tím được xem là *Pseudomonas aeruginosa* giả định và thử khả năng tạo ammonia từ môi trường acetamide.

– Đếm tất cả các khuẩn lạc có màu nâu đỏ không phát quang và thử khả năng tạo Oxydase, Ammonia và phát quang trên môi trường King B.

Các khuẩn lạc được xem là *Pseudomonas aeruginosa* theo bảng sau:

Khuẩn lạc trên thạch Pseu/CN	Ammonia từ acetamide	Thử Oxydase	Phát huỳnh quang trên King B	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Xanh	Không thử	Không thử	Không thử	+
Phát huỳnh quang (không phải màu xanh)	+	Không thử	Không thử	+
Nâu đỏ	+	+	+	+
Các loại khác	Không thử	Không thử	Không thử	-

Bước 5: Khẳng định

– Trên môi trường thạch dinh dưỡng: Cấy các khuẩn lạc giả định *Pseudomonas aeruginosa* sang môi trường thạch dinh dưỡng, ủ $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong (22 ± 2) giờ.

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> TRONG NƯỚC (TCVN 8881:2011)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/7

- Thử Oxydase trên thạch có khuẩn lạc màu nâu đỏ.
- Thử Oxydase: lấy khuẩn lạc trên thạch dinh dưỡng cho vào giấy thử Oxydase. Màu tím xuất hiện sau 10 giây xem là dương tính.
- Thử phát quang trên King B: Cấy chuyển những khuẩn lạc trên thạch dinh dưỡng (khuẩn lạc nâu đỏ ban đầu cấy vào) trên môi trường King B, ủ (36 ± 2)⁰C trong 5 ngày. Kiểm tra dưới đèn cực tím xem phát huỳnh quang.
- Thử khả năng sinh Ammonia.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

- Có hoặc không có *Pseudomonas aeruginosa* trong thể tích mẫu nước kiểm tra (nếu là định tính).
- Số lượng tối đa các khuẩn lạc (điển hình và không điển hình) có mặt trên mỗi đĩa khi đếm khuẩn lạc điển hình và giả định là 150 khuẩn lạc (nếu là định lượng). Số *Pseudomonas aeruginosa* có trong 100 mL hoặc 250 mL mẫu nước kiểm tra được tính như sau:

$$C \text{ (CFU / V mL)} = P + F(Cf / Nf) + R(Cr / Nr)$$

C: Số khuẩn lạc được khẳng định, tính trong 100 mL hoặc 250 mL

P: Số khuẩn lạc xanh lam / xanh lục

F: Số khuẩn lạc phát huỳnh quang

R: Số khuẩn lạc nâu đỏ

Nf: Số khuẩn lạc phát huỳnh quang được thử Amonia

Cf: Số khuẩn lạc phát huỳnh quang có sinh Amonia

Nr: Số khuẩn lạc nâu đỏ được thử Amonia, Oxydase và thử phản ứng trên King B

Cr: Số khuẩn lạc nâu đỏ sinh Amonia, Oxydase và phát huỳnh quang trên King B

❖ Báo cáo

- Ghi chép quá trình thử nghiệm vào báo cáo thử nghiệm QTKT-VSN(II)-02-BM01.
- Nếu kết quả số liệu không có thì thể hiện không phát hiện (KPH) và ghi chú giới hạn

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-02
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> TRONG NƯỚC (TCVN 8881:2011)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	7/7

phát hiện.

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Tuân thủ các quy định thực hành trong PXN.

12. Lưu trữ hồ sơ

Lưu hồ sơ 5 năm tại Khoa XN-CĐHA-TDCN.

13. Tài liệu liên quan

Báo cáo thử nghiệm

QTKT-VSN(II)-02-BM01

14. Tài liệu tham khảo

- TCVN 8881:2011 - Phương pháp phát hiện và đếm *Pseudomonas aeruginosa* – Kỹ thuật màng lọc.
- TCVN 6404:2016 (ISO 7218:2007) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi
- Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.
- TCVN 8880:2011 (ISO 19458:2006) Chất lượng nước - Lấy mẫu để phân tích vi sinh vật.
- TCVN 9716:2013 (ISO 8199:2005) Chất lượng nước - Hướng dẫn chung về đếm vi sinh vật bằng nuôi cấy.

