

SỞ Y TẾ TỈNH YÊN BÁI  
BỆNH VIỆN SẢN - NHI



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN NHÓM B**

**QT.162.K.XN-CDHA**

	<b>Người soạn thảo</b>	<b>Người kiểm tra</b>	<b>Người phê duyệt</b>
Họ và tên	Nguyễn Thị Vân Hiền	Trần Văn Hiến	Trần Văn Quang
Chức vụ	Trưởng khoa	Phó giám đốc	Giám đốc
Chữ ký			

*Tài liệu lưu hành nội bộ*



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số:QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

1. Người có liên quan phải nghiên cứu và thực hiện đúng các nội dung của quy trình này.
2. Mỗi đơn vị được phát 01 bản (Có đóng dấu kiểm soát). Các khoa, phòng khi có nhu cầu, cần bổ sung thêm tài liệu, đề nghị liên hệ với Phòng Kế Hoạch tổng hợp để có bản đóng dấu kiểm soát.

**NƠI NHẬN**

Ban Giám đốc	<input type="checkbox"/>	Khoa Sản	<input type="checkbox"/>
Phòng KHTH	<input type="checkbox"/>	Khoa Phụ	<input type="checkbox"/>
Phòng ĐD	<input type="checkbox"/>	Hội đồng QLCL BV	<input type="checkbox"/>
Khoa Khám bệnh	<input type="checkbox"/>	Khoa Hỗ trợ sinh sản	<input type="checkbox"/>
Khoa Hồi sức cấp cứu	<input type="checkbox"/>	Khoa Xét nghiệm – CDHA	<input type="checkbox"/>
Khoa Ngoại nhi LCK	<input type="checkbox"/>	Khoa Dược – KSNS	<input type="checkbox"/>
Khoa Nhi tổng hợp	<input type="checkbox"/>	Khoa Phẫu thuật – Gây mê HS	<input type="checkbox"/>

**THEO DÕI TÌNH TRẠNG SỬA ĐỔI**

Trang	Hạng mục sửa đổi	Tóm tắt nội dung hạng mục sửa đổi

Phiên bản 0.0

Trang: 2/9

Ngày hiệu lực: 30/8/2022



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số: QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

## **I. MỤC ĐÍCH**

Hướng dẫn kỹ thuật xét nghiệm liên cầu khuẩn nhóm B bằng phương pháp sử dụng môi trường tăng sinh và môi trường tạo màu nhằm phát hiện liên cầu khuẩn nhóm B ở thai phụ có tuổi thai 35-37 tuần và trẻ bị nhiễm trùng sơ sinh nghi do nhiễm liên cầu B

## **II. PHẠM VI ÁP DỤNG**

Áp dụng tại Bệnh viện Sản Nhi Yên Bái khi thực hiện xét nghiệm liên cầu khuẩn nhóm B

## **III. TRÁCH NHIỆM THỰC HIỆN**

- Bác sỹ khoa lâm sàng có trách nhiệm chỉ định xét nghiệm
- Nhân viên khoa lâm sàng được phân công có trách nhiệm lấy mẫu và chuyển mẫu về phòng xét nghiệm
- Nhân viên bộ phận xét nghiệm được phân công có trách nhiệm thực hiện kỹ thuật xét nghiệm
- Trưởng khoa lâm sàng, phụ trách bộ phận xét nghiệm có trách nhiệm giám sát sự tuân thủ quy trình

## **IV. KHÁI NIỆM , THUẬT NGỮ VÀ CHỮ VIẾT TẮT**

**GBS:** Group B streptococcus Liên cầu khuẩn nhóm B

Liên cầu khuẩn nhóm B là một loại vi khuẩn phổ biến, thường ký sinh lành tính ở đường sinh dục và tiết niệu của người, tuy nhiên là tác nhân rất nguy hiểm đối với phụ nữ mang thai. Nhiễm trùng liên cầu B ở trẻ sơ sinh có thể gây ra viêm phổi, viêm màng não, thậm chí đe dọa tính mạng trẻ. Do vậy cấy tìm liên cầu khuẩn ở phụ nữ có thai là vô cùng quan trọng.

