**BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI**

**KHOA HÓA SINH – VI SINH**

****

**QUY TRÌNH NUÔI CẤY BỆNH PHẨM**

**DỊCH SINH DỤC**

**QTKT.NC.59**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Người biên soạn** | **Người xem xét** | **Lãnh đạo bệnh viện phê duyệt** |
| Họ và tên | **BSCKI.Nguyễn Thị Việt Hà** | **BSCKI.Hồ Thị Phi Nga** | **BSCKII.Phạm Văn Thinh** |
| Chữ ký |  |  |  |
|  | **CN.Hoàng Thị Lý** |
| Chữ ký |  |
|  | **KTV.Lê Thị Ánh** |
| Chữ ký |  |
| Ngày ký | 09/08/2023 | 11/08/2023 | 15/08/2023 |
| Ngày có hiệu lực: 16/08/2023 Lần sửa đổi: | | | |
| *Tài liệu nội bộ* | | | |

|  |
| --- |
| Ngày có hiệu lực: Lần sửa đổi: |
| *Tài liệu nội bộ* |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Logo-Bvlc-BW135** | **QUY TRÌNH NUÔI CẤY DỊCH SINH DỤC** | Mã số: QTKT.NC.59  Phiên bản số: 1.0 |

**NƠI NHẬN** *(ghi rõ nơi nhận rồi đánh dấu ✓ vào ô bên cạnh)*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ☑ | Hội đồng khoa học bệnh viện | ☑ | Ban Giám Đốc | ☑ | Phòng KHTH |
| ☑ | Tổ QLCL | ☑ | Khoa Hóa sinh – Vi sinh |  |  |

**THEO DÕI TÌNH TRẠNG SỬA ĐỔI** (*tình trạng sửa đổi so với bản trước đó)*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Mã tài liệu** | **Nội dung xem xét/ sửa đổi** | **Ngày xem xét/ sửa đổi** | **Người xem xét/ sửa đổi** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

*Tài liệu nội bộ*

**QUY TRÌNH NUÔI CẤY DỊCH SINH DỤC**

**1. Mục đích**

- Phát hiện các căn nguyên vi khuẩn, vi nấm gây bệnh trong bệnh phẩm dịch sinh dục được thu thập từ bệnh nhân nghi ngờ nhiễm khuẩn bệnh lây truyền bằng đường sinh dục (phụ nữ, nam giới) hay khi bị dịch viêm đường sinh dục nghi ngờ do nhiễm khuẩn.

- Thống nhất và chuẩn hóa kĩ thuật nuôi cấy phân lập và xác định vi khuẩn, vi nấm gây bệnh từ bệnh phẩm dịch sinh dục.

- Hướng dẫn cho toàn bộ nhân viên trong khoa Hóa sinh - Vi sinh hiểu và tuân thủ theo quy trình nuôi cấy dịch sinh dục từ đó tránh được tối đa sai sót có thể gặp trong giai đoạn trước xét nghiệm, trong xét nghiệm và sau xét nghiệm.

**2. Phạm vi áp dụng**

- Quy trình này được áp dụng tại phòng nuôi cấy - Labo vi sinh khoa Hóa sinh – Vi sinh – BVĐK tỉnh Lào Cai.

- Thời gian áp dụng: 24h trong ngày, các ngày trong tuần.

**3. Trách nhiệm**

- Hội đồng khoa học kỹ thuật của Bệnh viện có trách nhiệm thẩm định quy trình.

- Lãnh đạo bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

- Lãnh đạo khoa Hóa sinh - Vi sinh, tổ quản lý chất lượng của khoa có trách nhiệm triển khai, duy trì tính hiệu lực của quy trình.

- Tất cả nhân viên khoa Hóa sinh - Vi sinh đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

- Người đủ thẩm quyền, được giao nhiệm vụ nhận định và ký duyệt kết quả.

**4. Định nghĩa, thuật ngữ và chữ viết tắt**

***4.1 Định nghĩa:*** Không áp dụng.

***4.2. Thuật ngữ, chữ viết tắt***

- ATCC: American Type Culture Collection- hệ thống chủng chuẩn của Mỹ.

- BA: Blood agar thạch máu.

- CA: Chocolate agar.

- MC: Maconkey agar.

- MH: Muller hinton agar.

- Uti: Uti agar.

- Sab: Sabouraud agar.

**5. Nguyên lý**

- **S**ử dụng môi trường đĩa thạch giàu chất dinh dưỡng để nuôi cấy và phân lập vi khuẩn/vi nấm trong bệnh phẩm dịch sinh dục.

- Vi khuẩn/vi nấm được định danh dựa vào hình thái học nuôi cấy, một số tính chất chuyển hóa và có thể kết hợp với tính chất kháng nguyên hoặc sử dụng hệ thống máy định danh tự động.