Phiên bản: 1.0	Trang: 7 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

PHIẾU BÁO CÁO THỬ NGHIỆM VI SINH

LOẠI MẪU:

1. Mã số mẫu	2. Lượng mẫu	3. Ngày nhận mẫu	4. Ngày thực hiện	5. Tên chỉ tiêu	6. Phương pháp
7. Ngày có kết quả	8. Người thực hiện	9. Người kiểm tra	10. Phụ trách Labo	☐ P. aeruginosa	TCVN 8881: 2011

Điều kiện bảo quản mẫu:

Lô màng lọc:.....

Hạn sử dụng:

Chủng chuẩn kiểm soát	Mã hiệu / Thê hệ	Số thứ tự (Mã số ống chủng)	Ngày bắt đầu sử dụng	Hạn sử dụng
Chứng dương:				
Chứng âm:				
Chứng phân biệt:				

Quy trình xét nghiệm:

- Lọc 100mL ☐; 250 mL ☐ ; khác ☐ mẫu → Đặt màng lọc vào đĩa Thạch Pseudomonas (PA) /CN (ủ 36⁰C± 2⁰C/44h ± 4h).
Đếm khuẩn lạc có sắc tố xanh sau 24 giờ, ủ tiếp và đọc kết quả sau 48 giờ .
- Chọn 05 khuẩn lạc giả định *Pseudomonas aeruginosa* cấy chuyển vào NA ủ 36⁰C± 2⁰C/22h ± 2h để thực hiện test khẳng định.
- Test khẳng định:
 - KL Phát huỳnh quang (không phải màu xanh) thử khả năng sinh amonia.
 - KL màu nâu đỏ thử oxydase, amonia, thử phát quang trên King B

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT TRONG NƯỚC (TCVN 6189-2:2009)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/6

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng.....	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3 - 4
6. Trang thiết bị và vật tư.....	4
7. Kiểm tra chất lượng	4
8. An toàn	4
9. Nội dung thực hiện	4 - 5
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	5
11. Lưu ý (cảnh báo)	5
12. Lưu trữ hồ sơ.....	6
13. Tài liệu liên quan.....	6
14. Tài liệu tham khảo	6

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT TRONG NƯỚC (TCVN 6189-2:2009)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/6

1. Mục đích

Hướng dẫn này mô tả phương pháp phát hiện và đếm khuẩn đường ruột có trong mẫu nước.

2. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng để phát hiện và đếm khuẩn đường ruột trong nước bằng phương pháp màng lọc tại Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng thuộc Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

3. Trách nhiệm

Quản lý kỹ thuật vi sinh có trách nhiệm xem xét, cập nhật quy trình hướng dẫn này và các nhân viên thuộc bộ phận vi sinh có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong hướng dẫn.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT;
- Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng: XN-CĐHA-TDCN;
- An toàn sinh học: ATSH;
- Phòng xét nghiệm: PXN;
- Vi sinh vật: VSV.

5. Nguyên lý

Lọc phần mẫu thử qua màng để giữ lại các VSV, sau đó đặt màng lọc lên đĩa thạch chọn lọc chứa natri azid và 2,3,5 – triphenyltetrazoli clorua, thuốc nhuộm không màu và ủ ở $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong $(44 \pm 0,5)$ giờ. Đếm các khuẩn lạc có màu đỏ, màu hạt dẻ hoặc màu hồng ở trung tâm của khuẩn lạc. Chuyển toàn bộ khuẩn lạc trên màng lọc vào thạch mật aesculin-azid và ủ $(44 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ trong 2 giờ. Khuẩn đường ruột sẽ thủy phân aesculin có trong môi trường, 6,7-dihydroxycoumarin kết hợp với ion sắt (III) tạo hợp chất màu nâu vàng tới đen khuếch tán

Phiên bản: 1.0	Trang: 3 of 6
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐỀM KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT TRONG NƯỚC (TCVN 6189-2:2009)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/6

vào môi trường.