## **V. NGUYÊN LÝ**

- Môi trường tăng sinh có kháng sinh ức chế sự phát triển của vi khuẩn Gram âm và chất dinh dưỡng giúp GBS phát triển mạnh làm tăng khả năng phát hiện của phương pháp cấy

*Phiên bản 0.0*

*Trang: 3/9*

*Ngày hiệu lực: 30/8/2022*



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số:QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

- Môi trường tạo màu dựa trên những phân tử hòa tan không màu (chất sinh màu), bao gồm một cơ chất (đặc hiệu với enzyme) và một nhóm mang màu. Khi enzyme của vi sinh vật phân giải phức hợp không màu này, nhóm mang màu được tách ra khỏi phức hợp và biểu hiện màu sắc riêng biệt

## **VI. CHUẨN BỊ**

### **1. Trang thiết bị**

- Tủ an toàn sinh học cấp 2
- Tủ ấm 37°C
- Máy định danh vi khuẩn

### **2. Dụng cụ, hóa chất:**

- Môi trường nuôi cấy:
  - + Canh thang tăng sinh Todd Hewitt Broth + Antibiotic
  - + Môi trường tạo màu Melab Chromogenic StreptoB
  - + Thạch máu cừ
- Chủng *S. aureus* ATCC 25923
- Thẻ định danh GP
- Đèn cồn, bật lửa, que cấy, giấy thấm
- Tăm bông vô khuẩn, nước muối vô khuẩn
- Bút bi, bút viết tuýp khay đựng bệnh phẩm
- Áo, mũ, găng tay vô khuẩn, khẩu trang
- Dung dịch vệ sinh tay, khăn lau tay
- Dụng cụ đựng rác thải

### **3. Phiếu xét nghiệm**

Điền đầy đủ thông tin theo quy định

## **VII. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG**

- Kiểm tra chất lượng sinh phẩm theo quy định trong Hướng dẫn nội kiểm

## **VIII. AN TOÀN**

Tuân thủ các quy định thực hành an toàn trong phòng xét nghiệm

## **IX. NỘI DUNG THỰC HIỆN**

### **1. Chỉ định xét nghiệm**

Phiên bản 0.0

Trang: 4/9

Ngày hiệu lực: 30/8/2022



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số: QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

- Thai phụ tuổi thai 35-37 tuần
- Trẻ bị nhiễm khuẩn sơ sinh nghi do nhiễm liên cầu khuẩn nhóm B

**2. Lấy bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển về phòng xét nghiệm**

**2.1. Lấy bệnh phẩm**

- Với thai phụ có tuổi thai 35-37 tuần:

Lấy ở 2 vị trí: âm đạo và trực tràng

Dùng 1 que tăm bông tiết trùng đưa vào 1/3 đoạn dưới âm đạo xoay 2 vòng lên niêm mạc âm đạo sau đó đưa vào trực tràng xoay 2 vòng lên niêm mạc trực tràng.

Chú ý: Không lấy dịch ở vị trí cổ tử cung, tầng sinh môn hay quanh hậu môn

- Với trẻ sơ sinh: Dùng 1 que tăm bông tiết trùng phết niêm mạc lần lượt: Họng, hậu môn (quan trọng nhất là niêm mạc họng).

**2.2. Vận chuyển, bảo quản bệnh phẩm**

+ Bệnh phẩm sau khi lấy xong cần chuyển về Phòng xét nghiệm vi sinh càng sớm càng tốt trong vòng 30 phút sau khi lấy mẫu

+ Bệnh phẩm sau khi nhận cần được bảo quản ở nhiệt độ phòng và được làm xét nghiệm ngay càng sớm càng tốt trong vòng 2h. Nếu chưa thực hiện được ngay, bảo quản ở 2-8°C trong vòng 24h

**3. Thực hiện xét nghiệm**

**3.1. Tăng sinh**

- Đặt tăm bông bệnh phẩm vào ống canh thang tăng sinh Todd Hewitt Broth + Antibiotic ủ 18-24h ở nhiệt độ 35°C-37°C, khí trường thường

**3.2. Nuôi cấy sàng lọc bằng môi trường tạo màu**

- Cây chuyển từ ống canh thang sang đĩa thạch Melab Chromogenic StreptoB và thạch máu 18-24h ở nhiệt độ 35°C-37°C, khí trường thường

**3.3. Đọc kết quả**

- Quan sát sự phát triển của vi sinh vật và đặc điểm khuẩn lạc:

+ Khuẩn lạc *Streptococcus agalactiae* (group B) có màu hồng cánh sen đến màu tím hoa cà.