**6. Trang thiết bị và vật tư**

***6.1. Thiết bị***

- Tủ an toàn sinh học cấp II. Mã máy XN.VK.TB 05 (SN: PCB 12001510085)

- Máy định danh và kháng sinh đồ vi khuẩn Vitek 2 compact. Mã máy: XN.VK.TB01 (SN: VK2 C11875)

- Máy đo độ đục chuẩn McFarland (phụ kiện kèm theo máy vitek 2 compact). Mã máy: XN.VK.TB01

- Kính hiển vi quang học. Mã máy XN.VK.TB 11 (SN 2F32827)

- Máy sấy lam. Mã máy: XN.L.TB02 (SN: SNSD1041L1211)

- Máy lắc. Mã máy: XN.VK.TB17 (SN: 336767)

- Tủ ấm thường 35-370C. Mã máy: XN.VK.TB09 + XN.VK.TB07 (SN: E24343LH008, E24343LH005)

- Tủ ấm 5 % CO2, nhệt độ 35-37o C. Mã: XN.VK.TB06 (SN: E24393L10006)

- Pipette thể tích 145 µL. Mã máy: XN.VK.TB19 (SN: 13523514)

- Pipette thể tích 40 µL. Mã máy: XN.VK.TB20 (SN: 13523615)

***6.2. Vật tư/ vật liệu***

6.2.1. Dụng cụ

- Trang phục bảo hộ phù hợp.

- Găng tay, khẩu trang, mũ trùm đầu, ống nghiệm lấy mẫu.

- Cồn sát trùng, bút ghi kính, giấy in, panh, kéo, mã code.

- Đầu côn thể tích 100 -1000 µL, đầu côn thể tích 0-200 µL.

- Giá đựng mẫu, rack chạy mẫu (kèm theo máy Vitek 2 compact).

- Que cấy kim loại hoặc ăng nhựa vô trùng.

- Pipet paster.

- Ống nhựa chạy máy vitek.

- Ống thủy tinh 5 mL nước muối NaCl 0.9% dùng cho làm kháng sinh đồ phương pháp thông thường.

- Ống nhựa vô trùng 5mL có nắp vặn.

- Que tăm bông vô trùng, que tăm bông kẽm.

- Đèn cồn hoặc lò vi đốt.

- Bật lửa.

- Lam kính.

- Hộp an toàn.

- Bút ghi kính.

- Sổ nuôi cấy bệnh phẩm dịch.

- Giá để bệnh phẩm.

6.2.2. Hóa chất/sinh phẩm

- Môi trường nuôi cấy: BA, CA, Uti, Sab, Mueller hinton hoặc môi trường chuyên dụng làm kháng sinh đồ khác.

- Thẻ định danh (GN, GP, YST, NH), thẻ kháng sinh đồ (AST GN, AST GP, AST YS08, AST ST03), khoanh giấy kháng sinh (nếu làm kháng sinh đồ phương pháp khoanh giấy khuếch tán).

- Bộ thuốc nhuộm Gram.

- Thuốc nhuộm xanh methylen

- Nước muối chạy máy Vitek 2 Compact 0.45%.

- Nước muối NaCl 0.9%

- Dầu soi kính.

6.2.3. Mẫu bệnh phẩm

***Ở nam giới:***

- Đẩy da qui đầu ra sau, dùng cồn 70% lau sạch da qui đầu, chờ khô.

- Bệnh nhân vuốt nhẹ dương vật dọc theo đường tiểu (niệu đạo) để ra cho được một giọt mủ và thấm giọt mủ lên một que tăm bông vô khuẩn, phần còn lại phết trên một lam kính. Gửi ngay đến phòng xét nghiệm càng sớm càng tốt, trong vòng 15 phút từ khi lấy bệnh phẩm.

- Nếu bệnh nhân không vuốt được mủ ra, có thể dùng que tăm bông mảnh luồn vào bên trong ống niệu quản sâu khoảng 3-4 cm, xoay nhẹ và rút ra, cho ngay vào ống vô trùng chuyển ngay trong vòng 15 phút đến phòng xét nghiệm

- Nếu chỉ cần cấy phân lập tìm *N. gonorrhoeae*, cách lấy là dùng que cấy nhựa hay que cấy kim loại hoặc que tăm bông mảnh luồn vào bên trong ống niệu quản sâu khoảng 3-4 cm, xoay nhẹ và rút ra. Cấy ngay trên đĩa thạch máu và Chocolate (đối với phòng lấy mẫu trực tiếp tại labo vi sinh) hoặc gửi ngay trong vòng 15 phút đến phòng xét nghiệm (đối với các khoa/ phòng khám) tương tự các trường hợp khác (VD: dịch ở nữ giới, trẻ em ...)

- Các loại bệnh phẩm khác có thể lấy để khảo sát là phết hậu môn, phết họng, phết mủ khi lấy nội soi trực tràng ở người đồng tính luyến ái.

***Ở nữ giới:***

- Bệnh nhân được nằm trên bàn khám phụ khoa, rửa sạch bộ phận sinh dục ngoài bằng nước, thấm khô, sau cho cho mỏ vịt vào. Mỏ vịt được tiệt trùng bằng hấp ướt hay sấy khô, không tiệt trùng bằng hóa chất.