6. Trang thiết bị và vật tư

– Các thiết bị, dụng cụ thông thường trong phân tích vi sinh (pipet, ống nghiệm, que cấy, đĩa petri, ...)

– Tủ ấm $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$

– Tủ ấm $(44 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$

– Nồi cách thủy, tủ sấy, nồi hấp uớt

– Máy đo pH / giấy đo pH

– Thiết bị lọc màng, màng lọc vô khuẩn có đường kính 47 mm hoặc 50 mm, kích thước lỗ lọc $0,45 \mu\text{m}$

– Kẹp vô khuẩn.

❖ Môi trường, thuốc thử

– Slanetz & Bartley

– Thạch mật aesculin azid (Bile esculin agar)

7. Kiểm tra chất lượng

Kiểm tra hạn sử dụng của lô môi trường, thuốc thử, màng lọc.

8. An toàn

Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong PXN.

9. Nội dung thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị mẫu thử (nước sạch, nước uống đóng chai, nước đá, ...)

Tốt nhất là bắt đầu phép thử ngay sau khi lấy mẫu, nhận mẫu. Nếu mẫu được giữ ở nhiệt độ môi trường (trong tối và không quá 25°C) việc kiểm tra nên tiến hành ngay trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu, nhận mẫu. Trường hợp đặc biệt có thể lưu giữ ở $(5 \pm 3^{\circ}\text{C})$ đến 24 giờ trước khi kiểm tra.

Phiên bản: 1.0	Trang: 4 of 6
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT TRONG NƯỚC (TCVN 6189-2:2009)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/6

Bước 2: Lọc và cấy vào môi trường

- Lọc một thể tích nước thích hợp qua màng lọc 0,45µm hoặc mẫu nước đã pha loãng.
- Sau khi lọc, dùng panh kẹp đặt màng lọc lên đĩa thạch Slanetz & Bartley, đảm bảo sao cho không có bọt khí dưới màng lọc và bề mặt môi trường.

Bước 3: Ủ màng lọc

Lật úp thạch và ủ màng lọc ở $(36 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ trong (44 ± 0.5) giờ và kiểm tra màng lọc sau (22 ± 2) giờ và (44 ± 0.5) giờ.

Bước 4: Đếm các khuẩn lạc

- Sau khi ủ, đếm tất cả các khuẩn lạc có có màu đỏ hoặc hồng ở trung tâm hoặc toàn bộ khuẩn lạc xuất hiện trên màng, các khuẩn lạc này được xem là khuẩn lạc điển hình.
- Nếu có khuẩn lạc điển hình, dùng kẹp vô trùng chuyển màng lọc và khuẩn lạc mà không đảo xuống, lên trên đĩa petri khác có chứa môi trường thạch Bile esculine đã được làm ấm 44°C , ủ $(44 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ trong 2 giờ. Đọc kết quả ngay, các khuẩn lạc có màu từ nâu đến đen ở môi trường bao quanh được xem là khuẩn đường ruột.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

Kết quả được quy định ghi số vi khuẩn hoặc CFU/100ml hoặc thể tích lớn hơn theo yêu cầu của từng sản phẩm.

❖ Báo cáo

- Ghi chép quá trình thử nghiệm vào báo cáo thử nghiệm QTKT-VSN(II)-03-BM01.
- Nếu kết quả số liệu không có thì thể hiện không phát hiện (KPH) và ghi chú giới hạn phát hiện.

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Tuân thủ các quy định thực hành trong PXN.

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 6
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-03
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT TRONG NƯỚC (TCVN 6189-2:2009)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/6

12. Lưu trữ hồ sơ

Lưu hồ sơ 5 năm tại Khoa XN-CDHA-TDCN.

