

Hà Nội, ngày 06 tháng 4 năm 2013

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ban hành “Hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm cúm A(H7N9)”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Nghị định số 63/2012/NĐ - CP ngày 31 tháng 8 năm 2012 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Y tế dự phòng- Bộ Y tế,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này “Hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm cúm A(H7N9)”.

Điều 2. “Hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm cúm A(H7N9)” là tài liệu hướng dẫn được áp dụng trong các cơ sở y tế dự phòng và các cơ sở khám, chữa bệnh Nhà nước, bán công và tư nhân trên toàn quốc.

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

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Chánh Thanh tra Bộ, Cục trưởng các Cục: Y tế dự phòng, Quản lý khám chữa bệnh, các đơn vị trực thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Sở Y tế, Trung tâm Y tế dự phòng, Bệnh viện đa khoa các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương và Thủ trưởng các đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- BT. Nguyễn Thị Kim Tiến (để báo cáo);
- Bộ NN và PTNT (để phối hợp);
- Các Đ/c Thứ trưởng Bộ Y tế (để phối hợp);
- Các thành viên BCĐ PCD nguy hiểm và mới nổi;
- Cục KCB, ATTP, QLMTYT;
- Vụ KHTC, TT-TĐKT (để thực hiện);
- Các Viện Vệ sinh dịch tễ/Pasteur (để thực hiện);
- Các Bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế (để thực hiện);
- Sở Y tế các tỉnh, thành phố (để thực hiện);
- Trung tâm Y’FDP, KDYTQT, Bệnh viện các tỉnh, thành phố (để thực hiện);
- Trung tâm Y tế các Bộ ngành (để thực hiện);
- Lưu: VT, DP.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**



Nguyễn Thanh Long

**HƯỚNG DẪN KỸ THUẬT LẤY MẪU, BẢO QUẢN,
VẬN CHUYỂN BỆNH PHẨM CÚM A(H7N9)**

*(Ban hành kèm theo Quyết định số ~~1144~~ /QĐ-BYT ngày 06 tháng 4 năm 2013
của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

1. MẪU BỆNH PHẨM

- Bệnh viêm đường hô hấp cấp tính do vi rút cúm A(H7N9) là bệnh truyền nhiễm nhóm A. Tác nhân gây bệnh là vi rút cúm A(H7N9) có nguồn gốc từ gia cầm, vi rút này từ trước tới nay chưa từng gây bệnh cho người.

- Xét nghiệm chẩn đoán nhiễm vi rút cúm A(H7N9) phụ thuộc rất nhiều vào chất lượng của bệnh phẩm, vì vậy công tác thu thập và bảo quản mẫu bệnh phẩm phải đảm bảo:

- + Đúng chủng loại
- + Đúng thời điểm
- + Đúng thao tác
- + Bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm đúng cách.

- Virut cúm A(H7N9) được phát hiện tốt nhất khi trong bệnh phẩm có chứa tế bào biểu mô đường hô hấp nhiễm vi rút, dịch tiết đường hô hấp. Bệnh phẩm sử dụng cho chẩn đoán sớm nhiễm vi rút thông qua nhận diện vật liệu di truyền (ARN) thu thập trong vòng 3 ngày đầu sau khi khởi bệnh.

- Đảm bảo an toàn cho người lấy mẫu cũng như đảm bảo chất lượng bệnh phẩm là điều kiện bắt buộc tránh lây lan trong cộng đồng có thể dẫn tới nguy cơ xuất hiện đại dịch.

Các loại bệnh phẩm

1.1. Bệnh phẩm đường hô hấp trên:

- Dịch họng
- Dịch mũi
- Dịch tỵ hầu

1.2. Bệnh phẩm đường hô hấp dưới:

- Dịch nội khí quản
- Dịch phế nang

1.3. Huyết thanh:

- Huyết thanh giai đoạn cấp.
- Huyết thanh giai đoạn hồi phục (10 -14 ngày sau khi khởi bệnh).

