

Số: 462 /QĐ-BV

Hà Giang, ngày 07 tháng 4 năm 2020

QUYẾT ĐỊNH

**Ban hành quy trình chuyên môn khám, chữa bệnh
Của Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang**

GIÁM ĐỐC BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG

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

Căn cứ Quyết định số 101/QĐ-BV, ngày 02/02/2018 của Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang về việc ban hành Quy chế làm việc;

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;

Căn cứ Quyết định số 1629/QĐ-BV ngày 13 tháng 12 năm 2017 của Giám đốc Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang về việc Ban hành và thực hiện áp dụng hệ thống quản lý chất lượng theo tiêu chuẩn TCVN ISO 9001:2015 vào hoạt động của Bệnh viện;

Xét đề nghị của Trưởng phòng KHTH.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thay thế Quy trình ban hành ngày 04/01/2016 tại trang 13 và trang 94 quyền Quy trình kỹ thuật chuyên ngành vi sinh. Nay ban hành kèm theo quyết định này quy trình chuyên môn khám, chữa bệnh (*Quy trình kỹ thuật cấy máu bằng máy cấy máu tự động*) là tài liệu hướng dẫn về thực hành quy trình chuyên môn được áp dụng tại khoa Vi sinh - Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hà Giang

Điều 2. Giao cho khoa Vi sinh và các khoa Lâm sàng, và bộ phận có liên quan 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, Khoa Vi sinh, Các khoa Lâm sàng và bộ phận liên quan căn cứ quyết định thi hành./. 

Nơi nhận:

- BHXH tỉnh Hà Giang;
- Website bệnh viện;
- Lưu: VT, KHTH.

GIÁM ĐỐC



K/T GIÁM ĐỐC
CHỖ GIÁM ĐỐC

Bs CKII. Vũ Hùng Vương

	BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH HÀ GIANG KHOA VI SINH		Mã số: VS - QTKT - 23 Phiên bản: 2.0 Ngày ban hành:...../...../2020
QUY TRÌNH KỸ THUẬT CẤY MÁU BẰNG MÁY CẤY MÁU TỰ ĐỘNG			
Họ tên	Người biên soạn	Người xem xét	Người phê duyệt
	<i>CN</i> <i>Bùi Thị Hải Bình</i>	<i>TK.BS</i> <i>Nguyễn Thị Hoài Linh</i>	<i>PGĐ.BSCKII</i> <i>Vũ Hùng Vương</i>
Ký/đóng dấu		 	
<i>ngày</i>	/...../.....	/...../.....	/...../.....

1. Mục đích

Hướng dẫn các bước tiến hành lấy máu, nuôi cấy, phân lập và định danh các vi khuẩn gây bệnh thường gặp trong bệnh phẩm máu bằng máy cấy máu tự động.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này áp dụng cho Khoa/Phòng/ Bộ phận xét nghiệm Vi sinh lâm sàng tại các bệnh viện.

3. Trách nhiệm

- Nhân viên thực hiện: Đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận của chuyên ngành Vi sinh Y học.

- Nhân viên nhận định, giám sát và phê duyệt kết quả: Có trình độ đại học hoặc sau đại học về chuyên ngành Vi sinh Y học.

4. Nguyên tắc

- Chai cấy máu được theo dõi hàng ngày nhờ hệ thống máy cấy máu tự động ủ và lắc liên tục. Máy cấy máu sử dụng đèn huỳnh quang trong máy quét 10 phút/lần vào lớp màng ở đáy chai để phát hiện nồng độ CO₂ hoặc sử dụng bộ phận cảm ứng đo màu và ánh sáng phản chiếu để phát hiện nồng độ CO₂ hòa tan trong môi trường nuôi cấy. Khi vi sinh vật phát triển trong chai cấy máu, CO₂ sẽ được sản sinh. Bộ phận cảm nhận ở đáy chai cấy máu có khả năng hấp thụ khí CO₂, sẽ chuyển từ màu xanh sẫm sang màu vàng. Máy cấy máu sẽ cảm nhận được thay đổi của phản chiếu qua sự đổi màu từ sẫm sang nhạt. Máy cấy máu sẽ quét và ghi lại sự thay đổi này 10 phút/lần.

- Kỹ thuật nuôi cấy, phân lập và định danh kinh điển sử dụng các môi trường lỏng như canh thang BHI và các môi trường thạch đĩa giàu chất dinh dưỡng để nuôi cấy và phân lập vi khuẩn gây bệnh. Các vi khuẩn gây bệnh được định danh dựa vào các đặc điểm về hình thái học, nuôi cấy, một số tính chất chuyển hóa và có thể kết hợp với tính chất kháng nguyên.