- Dùng tăm bông lấy dịch viêm ở thành sau của âm đạo để xét nghiệm trực tiếp tìm *T. vaginalis* và nấm. Tăm bông này được cho vào ống vô trùng rồi gửi ngay đến phòng xét nghiệm để soi tươi. Nếu muốn nuôi cấy tìm vi khuẩn hay nấm thì lấy dịch viêm phết bằng que tăm bông vận chuyển ngay trong vòng 15 phút đến phòng xét nghiệm.

- Đối với người bị nghi nhiễm lậu, lấy bệnh phẩm từ lòng cổ tử cung bằng cách dùng bông vô trùng lau sạch huyết trắng, sau đó dùng một tăm bông mảnh đưa vào lòng cổ tử cung xoay nhẹ trong 10 giây trước khi rút ra. Lấy mẫu bằng 2 que tăm bông, một que phết lên một lam kính, que còn lại cấy ngay vào môi trường thạch máu, chocolate ( đối với phòng lấy mẫu ở labo vi sinh ) hoặc gửi ngay trong vòng 15 phút tới phòng xét nghiệm.

***Ở trẻ em:***

- Dùng tăm bông vô khuẩn lấy mủ mắt nếu nghi bị viêm mủ kết mạc mắt do lậu cấy ngay lên môi trường thạch máu, chocolate (đối với bệnh phẩm lấy tại labo vi sinh) hoặc gửi ngay trong vòng 15 phút tới phòng xét nghiệm.

Các trường hợp đặc biệt:

- Các vết loét: Lau sạch bằng bông vô khuẩn, nặn chất dịch vào một tăm bông vô khuẩn, phần còn lại phết trên một lam kính. Que tăm bông cấy ngay lên môi trường thạch máu, chocolate ( đối với bệnh phẩm lấy tại labo vi sinh) hoặc gửi ngay trong vòng 15 phút tới phòng xét nghiệm.

***-*** Lấy bệnh phẩm theo đúng quy định của "Sổ tay dịch vụ khách hàng" XN-STDVKH.01.

- Từ chối với những mẫu bệnh phẩm không đạt yêu cầu ghi vào "Sổ từ chối mẫu" (XN-BM 5.8.1/03).

**7. Kiểm tra chất lượng**

- Các loại dụng cụ, hóa chất, môi trường nuôi cấy phải được bảo quản theo đúng khuyến cáo của nhà sản xuất và không bị nhiễm bẩn.

**-** Cácloại sinh phẩm hóa chất, môi trường nuôi cấy phải còn hạn sử dụng và trước khi sử dụng phải được tiến hành kiểm tra chất lượng theo ‘‘Quy trình nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm ’’ XN-QTQL 5.8.5

- Xét nghiệm được chạy nội kiểm theo quyết định số 139/BVT/KHTH và theo các quy trình nội kiểm.

- Xét nghiệm được ngoại kiểm theo ‘‘Quy trình ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm ’’ XN-QTQL 5.8.6

**8. An toàn**

- Nhiệt độ phòng quy định từ 21°C → 26°C theo QĐ 35/2005/QĐ BYT.

- Độ ẩm ≤ 70%.

- Đeo găng tay, khẩu trang khi làm việc.

- Làm sạch khu vực làm việc với dung dịch cồn 70°C trước và sau mỗi lần làm việc.

- Khi có sự cố tràn đổ bệnh phẩm phải khắc phục theo hướng dẫn trong "Sổ tay an toàn sinh học" XN-STATSH.

- Thực hiện đúng các quy trình xử lý rác thải, mẫu bệnh phẩm, mẫu nội kiểm đã chạy, vỏ lọ hóa chất đã sử dụng theo "Quy trình hướng dẫn an toàn " XN-QTQL 5.12.2.

- Luôn luôn coi mẫu bệnh phẩm đều có nguy cơ lây truyền các bệnh truyền nhiễm.

- Thực hiện an toàn điện, phòng chống cháy nổ, xử lý khi có sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm theo sổ tay an toàn sinh học.

**9. Nội dung thực hiện**

***9.1. Chuẩn bị***

- Kiểm tra máy, kiểm tra hóa chất, vật tư đầy đủ để thực hiện xét nghiệm.

- Đối chiếu thông tin bệnh nhân, mã code với giấy chỉ định trước khi thực hiện xét nghiệm.

- Phòng vi sinh tiếp nhận xử lý mẫu bệnh phẩm càng sớm càng tốt ngay sau khi nhận được mẫu, thời gian xử lý mẫu không quá 30 phút từ sau khi tiếp nhận mẫn bệnh phẩm.

***9.2. Các bước tiến hành***

- Vào sổ hành chính (sổ cấy bệnh phẩm dịch): mã số dịch (vd: 1D, 2D), mã bệnh nhân, họ tên, tuổi, khoa, chẩn đoán, ngày cấy.

- Quy trình xét nghiệm mẫu dịch sinh dục bao gồm các bước sau:

***Bước 1: Nuôi cấy dịch sinh dục***

- Nuôi cấy:

+ Dùng tăm bông chứa bệnh phẩm thực hiện nuôi cấy phân vùng trên môi trường BA, CA, Uti. Nếu có chỉ định nuôi cấy nấm cấy thêm 1 đĩa Sab.

+ Cấy phân vùng 4 vùng nhằm thu được khuẩn lạc vi khuẩn riêng rẽ.