2. QUY TRÌNH THU THẬP, BẢO QUẢN VẬN CHUYỂN BỆNH PHẨM

2.1. Dụng cụ, môi trường:

2.1.1. Mẫu bệnh phẩm đường hô hấp

- Dây nhựa mềm (Catheter) có đường kính 10 FG để lấy dịch ty hầu hoặc hút dịch đường hô hấp dưới.
- Tăm bông cán mềm và cán cứng vô trùng.
- Đè lưỡi.
- Ống ly tâm hình chóp 15ml (chứa 2-3ml môi trường vận chuyển)
- Túi nylon để đóng gói bệnh phẩm.
- Băng, gạc có tấm chất sát trùng.
- Quần áo bảo hộ.
- Bình lạnh bảo quản mẫu.
- Bơm tiêm 5 ml, vô trùng.
- Tube lấy máu vô trùng (không có chất chống đông).
- Dây garo, bông, cồn...
- Găng tay, khẩu trang (N95).
- Cồn sát trùng, bút ghi...
- Tube bảo quản mẫu

2.1.2. Mẫu huyết thanh

- Bơm kim tiêm 10 ml, vô trùng.
- Ống nghiệm đã tiệt trùng.
- Dây garo, bông, cồn....

2.2. Chuẩn bị thu thập bệnh phẩm:

- Dụng cụ thu thập bệnh phẩm.
- Phiếu thu thập mẫu bao gồm thông tin chung về bệnh nhân, loại bệnh phẩm, ngày thu thập và một số thông tin về dịch tễ.
- Sử dụng trang phục bảo hộ cá nhân theo theo Phụ lục 1 ban hành kèm theo hướng dẫn này.

2.3. Cách lấy bệnh phẩm và bảo quản tại chỗ:

2.3.1. Dịch mũi

- Yêu cầu bệnh nhân ngửa mặt khoảng 45°.
- Đưa tăm bông vào dọc theo sàn mũi tới khoang mũi họng. Để tăm bông cho thấm ướt dịch mũi sau đó xoay tròn, miết mạnh vào thành mũi và rút ra từ từ.
- Sau khi ngoáy mũi xong, tăm bông được chuyển vào môi trường bảo quản bệnh phẩm (đầu tăm bông phải nằm ngập trong môi trường vận chuyển). Cắt bỏ cán tăm bông cho phù hợp với độ dài của ống chứa môi trường vận chuyển vì rút.
- Đóng nắp, xiết chặt, bọc ngoài bằng giấy parafilm (nếu có).

2.3.2. Dịch họng

- Yêu cầu bệnh nhân há to miệng.
- Dùng dụng cụ đè lưỡi cố định lưỡi bệnh nhân xuống sàn dưới vòm họng.
- Đưa tấm bông vào vùng hầu họng để cho dịch họng thấm ướt đầu tấm bông, sau đó miết mạnh và xoay tròn tấm bông tại khu vực 2 a-mi-đan và thành sau họng để thu thập tế bào nhiễm.
- Sau khi ngoáy họng xong, tấm bông được chuyển vào môi trường bảo quản bệnh phẩm (đầu tấm bông phải nằm ngập trong môi trường vận chuyển). Cắt bỏ cán tấm bông cho phù hợp với độ dài của ống chứa môi trường vận chuyển vi rút.
- Đóng nắp, xiết chặt, bọc ngoài bằng giấy parafilm (nếu có).

2.3.3. Dịch nội khí quản, phế nang

- Phải có sự hỗ trợ của bác sỹ lâm sàng.
- Bệnh nhân khi đang thở máy, đã được đặt nội khí quản: Dùng 1 ống hút dịch, đặt theo đường nội khí quản và dùng bơm tiêm hút dịch nội khí quản theo đường ống đã đặt từ 1 - 2ml.
- Cho dịch nội khí quản vào tube chứa môi trường vận chuyển.

2.3.4. Huyết thanh

- Sử dụng bơm kim tiêm vô trùng lấy 3-5 ml máu tĩnh mạch, tháo kim tiêm, tựa đầu bơm tiêm vào thành ống nghiệm bơm máu vào ống một cách từ từ để tránh tạo bọt khí và tan huyết, chuyển vào tube chứa, đóng nắp, bảo quản ở 4°C trong vòng 24 giờ.
- Tách huyết thanh theo các bước sau:
 - + Đóng chặt nắp tube chứa máu, ly tâm ở tốc độ thấp 2000 vòng/phút trong 8 phút để tránh vỡ hồng cầu. Không làm đông lạnh mẫu máu khi chưa tách huyết thanh.
 - + Dùng pipet vô trùng, nhẹ nhàng hút huyết thanh ở phần trên của tube, chia đều vào các tube bảo quản nhỏ (1,8ml).
- Bảo quản huyết thanh ở 4-8°C không quá 10 ngày, nếu để lâu hơn phải được bảo quản ở âm 70°C hoặc âm 20°C.