13. Tài liệu liên quan

Báo cáo thử nghiệm

QTKT-VSN(II)-03-BM01

14. Tài liệu tham khảo

- TCVN 6189-2:2009 Phát hiện và đếm khuẩn đường ruột – Phương pháp màng lọc.
- TCVN 6404:2016 (ISO 7218:2007) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi
- Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.
- TCVN 8880:2011 (ISO 19458:2006) Chất lượng nước - Lấy mẫu để phân tích vi sinh vật.
- TCVN 9716:2013 (ISO 8199:2005) Chất lượng nước - Hướng dẫn chung về đếm vi sinh vật bằng nuôi cấy.

TẬP
TRUYỀN
SỐ
KHẨN

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 6
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

PHIẾU BÁO CÁO THỬ NGHIỆM VI SINH

LOẠI MẪU:

1. Mã số mẫu	2. Lượng mẫu	3. Ngày nhận mẫu	4. Ngày thực hiện	5. Tên chỉ tiêu	6. Phương pháp
7. Ngày có kết quả	8. Người thực hiện	9. Người kiểm tra	10. Phụ trách Labo	☐ <i>Streptococcus faecalis</i>	TCVN 6189-2:2009

Điều kiện bảo quản mẫu:
Lô màng lọc:..... Hạn sử dụng:

Chủng chuẩn kiểm soát	Mã hiệu / Thệ hệ	Số thứ tự (Mã số ống chủng)	Ngày bắt đầu sử dụng	Hạn sử dụng
Chứng dương:				
Chứng âm:				
Chứng phân biệt:				

Quy trình xét nghiệm:

- Lọc 100 mL ☐; 250 mL ☐ ; khác ☐ mẫu → Đặt màng lọc vào đĩa Thạch Slanetz anh Bartley (ủ 36⁰C ± 2⁰C/44h ± 0,5h).
- Đếm tất cả các khuẩn lạc có màu đỏ hoặc hồng ở trung tâm hoặc toàn khuẩn lạc.
- Dùng kẹp vô trùng chuyển màng lọc và khuẩn lạc (không đảo màng lọc) lên trên đĩa petri khác có chứa môi trường thạch Bile Esculine đã được làm ấm 44⁰C, ủ 44⁰C ± 0,5⁰C trong 2 giờ.
- Đọc kết quả: Các khuẩn lạc có màu từ nâu đến đen, môi trường bao quanh có màu nâu hay đen được xem là khuẩn đường ruột.



	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-04
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM BÀO TỬ VI KHUẨN KỶ KHÍ KHỬ SUNPHIT TRONG NƯỚC (TCVN 6191-2:1986)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	2/7

MỤC LỤC

1. Mục đích	3
2. Phạm vi áp dụng.....	3
3. Trách nhiệm	3
4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt.....	3
5. Nguyên lý	3
6. Trang thiết bị và vật tư.....	3 - 4
7. Kiểm tra chất lượng.....	4
8. An toàn	4
9. Nội dung thực hiện.....	4 - 5
10. Diễn giải kết quả và báo cáo	5
11. Lưu ý (cảnh báo)	5
12. Lưu trữ hồ sơ.....	6
13. Tài liệu liên quan.....	6
14. Tài liệu tham khảo	6

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-04
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM BÀO TỬ VI KHUẨN KỶ KHÍ KHỬ SUNPHIT TRONG NƯỚC (TCVN 6191-2:1986)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	3/7

1. Mục đích

Hướng dẫn này mô tả phương pháp phát hiện và đếm số bào tử vi khuẩn kỵ khí khử sunphit (*Clostridia*) có trong mẫu nước..

2. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng để đếm số bào tử kỵ khí khử sunfit (*Clostridia*) trong nước bằng phương pháp màng lọc tại Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng thuộc Trung tâm Kiểm soát bệnh tật Khánh Hòa.

3. Trách nhiệm

Quản lý kỹ thuật vi sinh có trách nhiệm xem xét, cập nhật quy trình hướng dẫn này và các nhân viên thuộc bộ phận vi sinh có trách nhiệm tuân thủ nghiêm ngặt các quy định trong quy trình hướng dẫn.