+ Ủ ấm các đĩa thạch đã nuôi cấy dịch sinh dục.

- Điều kiện ủ ấm đĩa thạch BA, CA

+ Nhiệt độ 35-37°C

+ Khí trường: 5%CO2

+ Thời gian: Thường quy: 24- 48h.72h (với vi khuẩn khó mọc), 96h (với vi nấm)

- Điều kiện ủ ấm đĩa thạch Uti

+ Nhiệt độ 35-37°C

+ Thời gian: Thường quy: 18-24h, 48h. 72h (với vi khuẩn khó mọc), 96h (với vi nấm)

- Điều kiện ủ ấm đĩa thạch Sab

+ Nhiệt độ 30°C

+ Thời gian: Thường quy: 24h - 96h

***Bước 2: Thực hiện soi trực tiếp, nhuộm gram***

- Bệnh phẩm lấy ở nam giới hay dịch kết mạc mắt ở trẻ em sơ sinh:

+ Làm tiêu bản nhuộm gram, nhuộm gram theo quy trình QTKT.ST.26

+ Quan sát dưới kính hiển vi độ phóng đại X100 (vật kính dầu).

+ Nếu chỉ có 4-10 bạch cầu trong một vi trường và không có song cầu gram âm nội tế bào thì rất nhiều khả năng bệnh nhân bị viêm niệu đạo không phải do lậu.

+ Nếu có trên 10 bạch cầu trong một vi trường hay phát hiện có song cầu gram âm nội tế bào có thể chắc chắn 98% bệnh nhân bị lậu, trường hợp này cần trao đổi ngay với bác sỹ điều trị.

+ Không làm tiêu bản nhuộm gram với bệnh phẩm phết họng hay phết hậu môn.

+ Tuy nhiên, nếu là phết mủ lấy từ nội soi trực tràng thì rất có giá trị để làm tiêu bản nhuộm gram.

- Bệnh phẩm lấy ở phụ nữ:

+ Làm tiêu bản soi tươi dưới vật kính x40 theo quy trình ‘‘*Trichomonas vaginalis* soi tươi ’’ QTKT.ST.29, rất cần thiết để phát hiện *Trichomonas vaginalis* và nấm men.

+ Làm tiêu bản nhuộm gram các tăm bông lấy bệnh phẩm trên lam kính và quan sát dưới kính hiển vi X100, vật kính dầu nhằm đánh giá vi khuẩn và nấm men.

+ Trường hợp bệnh phẩm lấy từ âm đạo:

* Nếu có ít <5 bạch cầu trong 1 vi trường và có trực khuẩn gram dương

(thường là *Lactobacilus),* thì đây là bệnh phẩm dịch âm đạo bình thường.

* Nếu có ít< 5 bạch cầu trong 1 vi trường, không có các trực khuẩn gram dương, có nhiều trực khuẩn gram âm nhỏ quanh tế bào kèm các vi khuẩn khác như cầu trực khuẩn gram âm, trực khuẩn gram âm, trực khuẩn gram âm cong, thì nhiều khả năng bệnh nhân viêm âm đạo do Gardnerella Vaginalis.
* Nếu có > 10 bạch cầu trong vi trường, có khả năng bệnh nhân bị nhiễm *C. trachomatis*. Với bệnh phẩm lấy từ cổ tử cung: Soi và nhận định kỹ sự hiện diện của các song cầu gram âm nội tế bào. Tuy nhiên kết quả nhuộm gram chỉ mang tính định hướng, không khẳng định bệnh nhân bị lậu.

- Trường hợp bệnh phẩm là nước tiểu (chỉ áp dụng đối với trường hợp bác sỹ chỉ định nuôi cấy tìm lậu, bệnh nhân không lấy được dịch niệu đạo): Lấy mẫu nước tiểu bằng phương pháp vô khuẩn, nhưng tốt nhất là lấy nước tiểu đầu dòng hay cuối dòng. Nước tiểu khi gửi tới phòng xét nghiệm cần được tiến hành xét nghiệm ngay bằng cách ly tâm lạnh ở tốc độ 3000 vòng/ 5 phút. Sau đó lấy cặn vừa làm tiêu bản nhuộm gram, vừa cấy vào các môi trường phân lập. Nếu quan sát nhuộm gram có song cầu gram âm đặc trưng và nội tế bào, có thể trả lời kết quả sơ bộ, định hướng cho bác sỹ là nghi ngờ lậu, Trong khi tiến hành nuôi cấy và thực hiện các bước định danh tiếp theo.

- Trường hợp vết loét sinh dục: Soi tươi tìm *C.trachomatis* theo quy trình‘‘*Trichomonas vaginalis* soi tươi ’’ QTKT.ST.29, rất cần thiết để phát hiện *Trichomonas.*

***Bước 3: Đọc các đĩa thạch sau khi ủ ấm***

- Quan sát bằng mắt thường sự phát triển của vi sinh vật thường quy sau 24-48h trên tất cả các đĩa thạch nuôi cấy.

- Nếu không thấy vi sinh vật phát triển, tiếp tục ủ ấm thêm sau 72h nhằm theo dõi các chủng vi khuẩn khó mọc.