+ Khuẩn lạc *Enterococcus* species có màu xanh thép.



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số:QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

- + Khuẩn lạc *Lactobacilli, leuconostoc, lactococci* phát triển yếu màu hồng nhạt.
- + Vi sinh vật khác có khuẩn lạc màu xanh da trời, không màu hoặc bị ức chế.
- + Nếu không quan sát thấy khuẩn lạc nào nghi ngờ sau 24h, tiếp tục ủ và kiểm tra kết quả sau 48h. Nếu sau 48h không thấy khuẩn lạc nghi ngờ, kết luận mẫu bệnh phẩm âm tính với GBS

### **3.4. Định danh**

Nếu có khuẩn lạc nghi ngờ là GBS , làm test Catalase

- test Catalase dương tính: Trả kết quả âm tính
- test Catalase âm tính: làm CAMP test
- + CAMP test dương tính: Trả kết quả dương tính
- + CAMP test âm tính: định danh bằng máy định danh vi khuẩn

\* Kỹ thuật làm CAMP test:

- Cây *S. aureus* ATCC 25923 theo một đường thẳng ở giữa đĩa thạch máu cừu
- Ria chủng vi khuẩn chưa biết theo một đường thẳng vuông góc với đường cây *S. aureus* nhưng không chạm vào đường đó.
- Đề tên mỗi đường ria vào mặt sau của đĩa.
- Ủ đĩa qua đêm ở 35°C trong tủ ấm có CO<sub>2</sub>
- Đọc kết quả:
  - + CAMP test dương tính: có khoảng tan máu hình đầu mũi tên ở chỗ giao giữa đường ria của *S. aureus* và chủng cần xác định sinh yếu tố CAMP.
  - + CAMP test âm tính : không có khoảng tan máu hình đầu mũi tên ở chỗ giao giữa đường ria của *S. aureus* và chủng cần xác định sinh yếu tố CAMP

### **X. DIỄN GIẢI VÀ BÁO CÁO KẾT QUẢ**

- Dương tính khi
  - + Có khuẩn lạc nghi ngờ mọc trên thạch Melab Chromogenic StreptoB, Catalase (-) CAMP test (+)
  - + Hoặc có khuẩn lạc nghi ngờ mọc trên thạch Melab Chromogenic StreptoB, Catalase (-) CAMP test (-) , định danh vi khuẩn là *Streptococcus agalactiae*
- Âm tính khi:
  - + Không có khuẩn lạc nghi ngờ mọc trên thạch Melab Chromogenic StreptoB

Phiên bản 0.0

Trang: 6/9

Ngày hiệu lực: 30/8/2022



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số:QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

+ Hoặc có khuẩn lạc nghi ngờ mọc trên thạch Melab Chromogenic StreptoB Catalase (+)

+ Hoặc có khuẩn lạc nghi ngờ mọc trên thạch Melab Chromogenic StreptoB Catalase (-), CAMP test (-) định danh vi khuẩn không phải là *Streptococcus agalactiae*

Trả kết quả trên phần mềm ONMET, in phiếu và trả phiếu kết quả cho nơi chỉ định

### **XI. LƯU Ý CẢNH BÁO**

Một số chủng *Streptococcus* nhóm C, F & G có thể cho màu khuẩn lạc là tím hoa cà.

*Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Leuconostoc* có thể cho màu khuẩn lạc là màu tím hoa cà nhạt tới tím

Hầu hết các chủng *Streptococcus* nhóm A mọc màu khuẩn lạc là tím cho kết quả dương tính giả.