5. Trang thiết bị và vật tư

a. Trang thiết bị

- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Kính hiển vi quang học
- Tủ ấm thường 35 - 37°C
- Tủ ấm CO₂/hoặc các thiết bị tạo CO₂
- Tủ ấm 25 - 30°C
- Máy cấy máu tự động

b. Dụng cụ

- Bơm, kim tiêm vô trùng
- Bông thấm vô trùng
- Dây garo
- Cồn sát trùng
- Que cấy
- Đèn cồn
- Lam kính
- Dầu soi

c. Vật liệu

Môi trường nuôi cấy:

- Chai cấy máu nuôi cấy vi khuẩn hiếu khí dùng cho người lớn
- Chai cấy máu nuôi cấy vi khuẩn hiếu khí dùng cho trẻ em
- Chai cấy máu nuôi cấy vi khuẩn kỵ khí
- Thạch máu (BA)
- Thạch Socola (CA)
- Thạch Uti

Hóa chất:

- Bộ thuốc nhuộm Gram
- Các chủng chuẩn để kiểm tra chất lượng môi trường, hóa chất, sinh phẩm,

chai cấy máu.

6. Kiểm tra chất lượng

- Các loại dụng cụ, hóa chất, môi trường nuôi cấy phải được kiểm tra để đảm bảo không bị nhiễm bẩn.

- Các loại chai cấy máu, sinh phẩm, môi trường nuôi cấy phải còn hạn sử dụng và trước khi sử dụng phải được tiến hành kiểm tra chất lượng để đảm bảo chất lượng.

7. An toàn

- Áp dụng các biện pháp an toàn sinh học cấp II khi xử lý bệnh phẩm và thực hiện xét nghiệm.

- Tất cả các bệnh phẩm được xem như là nguồn nhiễm.

- Sử dụng tủ an toàn sinh học cấp II để tránh nhiễm bẩn và bảo vệ cho nhân viên.

8. Nội dung thực hiện

a. Chuẩn bị

- Lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm:

Bệnh phẩm được lấy, vận chuyển và bảo quản theo quy định của Khoa/Phòng/Bộ phận xét nghiệm vi sinh.

- **Thời điểm:** Lấy máu khi bệnh nhân bắt đầu sốt cao, trước khi có biểu hiện rét run, không được chậm trễ vì theo thời gian lượng vi khuẩn trong máu sẽ giảm xuống sau khi bệnh nhân hạ sốt.

- **Kỹ thuật lấy máu:**

- + Chọn tĩnh mạch, buộc garô.
 - + Sát trùng da bằng cách xoay tròn bông sát trùng từ tâm ra ngoài. Sử dụng cồn 70% và iodine 2% (1 phút) hoặc providone iodine (2 phút).
 - + Để khô 1 - 2 phút.
 - + Lấy máu bằng bơm tiêm vô trùng.
 - + Bơm nhẹ máu chảy dọc theo thành chai cấy máu.
 - + Không lắc mạnh, tránh vỡ hồng cầu.
 - + Tháo garô, sát trùng da lại.
 - + Sau khi lấy máu xong sát khuẩn lại nắp chai máu cắm kim tiêm để bơm máu vào chai cấy máu.
 - + Lặp lại quy trình trên với tay còn lại khi có chỉ định cấy máu hai mẫu ở hai vị trí (thường là tay phải và tay trái)
- **Số lần cấy máu:**
- + Có thể lấy 2 mẫu máu ở 2 vị trí, cùng thời điểm: 1 chai cấy máu hiệu khí và 1 chai cấy máu kỵ khí.
 - + Có thể lấy 2 mẫu máu ở 1 vị trí, cùng thời điểm: 1 chai cấy máu hiệu khí và 1 chai cấy máu kỵ khí.
 - + Có thể lấy máu nhiều lần trong 1 ngày (ví dụ bệnh Osler).
 - + Có thể lấy máu nhiều ngày liên tiếp.
- + Không nên cấy máu 1 lần. Nếu bắt buộc phải cấy máu 1 lần nên sử dụng chai cấy máu hiệu khí.

- Dụng cụ chứa: Chai cấy máu thương mại.

- Thể tích: Tỷ lệ thể tích máu/môi trường là 1/5.

