

Số: 617 /QĐ-BV

Hà Giang, ngày 30 tháng 5 năm 2017

**QUYẾT ĐỊNH**

**Về việc ban hành quy trình chuyên môn khám chữa bệnh  
Kỹ thuật Nuôi cấy và định danh vi khuẩn hệ thống tự động  
và Kỹ thuật Vi khuẩn nhuộm soi**

**GIÁM ĐỐC BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG**

Căn cứ Luật khám chữa bệnh số 40/2009/QH12;

Căn cứ Quyết định số 494/QĐ-SYT, ngày 25/5/2015 của Sở Y tế Hà Giang về việc ban hành Quy định phân công, phân cấp về Tổ chức bộ máy và công chức, viên chức, hợp đồng theo Nghị định số 68/NĐ-CP;

Căn cứ Quyết định số 4068/QĐ-BYT, ngày 29/7/2016 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành Hướng dẫn biên soạn Quy trình chuyên môn khám bệnh, chữa bệnh; Xét đề nghị của Trưởng phòng KHTH, trưởng khoa Giải Phẫu Bệnh,

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Ban hành kèm theo quyết định này 02 quy trình chuyên môn khám chữa bệnh như sau:

1. Quy trình chuyên môn khám chữa bệnh Kỹ thuật Nuôi cấy và định danh vi khuẩn hệ thống tự động.

2. Quy trình chuyên môn khám chữa bệnh Kỹ thuật Vi khuẩn nhuộm soi.

Hướng dẫn quy trình chuyên môn khám chữa bệnh Kỹ thuật Nuôi cấy định danh vi khuẩn hệ thống tự động và kỹ thuật Vi khuẩn nhuộm soi là tài liệu hướng dẫn về thực hành chuyên môn kỹ thuật được áp dụng tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang

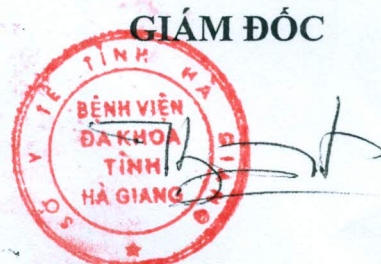
**Điều 2.** Giao cho các khoa lâm sàng chịu trách nhiệm triển khai áp dụng quy trình chuyên môn trong cải tiến chất lượng chẩn đoán, điều trị, chăm sóc tại Bệnh viện.

**Điều 3.** Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký.

**Điều 4.** Trưởng phòng KHTH, các khoa lâm sàng căn cứ quyết định thi hành./.

**Nơi nhận:**

- Ban giám đốc;
- BHXH tỉnh Hà Giang;
- Website Bệnh viện;
- Lưu VT, KHTH.



**Hoàng Tiến Việt**



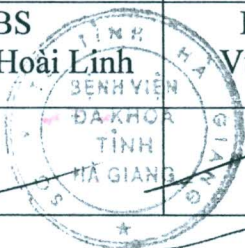
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG  
KHOA VI SINH

Mã số: QTĐD 02

Phiên bản: 1.1

**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
NUÔI CẤY VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN  
HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG**

Ngày ban hành:  
01/01/2017

|        | Người biên soạn                                                                     | Người xem xét                                                                                                                                                            | Người phê duyệt                                                                       |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Họ tên | Phạm Thùy Linh                                                                      | TK.BS<br>Nguyễn Thị Hoài Linh                                                                                                                                            | PGĐ.BSCKII<br>Vũ Hùng Vương                                                           |
| Ký tên |  |   |  |

Tài liệu nội bộ

**1. Mục đích**

Phát hiện vi khuẩn gây bệnh bằng phương pháp nuôi cấy, định danh trên hệ thống tự động.

**2. Phạm vi áp dụng**

Quy trình này áp dụng cho các nhân viên khoa Vi sinh – Bệnh viện đa khoa tỉnh Hà giang thực hiện.