- Nếu có chỉ định nuôi cấy nấm, theo dõi đĩa thạch Sab hằng ngày tới 4 ngày

(theo quy trình nuôi cấy nấm)

- Nếu thấy vi sinh vật phát triển, xác định vi sinh vật mọc chiếm ưu thế trên đĩa thạch hoặc vi sinh vật là căn nguyên gây bệnh (xem phần diễn giải kết quả), phải thông báo ngay cho bác sỹ về kết quả chuẩn đoán sơ bộ vi sinh vật trong khi tiến hành các bước định danh tiếp theo.

- Dựa vào hình thái và khuẩn lạc, kết quả nhuộm gram khuẩn lạc, làm thử nghiệm tính chất sinh vật hóa học, giá đường API 20 E, API 20 NE, hoặc sử dụng phương pháp định danh bằng hệ thống tự động nhằm định danh vi khuẩn/ vi nấm và thực hiện kháng sinh đồ nếu có chỉ định của bác sỹ lâm sàng.

- Tùy theo chỉ định của bác sỹ lâm sàng thực hiện định danh và phân lập vi khuẩn/vi nấm theo các quy trình:

+ Quy trình chạy vận hành Vitek 2 Compact QTKT.M 01

+ Quy trình vi khuẩn nuôi cấy và định danh hệ thống tự động QTKT.NC.35

+ Quy trình vi khuẩn nuôi cấy và định danh phương pháp thông thường QTKT.NC.36

+ Quy trình vi nấm nuôi cấy và định danh hệ thống tự động

+ QTKT.NC.39

+ Quy trình Vi nấm nuôi cấy và định danh phương pháp thông thường QTKT.NC.40

- Tùy theo chỉ định của bác sỹ lâm sàng thực hiện kháng sinh đồ cho vi khuẩn/ vi nấm gây bệnh theo các quy trình

+ Quy trình vận hành máy Vitek 2 Compact QTKT.M.01

+ Quy trình vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động QTKT.NC.38

+ Quy trình vi khuẩn kháng thuốc định tính QTKT.NC.37

+ Quy trình vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc định tính hoặc vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc trên máy tự động QTKT.NC.41

- Trường hợp không đủ sinh phẩm để thực hiện định danh thông thường, trao đổi bác sỹ lâm sàng để lựa chọn phương pháp định danh thay thế phù hợp nếu cần

(định danh bằng hệ thống tự động).

**10. Diễn giải kết quả và báo cáo**

***10.1. Diễn giải kết quả***

- Đối với các vi khuẩn: Liên cầu nhóm B*, N.gonorrhoeae, Hemophilus ducreyi* số lượng nào cũng báo cáo trả kết quả và trao đổi bác sỹ làm kháng sinh đồ phù hợp.

**-** Đối với các căn nguyên vi sinh vật gây bệnh khác: Mọc trên các đĩa nuôi cấy số lượng nhiều và thuần mới báo cáo trả kết quả và trao đổi bác sỹ làm kháng sinh đồ phù hợp.

10.1.1. Các vi sinh vật gây bệnh thường gặp trong bệnh phẩm dịch sinh dục

Vi khuẩn:

- *N. gonorrhoeae.*

- Liên cầu nhóm B.

- Liên cầu nhóm D.

- *Hemophilus ducreyi.*

*- Staphylococcus aureus.*

*- Enterococcus.*

*- Enterobacteriaceae.*

*- Pseudomonas spp*

*- Treponema pallidum (*soi tươi)

*- Chlamydia trachomatis*

*- Gardnerella vaginalis* (nhuộm gram*)*

*- Trichomonas vaginalis* (soi tươi)

- Trực khuẩn gram âm (nhuộm gram)

Nấm men:

- *Candida albicans*

- Các loại nấm men khác

10.1.2. Các vi sinh vật thường trú trong dịch sinh dục

Vi khuẩn:

- *Corynebacteria.*

*- Enterobacteriaceae.*

*- Staphylococcus* coagulase âm tính.

- *Streptococcus.*

Nấm men: *Candida spp.*

***10.2. Báo cáo kết quả***

- Báo cáo kết quả nhuộm soi, soi tươi khi có chỉ định của bác sỹ lâm sàng, kết quả nhuộm soi, soi tươi được trả muộn nhất 2 giờ sau khi nhận bệnh phẩm. Sự có mặt của vi khuẩn/ vi nấm, đơn bào soi tươi nào đều có ý nghĩa chuẩn đoán sơ bộ.

- Nhập kết quả trên hệ thống phần mềm bệnh viện như sau:

+ Nếu không có khuẩn lạc mọc trên các môi trường thạch: Trả kết quả nuôi cấy dịch sinh dục như sau:

* Với chỉ định nuôi cấy vi khuẩn: Âm tính sau 48h nuôi cấy (thường quy) hoặc 72h nuôi cấy (với những vi khuẩn khó mọc ).
* Với chỉ định nuôi cấy nấm: Âm tính sau 96h nuôi cấy.