+ Người lớn lấy khoảng 8-10 ml máu/1 chai 50 ml canh thang.

+ Trẻ em lấy khoảng 1-3 ml máu /1 chai 30 ml canh thang.

- Vận chuyển: Gửi ngay đến phòng xét nghiệm càng sớm càng tốt.

- Bảo quản: Có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng nhưng không quá 4 tiếng.

Tuyệt đối không được bảo quản trong tủ lạnh.

- **Tiếp nhận bệnh phẩm:**

- Quan sát tình trạng của chai cấy máu.

- Quan sát điều kiện bảo quản và thời gian vận chuyển phù hợp.

- Đối chiếu các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm và chai cấy máu. Bổ sung phần còn thiếu (nếu có) vào phiếu yêu cầu. Thông tin về chẩn đoán bệnh

giúp xử lý bệnh phẩm tốt hơn.

Các tiêu chí từ chối bệnh phẩm:

- Bệnh phẩm lấy, vận chuyển và bảo quản không đúng qui định
- Trong một số trường hợp đặc biệt, thể tích máu không đủ nên thông báo ngay với bác sỹ lâm sàng về mức độ kém chính xác của kết quả.

b. Các bước thực hiện

- Quan sát số lượng bệnh phẩm và lưu số:
- Quan sát và ghi nhận số lượng máu lấy được trong chai cấy máu
- Đưa chai cấy máu vào trong máy và ủ ấm:
- Đưa chai cấy máu vào máy càng sớm càng tốt ngay sau khi nhận được.

Chai cấy máu được đưa vào máy theo hướng dẫn sử dụng của từng loại máy.

- Ủ ấm chai cấy máu từ 4-5 ngày.

Lấy chai cấy máu ra khỏi máy:

Nếu có vi khuẩn mọc, máy sẽ báo dương tính. Nếu không có vi khuẩn mọc, chai cấy máu sẽ được báo âm tính sau thời gian cài đặt thời gian ủ. Các chai cấy máu dương tính và âm tính được đưa ra khỏi máy theo hướng dẫn của từng loại máy. Cấy chuyển chai cấy máu dương tính và ủ ấm đĩa thạch:

- Sát khuẩn đầu nút cao su của chai cấy máu bằng bông cồn 700.
- Dùng bơm tiêm 5 ml đâm kim qua nút cao su rút khoảng 0,5ml máu.
- Nhỏ 1 giọt máu lên lam kính sạch, để khô, cố định rồi nhuộm Gram. Nhận định sơ bộ hình thái, cách sắp xếp, tính chất bắt màu của vi khuẩn.
- Cấy chuyển máu sang môi trường BA, CA, Uti. Dùng que cấy vô trùng ria đều khắp bề mặt thạch để tạo khuẩn lạc (khóm) riêng rẽ.
- Ủ ấm thạch BA, CA ở nhiệt độ 37°C trong tủ ấm CO₂/ qua đêm.
- Ủ ấm môi trường Uti ở nhiệt độ 37°C trong tủ ấm thường/ qua đêm.

Đọc đĩa thạch sau khi ủ ấm:

- Quan sát bằng mắt thường sự phát triển của vi sinh vật sau 24 tiếng trên tất cả các đĩa thạch.

- Nếu thấy vi sinh vật phát triển:
 - + Thông báo ngay cho bác sỹ về kết quả chẩn đoán sơ bộ vi sinh vật dựa vào kết quả nhuộm Gram và hình thái khuẩn lạc (khóm).
 - + Tiến hành định danh vi sinh vật.
- Nếu không thấy vi sinh vật phát triển, tiến hành nhuộm Gram lại chai cấy máu để định hướng tìm nguyên nhân và khắc phục

Định danh vi khuẩn và thực hiện kháng sinh đồ:

- Định danh tất cả các vi sinh vật phát triển trên môi trường. Xác định chi và loài của các tác nhân gây bệnh trong vòng 2 giờ sau khi quan sát thấy khuẩn lạc
 - + Nhuộm Gram khuẩn lạc

+ Quan sát hình thái khuẩn lạc
+ Xác định tính chất sinh vật hóa học của vi sinh vật bằng bộ sinh vật hóa học, máy định danh tự động/hoặc định danh vi sinh vật bằng máy định danh khối phổ.

- Thực hiện kháng sinh đồ đối với vi khuẩn/vi nấm gây bệnh.