**3. Trách nhiệm**

Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát tài liệu theo đúng quy định.

Cán bộ quản lý chất lượng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình và nhận định kết quả xét nghiệm

**4. Định nghĩa và viết tắt**

SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)

KVS = Khoa Vi sinh

ATSH = An toàn sinh học

**5. Nguyên lý**

Vi khuẩn được định danh bằng máy tự động dựa trên một số tính chất chuyển hóa kết hợp với các đặc điểm về hình thái học và tính chất bắt màu.

**6. Trang thiết bị và vật tư**

**6.1. Thiết bị**

- + Kính hiển vi quang học
- + Tủ ẩm thường
- + Tủ ẩm CO<sub>2</sub>
- + Hệ thống định danh tự động
- + Máy đo độ đục
- + Lò hấp ướt
- + Tủ an toàn sinh học cấp 2

**6.2. Dụng cụ, hóa chất, vật tư tiêu hao**

- + Lọ lấy bệnh phẩm Lọ
- + Que cấy
- + Lam kính
- + Dầu soi kính
- + Cồn 96 độ lau kính

- +Nước muối sinh lý
  - +Thuốc nhuộm đỏ fuchsin
  - +Thuốc nhuộm tím gentian
  - +Cồn tẩy 95 độ
  - +Lugol
  - +Thuốc nhuộm xanh methylen
  - +Môi trường nuôi cấy
  - +Card định danh theo hệ thống máy tự động
  - +Cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)
  - +Đèn cồn
- (Môi trường nuôi cấy được tính trên tỉ lệ dương là 50 % so với tổng số bệnh phẩm gửi xét nghiệm)

## **7. Bệnh phẩm và phiếu chỉ định**

### **7.1. Phiếu chỉ định**

Điền đầy đủ thông tin yêu cầu trên phiếu

### **7.2. Bệnh phẩm**

Tất cả các loại bệnh phẩm được chỉ định xét nghiệm vi khuẩn là: vi khuẩn nuôi cấy và định danh hệ thống tự động.

## **8. Kiểm tra chất lượng**

- Bệnh phẩm đảm bảo lấy trong vòng 2h
- Đảm bảo đủ số lượng bệnh phẩm
- Đảm bảo bệnh phẩm được đựng nguyên vẹn trong lọ đựng bệnh phẩm vô khuẩn hoặc que cấy vô khuẩn .
- Các hóa chất còn hạn sử dụng và luôn tuân thủ điều kiện bảo quản
- Tất cả các bước thực hiện phải được ghi chép đầy đủ.

## **9. An toàn**

- Thực hiện bảo hộ cá nhân đầy đủ khi tiếp xúc với chủng vi khuẩn.
- Phòng tránh lây nhiễm chéo.
- Các bước phải được tiến hành trong tủ ATSH.

## **10. Nội dung thực hiện**

### **10.1. Lấy bệnh phẩm**

Theo đúng quy trình kỹ thuật lấy bệnh phẩm của Khoa Vi Sinh đã ban hành

### **10.2. Tiến hành kỹ thuật**

Soi trực tiếp hay nhuộm đơn bệnh phẩm (bằng Xanh methylene) đánh giá sơ bộ  
Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường phân lập  
Ủ ấm qua đêm

Bắt khuẩn lạc nghi ngờ

Nhuộm soi ( nhuộm gram ), định danh bằng hệ thống tự động

**11. Diễn giải kết quả và báo cáo**

- Dương tính: Phân lập và định danh được vi khuẩn gây bệnh. Trả kết quả tên vi khuẩn đến mức độ chi và/hoặc loài.
- Âm tính: Không tìm thấy hoặc không phân lập được vi khuẩn gây bệnh.
- Lưu kết quả tại khoa

**12. Lưu ý**

- Đảm bảo kết quả đúng với mã bệnh phẩm cần phân lập
- Ghi rõ ràng, chính xác hình thể, tính chất bắt màu Gram của vi khuẩn