2.4. Cách ghi nhãn và phiếu xét nghiệm:

- Ghi nhãn trên mỗi ống đựng mẫu bệnh phẩm và nhãn trên bao bì vận chuyển bao gồm các thông tin sau, ghi mã số, họ tên, tuổi bệnh nhân, loại bệnh phẩm, ngày lấy bệnh phẩm trên tube thu thập bệnh phẩm.... theo quy định tại Khoản 1, Khoản 2 Điều 7 Thông tư số 43/2011/TT- BYT ngày 5/12/2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế Quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm.
- Điền đầy đủ thông tin vào phiếu xét nghiệm theo quy định tại Phụ lục 6 Thông tư số 43/2011/TT- BYT ngày 5/12/2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế. Các phiếu xét nghiệm bệnh phẩm phải được gửi kèm theo mẫu bệnh phẩm.
- Trên các bao bì bệnh phẩm phải ghi tên loại bệnh phẩm (“BỆNH PHẨM CHẨN ĐOÁN” hoặc “BỆNH PHẨM LÂM SÀNG”)

2.5. Vận chuyển bệnh phẩm tới phòng xét nghiệm:

2.5.1. Yêu cầu về bảo quản, thời gian vận chuyển bệnh phẩm

Tất cả các bệnh phẩm cần phải được bảo quản trong môi trường thích hợp, ở nhiệt độ 4⁰C và chuyển đến nơi xét nghiệm trong vòng 48 giờ. Trong trường hợp không thể chuyển bệnh phẩm đến nơi xét nghiệm trong vòng 48 giờ, thì bệnh phẩm phải được bảo quản ở nhiệt độ âm 70⁰C hoặc âm 20⁰C (nếu không có tủ âm 70⁰C). Tránh làm đông băng và rã đông nhiều lần để phòng ngừa vi sinh vật trong bệnh phẩm mất hoạt tính.

Không được bảo quản hoặc vận chuyển trong đá khô (solid carbon dioxide) trừ khi được đóng kín trong ống thủy tinh hoặc trong 2 lớp túi nhựa

2.5.3. Đóng gói bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải được đóng gói trước khi vận chuyển, tránh đổ, vỡ, phát tán tác nhân gây bệnh trong quá trình vận chuyển theo quy định tại Điều 6 Thông tư số 43/2011/TT-BYT ngày 5/12/2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế.

2.5.4. Vận chuyển bệnh phẩm

- Thông báo cho phòng xét nghiệm ngày gửi bệnh phẩm, phương tiện vận chuyển và thời gian dự kiến sẽ tới phòng thí nghiệm.

- Lựa chọn phương tiện vận chuyển, đảm bảo thời gian vận chuyển ngắn nhất.

- Nếu vận chuyển qua đường hàng không: một đơn vị mẫu bệnh phẩm không vượt quá 1 lít (chất lỏng) hoặc 1kg (chất rắn). Bệnh phẩm sau khi đóng gói không được vượt quá 4 lít (chất lỏng) hoặc 4 kg (chất rắn)/kiện.

- Các chất bảo quản bệnh phẩm trong quá trình vận chuyển (đá ướt, đá khô, nitơ lỏng) cần được cân nhắc cho phù hợp với yêu cầu về an toàn khi vận chuyển cũng như đảm bảo chất lượng bệnh phẩm khi vận chuyển.

3. TỔ CHỨC XÉT NGHIỆM VÀ THÔNG BÁO KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

3.1. Đơn vị xét nghiệm khẳng định vi rút cúm A (H7N9)

Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương và Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh là những nơi tiếp nhận và tiến hành xét nghiệm khẳng định.

3.2. Đơn vị lấy mẫu xét nghiệm:

- Trung tâm Y tế dự phòng các tỉnh, thành phố, các bệnh viện chịu trách nhiệm lấy mẫu bệnh phẩm các trường hợp nghi do vi rút cúm A(H7N9) tại địa phương và đơn vị mình, đồng thời đóng gói và chuyển ngay về trung tâm cúm thuộc Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh theo đúng quy định tại Thông tư số 43/2011/TT-BYT ngày 5/12/2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế Quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm.