4. Định nghĩa và thuật ngữ viết tắt

- Quy trình thực hành chuẩn kỹ thuật: QTKT;
- Khoa Xét nghiệm – Chẩn đoán hình ảnh – Thăm dò chức năng: XN-CDHA-TDCN;
- An toàn sinh học: ATSH;
- Phòng xét nghiệm: PXN;
- Vi sinh vật: VSV.

5. Nguyên lý

Lọc phần mẫu thử qua màng để giữ lại các VSV, sau đó đặt màng lọc lên đĩa thạch sắt sunfit và ủ ở $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ trong (20 ± 4) giờ và (44 ± 4) giờ. Đếm các khuẩn lạc có màu đen trên môi trường.

6. Trang thiết bị và vật tư

- Các thiết bị, dụng cụ thông thường trong phân tích vi sinh (pipet, ống nghiệm, que cấy, đĩa petri, ...)

Phiên bản: 1.0	Trang: 3 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-04
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM BÀO TỬ VI KHUẨN KỶ KHÍ KHỬ SUNPHIT TRONG NƯỚC (TCVN 6191-2:1986)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	4/7

- Tủ ẩm CO₂ (37 ± 1)⁰C.
- Nồi cách thủy, tủ sấy, nồi hấp ướt.
- Máy đo pH / giấy đo pH.
- Thiết bị lọc màng, màng lọc vô khuẩn có đường kính 47 mm hoặc 50 mm, kích thước lỗ lọc 0,2 μm.

- Bình Duran, đĩa petri.
- Kẹp vô khuẩn.

❖ **Môi trường, thuốc thử**

- Thạch sắt sunfit.
- Thạch sunfit tryptozin.

7. Kiểm tra chất lượng

Kiểm tra hạn sử dụng của lô môi trường, thuốc thử, màng lọc.

8. An toàn

Tuân thủ nghiêm các quy định về ATSH trong PXN.

9. Nội dung thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị mẫu thử (nước sạch, nước uống đóng chai, nước đá, ...)

Tốt nhất là bắt đầu phép thử ngay sau khi lấy mẫu, nhận mẫu. Nếu mẫu được giữ ở nhiệt độ môi trường (trong tối và không quá 25⁰C) việc kiểm tra nên tiến hành ngay trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy mẫu, nhận mẫu. Trường hợp đặc biệt có thể lưu giữ ở (5 ± 3 ⁰C) đến 24 giờ trước khi kiểm tra.

Bước 2: Lọc và cấy vào môi trường

- Chọn lọc các bào tử: Trước khi thử, mẫu nước cần đun nóng trong nồi cách thủy 75⁰C ± 5 ⁰C trong 15 phút kể từ lúc đạt được nhiệt độ trên.
- Lọc một thể tích nước thích hợp. Đối với nước uống, nước suối và nước giếng, nước

Phiên bản: 1.0	Trang: 4 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-04
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM BÀO TỬ VI KHUẨN KỶ KHÍ KHỬ SUNPHIT TRONG NƯỚC (TCVN 6191-2:1986)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	5/7

khoáng, nước biển và nước bề mặt, ít nhiễm bẩn bởi *Clostridia* thì lọc 100 mL, đối với các nước bị ô nhiễm nặng hoặc nước thải thì dùng thể tích nhỏ hơn. Thể tích được pha loãng cho kết quả khuẩn lạc đen tách biệt và dễ dàng đếm. Thể tích nước ít hơn 10 mL thì nên trộn từ 10 mL đến 100 mL nước hoặc dung dịch pha loãng đã khử trùng.

– Sau khi lọc, dùng panh kẹp đặt màng lọc lên đáy đĩa petri, đảm bảo sao cho không có bọt khí dưới màng lọc. Sau đó cẩn thận rót 18 mL môi trường nuôi cấy đã làm nguội khoảng 50°C qua màng lọc trong khi vẫn giữ kẹp thanh trùng.

Bước 3: Ủ màng lọc

Lật úp thạch và ủ màng lọc kỵ khí ở $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ trong (20 ± 4) giờ và (44 ± 4) giờ.

Bước 4: Đếm các khuẩn lạc

– Sau khi ủ, đếm các khuẩn lạc có màu đen sau 24 giờ và 48 giờ.