**13. Lưu trữ hồ sơ**

- In và trả kết quả sau khi kiểm tra.
- Ghi kết quả vào sổ theo dõi bệnh phẩm

**14. Sai sót và xử trí**

- Quy trình này chỉ áp dụng tìm vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện để nuôi cấy, không áp dụng cho các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Kết quả âm tính không có nghĩa là không có vi khuẩn gây bệnh trong bệnh phẩm mà là không tìm thấy căn nguyên vi khuẩn gây bệnh có thể phân lập được bằng quy trình nuôi cấy này. Nếu có yêu cầu tìm căn nguyên vi khuẩn nào đó, phải ghi yêu cầu cụ thể.
- Bệnh phẩm lấy, vận chuyển và bảo quản không đúng yêu cầu có thể đưa đến kết quả âm tính hoặc dương tính giả.

**15. Tài liệu liên quan**

- Quy trình an toàn phòng xét nghiệm
- Quy trình sử dụng kính hiển vi
- Quy trình nhuộm Gram
- Quy trình định danh các họ Enterobacteriaceae spp,
- quy trình định danh họ Non- enterococcus
- Quy trình định danh họ Streptococci
- Quy trình định danh họ Staphylococci.

**16. Tài liệu tham khảo**

- Kỹ thuật xét nghiệm Vi sinh lâm sàng (Nhà xuất bản Y Học, 2006)



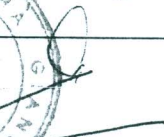
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG  
KHOA VI SINH

Mã số: QTKT 02

Phiên bản: 1.1

**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
VI KHUẨN NHUỘM SOI**

Ngày ban hành:  
01/01/2017

|        | Người biên soạn                                                                     | Người xem xét                                                                                                                                                               | Người phê duyệt                                                                       |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Họ tên | Phạm Thùy Linh                                                                      | TK.BS<br>Nguyễn Thị Hoài Linh                                                                                                                                               | PGĐ.BSCKII<br>Vũ Hùng Vương                                                           |
| Ký tên |  | <br> |  |

Lưu hành nội bộ

**1. Mục đích**

- Nhận định sơ bộ hình thể, tính chất bắt màu thuốc nhuộm Gram của vi khuẩn, vi nấm (nấm sợi và nấm men) và các hình ảnh bạch cầu, tế bào biểu mô (nếu có) trực tiếp từ bệnh phẩm.
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng để định hướng điều trị.

**2. Phạm vi áp dụng**

Quy trình này áp dụng cho các nhân viên khoa Vi sinh – Bệnh viện đa khoa tỉnh Hà giang thực hiện.

**3. Trách nhiệm**

Tất cả các nhân viên thuộc khoa Vi sinh có trách nhiệm thực hiện kiểm soát tài liệu theo đúng quy định.

Cán bộ quản lý chất lượng chịu trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình và nhận định kết quả xét nghiệm

**4. Định nghĩa và viết tắt**

SOP = Quy trình chuẩn (Standard of Procedure)  
KVS = Khoa Vi sinh  
ATSH = An toàn sinh học

**5. Nguyên lý**

Do sự khác biệt về vách tế bào nên trong quá trình nhuộm Gram, vi khuẩn Gram dương sẽ giữ được phức hợp tím gentian- iod mà không bị tẩy màu bởi cồn, trong khi đó vi khuẩn Gram âm không giữ được phức hợp này, do vậy kết quả sau khi nhuộm là vi khuẩn Gram (+) vẫn giữ được màu tím của gentian, còn vi khuẩn Gram (-) bắt màu ồng của Fuchsin.