+ Nếu có khuẩn lạc mọc trên các môi trường nuôi cấy, phân lập được căn nguyên vi sinh vật gây bệnh:

* Với chỉ định nuôi cấy vi khuẩn: Trả tên vi khuẩn đến mức độ chi hoặc loài.
* Với chỉ định nuôi cấy nấm: Trả tên vi nấm đến mức độ chi hoặc loài

- Thời gian trả kết quả: Tùy theo tính chất dễ/khó nuôi cấy của căn nguyên vi khuẩn/vi nấm cần định danh. Kết quả định danh vi khuẩn/vi nấm có thể được trả sau 2-5 ngày sau khi nhận chỉ định nuôi cấy (thường quy) hoặc 2-7 ngày nuôi cấy với vi khuẩn khó mọc hoặc chỉ định nuôi cấy nấm.

- Trường hợp nuôi cấy căn nguyên khó mọc, thời gian theo dõi lâu, cần có môi trường sinh phẩm phù hợp đi kèm và có yêu cầu chỉ định cụ thể từ bác sỹ lâm sàng (vd: *Leptospira* 6 đến 10 ngày, *Blucella spp* theo dõi đến 4 tuần....)

- Mẫu bệnh phẩm sau khi phân tích được lưu trong tủ lưu mẫu theo quy trình lưu hủy mẫu bệnh phẩm tại khoa (XN-QTQL 5.8.9).

**11. Lưu ý**

- Dương tính giả có thể do bệnh phẩm bị nhiễm bẩn hoặc nhiễm vi khuẩn cư trú trên da hoặc vi hệ đường sinh dục.

- Âm tính giả có thể do vi khuẩn có trong bệnh phẩm với số lượng ít, lấy bệnh phẩm và vận chuyện không đúng thời gian quy định, bệnh nhân đã điều trị kháng sinh từ trước hoặc vi sinh vật khó nuôi cấy.

- 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 khị 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 tránh bỏ sót.

**12. Lưu hồ sơ**

- Kết quả vào phần mềm máy tính và in ra giấy trả cho người bệnh, khoa phòng lưu bệnh án.

- Cuối tháng in sổ từ phần mềm máy tính lưu tại khoa.

- Lưu kết quả trên hệ thống dữ liệu kháng sinh đồ lên phần mềm Whonet theo các năm theo quy trình phiên giải kết quả và vào phần mềm Whonet QTKT.NC.45

- Lưu kết quả in từ hệ thống Vitek 2 compact.

- Với kháng sinh đồ phiên giải (cho tụ cầu, nấm) lưu theo tên file gồm mã bệnh nhân, họ tên, mã bệnh phẩm, ngày cấy theo:

* Biểu mẫu 01 của quy trình Vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động QTKT.NC.38
* Biểu mẫu 01 của quy trình vi khuẩn kháng thuốc định tính QTKT.NC.37
* Biểu mẫu 01 của quy trình vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc định tính hoặc vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc trên máy tự động QTKT.NC.41

**13. Tài liệu liên quan**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **STT** | **Mã quy trình/ biểu mẫu** | **Tên quy trình/ biểu mẫu** |
| 1 | QTKT.M.04 | Quy trình vận hành tủ ATSH cấp II |
| 2 | XN-STATSH | Sổ tay an toàn sinh học |
| 3 | XN-STDVKH.01 | Sổ tay dịch vụ khách hàng |
| 4 | QTKT.NC.45 | Quy trình phiên giải kết quả kháng sinh đồ và vào phần mềm Whonet |
| 5 | QTKT.M.01 | Quy trình vận hành máy Vitek 2 compact |
| 6 | QTKT.NC.37 | Quy trình vi khuẩn kháng thuốc định tính |
| 7 | QTKT.NC.35 | Quy trình vi khuẩn nuôi cấy và định danh hệ thống tự động |
| 8 | QTKT.NC.36 | Quy trình vi khuẩn nuôi cấy và định danh phương pháp thông thường |
| 9 | QTKT.NC.39 | Quy trình vi nấm nuôi cấy và định danh hệ thống tự động |
| 10 | QTKT.NC.40 | Quy trình Vi nấm nuôi cấy và định danh phương pháp thông thường |
| 11 | QTKT.NC.38 | Quy trình vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động |
| 12 | QTKT.NC.41 | Quy trình vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc định tính hoặc vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc trên máy tự động |
| 13 | QTKT.ST.26 | Quy trình vi khuẩn nhuộm soi |
| 14 | QTKT.ST.29 | Quy trình *Trichomonas vaginalis* soi tươi |
| 15 | XN-QTQL.5.12.2 | Quy trình hướng dẫn an toàn |
| 16 | XN-QTQL.5.8.9 | Quy trình lưu và hủy mẫu bệnh phẩm |
| 17 | QTKT.ST.25 | Quy trình vi nấm soi tươi |
| 18 | QTKT.NC.71 | Quy trình thực hiện giá đường API 20 E |
| 19 | QTKT.NC.72 | Quy trình thực hiện giá đường API 20 NE |
| 21 | QTKT.NC.63 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh *Pseudomonas aeruginosa* |
| 21 | QTKT.NC.64 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh *Acinetobacter baumannii* |
| 22 | QTKT.NC.65 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh liên cầu, phế cầu |
| 23 | QTKT.NC.66 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh họ vi khuẩn đường ruột |
| 24 | QTKT.NC.67 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh *Haemophilus influenza* |
| 25 | QTKT.NC.68 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh tụ cầu |
| 26 | QTKT.NC.69 | Quy trình nuôi cấy, phân lập và định danh họ *Neisseria* |
| 27 | XN-QTQL 5.8.5 | Quy trình nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm |

**14. Tài liệu tham khảo**

- Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng, chủ biên PGS.TS.BS Lương Ngọc Khuê NXB Y học. Ban hành kèm theo quyết định số 1539/QĐ – BYT ngày 20/04/2017 của bộ y tế). Quy trình cấy dịch sinh dục từ trang 152 đến 160.