Một số ít chủng của loài *Staphylococcus* có thể có màu khuẩn lạc là tím hoa cà.

### **XII. LƯU TRỮ HỒ SƠ**

#### **1. Tên hồ sơ**

- Sổ theo dõi tiến trình nuôi cấy vi khuẩn
- Phiếu xét nghiệm vi sinh

#### **2. Nơi lưu:**

Tủ lưu trữ hồ sơ khoa Xét nghiệm- Chẩn đoán hình ảnh

Phần mềm ONMES

### **XIII: TÀI LIỆU LIÊN QUAN**

- Quy trình nuôi cấy, định danh vi khuẩn phương pháp thông thường
- Hướng dẫn nội kiểm

### **XIV. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Bộ Y tế (2013), Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành Vi sinh y học (ban hành kèm theo Quyết định số: 26/QĐ-BYT ngày 03/01/2013)

Phiên bản 0.0

Trang: 7/9

Ngày hiệu lực: 30/8/2022



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số:QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

2. Bộ Y tế (2015), Hướng dẫn xây dựng Quy trình thực hành chuẩn trong Quản lý chất lượng xét nghiệm ban hành kèm theo Quyết định số 5530/QĐ-BYT ngày 25/12/2015
3. Bộ Y tế (2017), Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng (ban hành kèm theo quyết định số 1539/QĐ-BYT ngày 20 tháng 4 năm 2017)
4. Hướng dẫn sử dụng MELAB CHROMOGENIC STREPTO B - Công ty TNHH DK
5. Hướng dẫn phân lập Strep B trên môi trường không sinh sắc tố- Công ty TNHH DK
6. Giải pháp sàng lọc liên cầu nhóm B (GBS) ở phụ nữ mang thai 35-37 tuần
7. Quy trình xử lý mẫu bệnh phẩm để nuôi cấy Streptococcus nhóm B (GBS)

*Phiên bản 0.0*

*Trang: 8/9*

*Ngày hiệu lực: 30/8/2022*



**QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
XÉT NGHIỆM LIÊN CẦU KHUẨN  
NHÓM B**

Mã số:QT.62.K.XN-CDHA  
Ngày ban hành: 30/8/2022  
Lần ban hành: 01

**Bảng kiểm kỹ thuật xét nghiệm Liên cầu khuẩn nhóm B**

<b>Các bước tiến hành</b>	<b>Có</b>	<b>Không</b>
<b>1. Chuẩn bị</b> <i>Yêu cầu: đủ các phương tiện cần thiết; sắp xếp ngăn nắp, khoa học sẵn sàng cho việc thực hiện kỹ thuật cấy mủ</i>		
- Dụng cụ: tủ ấm, tủ ATSH, ống đựng mẫu, giá đựng mẫu, que cấy, đèn cồn, bật lửa, dụng cụ đựng chất thải.... - Hóa chất: dung dịch khử nhiễm, dung dịch rửa tay - Sinh phẩm: canh thang tăng sinh, môi trường tạo màu, thạch máu cừu, chủng <i>S. aureus</i> ATCC 25923....		
- Kiểm tra chất lượng mẫu, kiểm tra đối chiếu thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm và trên ống bệnh phẩm		
<b>2. Tiến hành kỹ thuật</b> <i>Yêu cầu: thực hiện đủ các bước, đúng thứ tự, nhận định đúng kết quả</i>		
- Đặt mẫu bệnh phẩm vào canh thang tăng sinh tủ ấm 18-24h		
- Cấy chuyển sang môi trường tạo màu để tủ ấm 18-24h		
- Đọc kết quả nuôi cấy		
- Chọn khuẩn lạc nghi ngờ, làm Catalase, CAMP test		
- Đọc và biện giải kết quả		
<b>3. Báo cáo kết quả, ghi chép hồ sơ</b> <i>Yêu cầu: rõ ràng, chính xác, đủ thông tin theo quy định</i>		
<b>4. Tuân thủ quy định thực hành an toàn trong PXN</b>		
- Sử dụng bảo hộ lao động đúng quy định		
- Khử nhiễm, rửa tay, phân loại và xử lý rác thải đúng quy định		