10. Diễn giải kết quả và báo cáo

– Số lượng khuẩn lạc điển hình đếm được trên môi trường thạch sắt sunfit hoặc sunfit tryptose chính là số lượng bào tử vi khuẩn kỵ khí khử sunfit (*Clostridia* trong 100 mL nước hoặc thể tích lọc ban đầu hoặc pha loãng).

– Kết quả được quy định ghi số vi khuẩn hoặc CFU/100 mL hoặc thể tích khác tùy theo yêu cầu của từng sản phẩm.

❖ Báo cáo

– Ghi chép quá trình thử nghiệm vào báo cáo thử nghiệm QTKT-VSN(II)-04-BM01.
– Nếu kết quả số liệu không có thì thể hiện không phát hiện (KPH) và ghi chú giới hạn phát hiện.

11. Lưu ý (cảnh báo)

- Mặc đồ bảo hộ y tế trong quá trình xét nghiệm.
- Tuân thủ các quy định thực hành trong PXN.

Phiên bản: 1.0	Trang: 5 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

	TRUNG TÂM KIỂM SOÁT BỆNH TẬT KHÁNH HÒA KHOA XÉT NGHIỆM - CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH - THĂM DÒ CHỨC NĂNG	Mã hiệu	QTKT- VSN(II)-04
		Phiên bản	01
	QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM BÀO TỬ VI KHUẨN KỶ KHÍ KHỬ SUNPHIT TRONG NƯỚC (TCVN 6191-2:1986)	Ngày ban hành	01/8/2025
		Trang	6/7

12. Lưu trữ hồ sơ

Lưu hồ sơ 5 năm tại Khoa XN-CDHA-TDCN.

13. Tài liệu liên quan

Báo cáo thử nghiệm

QTKT-VSN(II)-04-BM01

14. Tài liệu tham khảo

- TCVN 6191-2:1986 - Phát hiện và đếm số bào tử vi khuẩn kỵ khí khử sunphit (*Clostridia*) – Phương pháp màng lọc.
- TCVN 6404:2016 (ISO 7218:2007) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi
- Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.
- TCVN 8880:2011 (ISO 19458:2006) Chất lượng nước - Lấy mẫu để phân tích vi sinh vật.
- TCVN 9716:2013 (ISO 8199:2005) Chất lượng nước - Hướng dẫn chung về đếm vi sinh vật bằng nuôi cấy.

IN
TRUNG
KIỂM
SOÁT
HÌNH
ẢNH

Phiên bản: 1.0	Trang: 6 of 7
Ngày hiệu lực: 01/08/2025	

PHIẾU BÁO CÁO THỬ NGHIỆM VI SINH
LOẠI MẪU:

1. Mã số mẫu	2. Lượng mẫu	3. Ngày nhận mẫu	4. Ngày thực hiện	5. Tên chi tiêu	6. Phương pháp
7. Ngày có kết quả	8. Người thực hiện	9. Người kiểm tra	10. Phụ trách Labo	☐ <i>Clostridia</i>	TCVN 6191-2:1996

Điều kiện bảo quản mẫu:

Lô màng lọc:..... Hạn sử dụng:

Chủng chuẩn kiểm soát	Mã hiệu / Thê hệ	Số thứ tự (Mã số ống chủng)	Ngày bắt đầu sử dụng	Hạn sử dụng
Chứng dương:				
Chứng âm:				
Chứng phân biệt:				

Quy trình xét nghiệm:

- Đun nóng mẫu nước trong nồi cách thủy 75°C ±5 °C trong 15 phút kể từ lúc đạt được nhiệt độ trên.
- Lọc 100mL ☐ ; 250mL ☐; khác ☐ mẫu. Đặt úp màng lọc vào đĩa Petri thêm 18 mL thạch sắt sunfit (hoặc sunfit tryptose) vào.
- Ủ kỵ khí 37°C ± 1°C / 20h ± 4h và 44h ± 4h
- Đếm các khuẩn lạc có màu đen sau 24 và 48 giờ.