- Xét nghiệm vi sinh lâm sàng, chủ biên PGS.TS.Nguyễn Quốc Anh và PGS.TS. Đoàn Mai Phương– NXB y học 2012. Quy trình xét nghiệm cấy dịch tiết sinh dục tìm vi khuẩn gây bệnh – trang102 đến 103.

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm từ nhà sản xuất.

* **Biểu mẫu 01 của quy trình vi khuẩn kháng thuốc hệ thống tự động**

**(áp dụng cho kháng sinh đồ phiên giải *Staphylococcus spp)***

BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI Số bệnh phẩm: ......

Khoa xét nghiệm Hóa sinh- Vi sinh Ngày cấy:...............

KHÁNG SINH ĐỒ

Họ và tên: ....................................... Tuổi:......

Khoa/Phòng:...................................

Chẩn đoán:.............................................................................................................

Chủng vi khuẩn :...................................................

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| KHÁNG SINH | Khoanh giấy khuếch tán | | | MIC | KHÁNG SINH | Khoanh giấy khuếch tán | | MIC |
| Ký hiệu - Nồng độ µg | Nhạy -Kháng | | Ký hiệu - Nồng độ µg | Nhạy -Kháng |
| ß - LACTAM | | | | | GLYCOPEPTIDES | | | |
| Penicillins | | | | | Vancomycin | VA |  |  |
| Penicillin | P |  | |  | Teicoplanin |  |  |  |
| Amoxicillin | AM |  | |  | AMINOGLYCOSIDES | | | |
| Piperacillin | PIP |  | |  | Gentamicin | GM10 |  |  |
| Ticarcilin | TIC |  | |  | Gentamicin | GM120 |  |  |
| Methicillin | FOX | Âm/  Dương tính | |  | Tobramycin | TMN |  |  |
| Monobactam | | | | | Amikacin | AK |  |  |
| Aztreonam | ATM |  | |  | FLUOROQUINOLONES | | | |
| Carbapenems | | | | | Norfloxacin | NOR |  |  |
| Ertapenem | ETP | |  |  | Ciprofloxacin | CIP |  |  |
| Imipenem | IMP | |  |  | Ofloxacin | OFX |  |  |
| Meropenem | MEM | |  |  | Levofloxacin | LVX |  |  |
|  |  | |  |  | Moxifloxacin | MOX |  |  |
| Doripenem | DOR | |  |  | PHECOLS | | | |
| Cephalosporins | | | | | Chloramphenicol | C |  |  |
| Thế hệ 1 | | | | | TETRACYCLINES | | | |
| Cephalotine | CF |  | |  | Tetracycline | TE |  |  |
| Thế hệ 2 | | | | | Doxycycline | DOX |  |  |
| Cefuroxime | CXM |  | |  | Minocycline |  |  |  |
| Cefoxitin |  |  | |  | ỨC CHẾ CON ĐƯỜNG TRAO ĐỔI CHÁT | | | |
| Thế hệ 3 | | | | | Co-trimoxazol | SXT |  |  |
| Ceftazidime | CAZ |  | |  | OXAZOLIDINONES | | | |
| Ceftriaxone | CRO |  | |  | Linezolid |  |  |  |
| Cefotaxime |  |  | |  | LIPOPEPTIDES | | | |
| Thế hệ 4 | | | | | Colistin | COL |  |  |
| Cefepime | FEP |  | |  | NITROFURANTOINS | | | |
| Phối hợp chất ức chế ß – lactamase | | | | | Nitrofurantoin | NIT |  |  |
| Amo + A. clavulanic | AMC |  | |  | FOSFOMYCINS | | | |
| Amp + Sulbactam | SAM |  | |  | Fosfomycin | FOS |  |  |
| Tic + A. clavulanic | TCC |  | |  | KHÁC | | | |
| Pip + Tazobactam | PTZ |  | |  | Quinupristin/Dalfopristin | QDA |  |  |
| MACROLIDES | | | | | Rifampicin |  |  |  |
| Erythromycin | ERY |  | |  |  |  |  |  |
| Azithromycin | AZM |  | |  |  |  |  |  |
| Clarithromycin | CLR |  | |  |  |  |  |  |
| LINCOSAMIDES | | | | |  |  |  |  |
| Clindamycin | CLD |  | |  |  |  |  |  |

Phiên giải kết quả theo hệ thống máy Vitek Ngày ..... tháng .... năm ......