- Các Viện vệ sinh dịch tễ, Pasteur có trách nhiệm chỉ đạo, hỗ trợ chuyên môn kỹ thuật và phối hợp với các tỉnh, thành phố thuộc khu vực phụ trách tiến hành điều tra, lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm kịp thời, đúng quy định và trực tiếp tiến hành lấy mẫu bệnh phẩm tại các địa phương, đơn vị thuộc địa bàn phụ trách.

- Các cán bộ tham gia lấy mẫu bệnh phẩm, làm xét nghiệm phải được trang bị phòng hộ cá nhân, phải đảm bảo an toàn tuyệt đối khi tiếp xúc với mầm bệnh tối nguy hiểm.

3.3. Xét nghiệm:

- Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương chịu trách nhiệm tiếp nhận và xét nghiệm khẳng định đối với các mẫu gửi từ các tỉnh từ Quảng Ngãi trở ra phía Bắc;

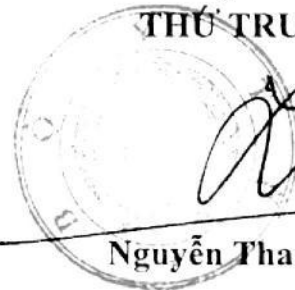
- Viện Pasteur TP.Hồ Chí Minh chịu trách nhiệm tiếp nhận và xét nghiệm khẳng định đối với các mẫu gửi từ các tỉnh từ Bình Định trở vào kể cả các tỉnh Tây Nguyên

- Việc nuôi cấy phân lập vi rút chỉ được tiến hành tại phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp độ 3 (BSL3).

3.4. Thông báo kết quả xét nghiệm cúm A(H7N9):

Viện Vệ sinh Dịch tễ trung ương và Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh có trách nhiệm báo cáo kết quả xét nghiệm về Cục Y tế dự phòng, Bộ Y tế và thông báo kết quả xét nghiệm cho đơn vị gửi mẫu bệnh phẩm. Việc thông báo tình hình dịch bệnh, ca bệnh truyền nhiễm nguy hiểm gây dịch thực hiện theo Thông tư số 48/2010/TT-BYT ngày 31/12/2010 của Bộ trưởng Bộ Y tế hướng dẫn chế độ khai báo, thông tin, báo cáo bệnh truyền nhiễm.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**



Nguyễn Thanh Long

Phụ lục 1: Sử dụng trang phục bảo hộ cá nhân

Trước khi lấy mẫu (mặc)	Sau khi lấy mẫu (cởi)
Mũ	Găng tay - lớp thứ hai
Khẩu trang N95	Áo
Kính bảo hộ	Quần
Quần	Ủng
Áo	Kính bảo hộ
Ủng	Mũ
Găng tay - lớp thứ nhất	Khẩu trang N95
Găng tay - lớp thứ hai	Găng Tay - lớp thứ nhất

- Trước khi lấy mẫu

+ Găng tay - lớp thứ nhất: luôn giữ lớp găng thứ nhất sạch, tránh không để tiếp xúc với dụng cụ bẩn.

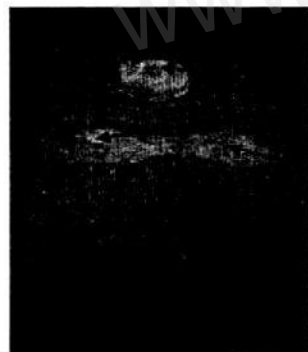
+ Găng tay – lớp thứ hai: dùng cho lấy mẫu và có thể thay thế nếu bị rách.

Chú ý: trước khi tháo lớp găng thứ 2, cần phải phun khử trùng cồn toàn bộ bề mặt găng.

- Sau khi lấy mẫu

+ Trước khi cởi bỏ trang phục bảo hộ, phải phun khử trùng cồn 70⁰ lên toàn bộ bề mặt trang phục bảo hộ và đế ủng.

+ Rửa tay bằng xà phòng và sát trùng lại tay bằng cồn 70⁰



Khẩu trang N95 loại có van và không van

Khẩu trang phẫu thuật



Bộ quần áo kín có kèm áo ni lông phía trước, phù hợp cho lấy mẫu gia cầm tại thực địa.