Đọc kết quả:

- Dương tính: Phân lập và định danh được vi khuẩn/vi nấm gây bệnh. Trả kết quả tên vi khuẩn/vi nấm đến mức độ chi và/hoặc loài.

- Âm tính: Không tìm thấy hoặc không phân lập được vi khuẩn/vi nấm gây bệnh.

- Lưu giữ các chai cấy máu, đĩa môi trường nuôi cấy dương tính theo qui định của khoa/Phòng/Bộ phận Vi sinh.

- Lưu giữ lâu dài các chủng phân lập được trong tủ lạnh âm sâu.

9. Báo cáo kết quả

a. Báo cáo kết quả cấy máu dương tính

- Báo cáo kết quả nhuộm Gram từ canh thang cấy máu dương tính càng sớm càng tốt, thường là trong vòng 1 tiếng sau khi chai cấy máu dương tính. Sự có mặt của bất kỳ loại vi khuẩn/vi nấm nào đều có ý nghĩa.

- Báo cáo kết quả nuôi cấy sơ bộ chi và loài càng sớm càng tốt trong khi tiếp tục tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.

- Báo cáo kết quả định danh vi khuẩn/vi nấm đến mức độ chi và/hoặc loài theo đúng qui định.

+ Cấy máu 1 lần Dương tính với loài vi khuẩn gây bệnh thường gặp sẽ được coi là tác nhân gây nhiễm khuẩn huyết.

+ Cấy máu ≥ 2 lần Dương tính với loài vi khuẩn gây bệnh ít gặp như các vi khuẩn Staphylococci coagulase âm, Corynebacteria, Bacillus... có trên da và trong môi trường vẫn được coi là tác nhân gây nhiễm khuẩn huyết.

b. Báo cáo kết quả cấy máu âm tính

- Sau ủ âm 3 ngày nếu không thấy dấu hiệu nghi ngờ có vi khuẩn mọc, thông báo sơ bộ cấy máu âm tính với bác sỹ lâm sàng

- Sau ủ âm 5 ngày máy báo kết quả âm tính, trả lời kết quả cuối cùng là “cấy máu âm tính sau 5 ngày nuôi cấy”.

c. Báo cáo kết quả cấy máu dương tính giả

Trong một số trường hợp, máy có thể báo dương tính nhưng do máu bị vỡ hồng cầu. Trong trường hợp này không có vi khuẩn mọc nên được báo cáo như kết quả cấy máu âm tính.

d. Báo cáo kết quả cấy máu nhiễm bẩn

Những trường hợp cấy máu 1 lần dương tính với các vi khuẩn vi hệ trên da, trong môi trường

10. Diễn giải kết quả

- Báo cáo kết quả cấy máu dương tính nghĩa là bệnh nhân được coi là nhiễm khuẩn huyết.
- Nhiễm khuẩn huyết đa tác nhân có thể xảy ra. Cần kiểm tra lại các bước của quy trình và đối chiếu với lâm sàng.

11. Hạn chế

- Nồng độ vi khuẩn trong máu thấp nên máy không phát hiện được.
- Bệnh nhân đã điều trị kháng sinh từ trước.
- Số lượng máu lấy quá ít, không đủ để vi khuẩn phát triển.
- Môi trường nuôi cấy không phù hợp để phát hiện các vi khuẩn đặc biệt.
- Chất chống đông SPS có thể ức chế vi khuẩn phát triển.
- Một số bệnh có triệu chứng giống như nhiễm khuẩn huyết, có nhiều trường hợp gây sốt chưa rõ nguyên nhân.
- Vi khuẩn có thể sản xuất CO₂ với nồng độ rất thấp nên máy không phát hiện được.
- Một số vi khuẩn khó mọc gây nhiễm khuẩn huyết nhưng không phát triển được trong môi trường nuôi cấy thông thường.

12. Lưu ý (cảnh báo)

- Quy trình này chỉ áp dụng để nuôi cấy vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện dễ mọc, 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 bác sỹ lâm sàng có yêu cầu tìm vi khuẩn gây bệnh hiếm gặp, vi nấm gây bệnh phải ghi cụ thể để tránh bỏ sót.
- Bệnh phẩm lấy, vận chuyển và bảo quản không đúng yêu cầu có thể đưa đến kết quả âm tính hoặc dương tính giả.

13. Lưu trữ hồ sơ

Tất cả hồ sơ được lưu trữ theo qui định phù hợp với Khoa/Phòng/Bộ phận vi sinh của từng bệnh viện.