Người thực hiện Trưởng khoa xét nghiệm HS- VS

**Biểu mẫu 01 của quy trình vi khuẩn kháng thuốc định tính QTKT.NC.37**

**(áp dụng cho kháng sinh đồ phiên giải *Staphylococcus spp)***

BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI Số bệnh phẩm: ......

Khoa xét nghiệm Hóa sinh- Vi sinh Ngày cấy:...............

KHÁNG SINH ĐỒ

Họ và tên: ....................................... Tuổi:......

Khoa/Phòng:...................................

Chẩn đoán:.............................................................................................................

Chủng vi khuẩn :...................................................

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| KHÁNG SINH | Khoanh giấy khuếch tán | | | Đường kính / MIC | KHÁNG SINH | Khoanh giấy khuếch tán | | Đường kính/  MIC |
| Ký hiệu | | Nhạy -Kháng | Ký hiệu | Nhạy -Kháng |
| ß - LACTAM | | | | | GLYCOPEPTIDES | | | |
| Penicillins | | | | | Vancomycin | VA |  |  |
| Penicillin | P | |  |  | Teicoplanin |  |  |  |
| Amoxicillin | AM | |  |  | AMINOGLYCOSIDES | | | |
| Piperacillin | PIP | |  |  | Gentamicin | GM10 |  |  |
| Ticarcilin | TIC | |  |  | Gentamicin | GM120 |  |  |
| Methicillin | FOX | |  |  | Tobramycin | TMN |  |  |
| Monobactam | | | | | Amikacin | AK |  |  |
| Aztreonam | ATM | |  |  | FLUOROQUINOLONES | | | |
| Carbapenems | | | | | Norfloxacin | NOR |  |  |
| Ertapenem | | ETP |  |  | Ciprofloxacin | CIP |  |  |
| Imipenem | | IMP |  |  | Ofloxacin | OFX |  |  |
| Meropenem | | MEM |  |  | Levofloxacin | LVX |  |  |
|  | |  |  |  | Moxifloxacin | MOX |  |  |
| Doripenem | | DOR |  |  | PHECOLS | | | |
| Cephalosporins | | | | | Chloramphenicol | C |  |  |
| Thế hệ 1 | | | | | TETRACYCLINES | | | |
| Cephalotine | CF | |  |  | Tetracycline | TE |  |  |
| Thế hệ 2 | | | | | Doxycycline | DOX |  |  |
| Cefuroxime | CXM | |  |  | Minocycline |  |  |  |
| Cefoxitin |  | |  |  | ỨC CHẾ CON ĐƯỜNG TRAO ĐỔI CHẤT | | | |
| Thế hệ 3 | | | | | Co-trimoxazol | SXT |  |  |
| Ceftazidime | CAZ | |  |  | OXAZOLIDINONES | | | |
| Ceftriaxone | CRO | |  |  | Linezolid |  |  |  |
| Cefotaxime |  | |  |  | LIPOPEPTIDES | | | |
| Thế hệ 4 | | | | | Colistin | COL |  |  |
| Cefepime | FEP | |  |  | NITROFURANTOINS | | | |
| Phối hợp chất ức chế ß – lactamase | | | | | Nitrofurantoin | NIT |  |  |
| Amo + A. clavulanic | AMC | |  |  | FOSFOMYCINS | | | |
| Amp + Sulbactam | SAM | |  |  | Fosfomycin | FOS |  |  |
| Tic + A. clavulanic | TCC | |  |  | KHÁC | | | |
| Pip + Tazobactam | PTZ | |  |  | Quinupristin/Dalfopristin | QDA |  |  |
| MACROLIDES | | | | | Rifampicin |  |  |  |
| Erythromycin | ERY | |  |  |  |  |  |  |
| Azithromycin | AZM | |  |  |  |  |  |  |
| Clarithromycin | CLR | |  |  |  |  |  |  |
| LINCOSAMIDES | | | | |  |  |  |  |
| Clindamycin | CLD | |  |  |  |  |  |  |

Phiên giải kết quả theo CLSI năm...... Ngày..... tháng .... năm......

Người thực hiện Trưởng khoa xét nghiệm HS- VS

* **Biểu mẫu 01 của quy trình trình vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc định tính hoặc vi khuẩn/vi nấm kháng thuốc trên máy tự động QTKT.NC.41**

BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI Số bệnh phẩm: ......

Khoa xét nghiệm Hóa sinh- Vi sinh Ngày cấy:...............

**KẾT QUẢ KHÁNG SINH ĐỒ NẤM**

Họ và tên bênh nhân: .................................................

Tuổi : ..... Nam/Nữ: ...... Khoa :……….

Chẩn đoán : ................................................................

Bệnh phẩm :…............................................................

Chủng nấm :................................................................

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **STT** | **Tên kháng sinh** | **MIC** | **Mđ kháng nhạy** |
| 1 | Voriconazol |  |  |
| 2 | Caspofungin |  |  |
| 3 | Micafungin |  |  |
| 4 | Amphotericin B |  |  |

Lào Cai, ngày ... tháng ... năm......

Người thực hiện Trưởng khoa xét nghiệm