**6. Trang thiết bị và vật tư**

**6.1. Thiết bị**

- + Tủ an toàn sinh học
- + Máy ly tâm ( cần cho một số bệnh phẩm là dịch các màng, khoang)
- + Dụng cụ sấy lam
- + Kính hiển vi quang học Olympus
- +

**6.2. Vật tư**

- +Dầu soi
- +Giấy thấm
- +Que cấy
- +Giá đỡ
- +Đèn cồn

- + Lọ đựng bệnh phẩm
- + Lam kính (02 lam)
- + Bông
- + Khay đựng bệnh phẩm
- + Bút viết kính

### 6.3. Hóa chất thuốc thử

- +Bộ thuốc nhuộm Gram
- + Nước muối sinh lý
- + cồn 90 độ (vệ sinh dụng cụ)

## 7. Bệnh phẩm và phiếu chỉ định

### 7.1. Phiếu chỉ định

Điền đầy đủ thông tin yêu cầu trên phiếu

### 7.2. Bệnh phẩm

Tất cả các loại bệnh phẩm được chỉ định xét nghiệm vi khuẩn là: vi khuẩn nhuộm soi và vi khuẩn nuôi cấy, định danh hệ thống tự động.

## 8. Kiểm tra chất lượng

- Bệnh phẩm đảm bảo lấy trong vòng 2h
- Đảm bảo đủ số lượng bệnh phẩm
- Đảm bảo bệnh phẩm được đựng nguyên vẹn trong lọ đựng bệnh phẩm vô khuẩn hoặc que cấy vô khuẩn .
- Các hóa chất còn hạn sử dụng và luôn tuân thủ điều kiện bảo quản
- Tất cả các bước thực hiện phải được ghi chép đầy đủ.

## 9. An toàn

- Thực hiện bảo hộ cá nhân đầy đủ khi tiếp xúc với chủng vi khuẩn.
- Phòng tránh lây nhiễm chéo.
- Các bước phải được tiến hành trong tủ ATSH.

## 10. Nội dung thực hiện

### 10.1. Làm lam nhuộm soi

- Lấy bệnh phẩm phết lên lam kính, ghi rõ ký hiệu bệnh phẩm
- Hơ qua ngọn lửa đèn cồn để cố định bệnh phẩm trên lam
- Nhỏ dung dịch tím gentian lên lam đảm bảo phủ kín bề mặt bệnh phẩm, để 60 giây.
- Rửa lam qua vòi nước chảy nhẹ
- Nhỏ tiếp dung dịch lugol lên tiêu bản, để 30 giây
- Rửa lam qua vòi nước chảy nhẹ

- Nhỏ cồn 95 độ lên lam, để 10 giây
- Rửa lam qua vòi nước chảy nhẹ
- Nhỏ dung dịch đỏ Fuchsin lên lam, để 60 giây
- Rửa sạch dưới vòi nước chảy nhẹ
- Làm khô lam trên máy sấy lam
- Soi trên kính hiển vi quang học

**10.2. Nhận định kết quả**

Soi lam bằng vật kính dầu trên kính hiển vi quang học và đọc kết quả:

- Vi khuẩn Gram (+) bắt màu tím sẫm của gentian.
- Vi khuẩn Gram (-) bắt màu đỏ của fuchsin.

**11. Diễn giải kết quả và báo cáo**

- Trả kết quả vi khuẩn nhuộm soi cho khoa lâm sàng theo nhận định khi soi lam trên kính hiển vi quang học
- Lưu kết quả tại khoa

**12. Lưu ý**

- Đảm bảo kết quả đúng với mã bệnh phẩm cần phân lập
- Ghi rõ ràng, chính xác hình thể, tính chất bắt màu Gram của vi khuẩn

**13. Lưu trữ hồ sơ**

- In và trả kết quả sau khi kiểm tra.
- Ghi kết quả vào sổ theo dõi bệnh phẩm

**14. Tài liệu liên quan**

- Quy trình an toàn phòng xét nghiệm
- Quy trình sử dụng kính hiển vi
- Quy trình nhuộm Gram

**15. Tài liệu tham khảo**

- Kỹ thuật xét nghiệm Vi sinh lâm sàng (Nhà xuất bản Y Học, 2006)

