

BỘ Y TẾ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: 5703 /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày 20 tháng 12 năm 2017

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ban hành “Hướng dẫn giám sát và phòng, chống bệnh than trên người”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Nghị định số 75/2017/NĐ-CP ngày 20/6/2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Xét đề nghị của Cục trưởng Cục Y tế dự phòng,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này “Hướng dẫn giám sát và phòng, chống bệnh than trên người”.

Điều 2. “Hướng dẫn giám sát và phòng, chống bệnh than trên người” là tài liệu hướng dẫn được áp dụng trong các cơ sở y tế dự phòng và các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh 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; Vụ trưởng, Cục trưởng, Tổng Cục trưởng các Vụ, Cục, Tổng cục thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế; Viện trưởng các Viện Vệ sinh dịch tễ, Viện Pasteur; Giám đốc Sở Y tế; Thủ trưởng y tế các Bộ, ngành; Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- BT. Nguyễn Thị Kim Tiến (để báo cáo);
- Các đ/c Thứ trưởng Bộ Y tế (để phối hợp chỉ đạo);
- Cục Thú y, Bộ NN và PTNT (để phối hợp);
- Trung tâm: YTDP, KSBT, TTGDSK các tỉnh/thành phố (để thực hiện);
- Bệnh viện đa khoa các tỉnh/thành phố (để thực hiện);
- Chi cục Thú y các tỉnh/thành phố (để thực hiện);
- Lưu: VT, DP.

KT. BỘ TRƯỞNG

THỨ TRƯỞNG



Nguyễn Thanh Long

HƯỚNG DẪN**Giám sát và phòng, chống bệnh than trên người***(Ban hành kèm theo Quyết định số 5703/QĐ-BYT**ngày 20/12/2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)***I. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA BỆNH THAN**

Bệnh than (Anthrax) ở người là bệnh lây truyền từ động vật do trực khuẩn than *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*). Bệnh thường xuất hiện ở động vật ăn cỏ và lây truyền sang người có thể thành dịch với tỷ lệ tử vong cao. Bệnh biểu hiện gồm 3 thể chính tùy thuộc vào đường lây truyền: thể da (95%), thể phổi và thể tiêu hóa (thể dạ dày - ruột và thể hầu họng), ngoài ra có thể màng não.

Bệnh than là bệnh lưu hành địa phương ở các nước nông nghiệp thuộc Nam và Trung Mỹ, Nam và Đông Âu, Châu Á, Châu Phi do dịch bệnh than trên động vật thường xuyên xảy ra. Ở Việt Nam, bệnh lưu hành chủ yếu ở một số tỉnh miền núi phía Bắc và rải rác tại một số tỉnh miền Trung. Bệnh xuất hiện tản phát hoặc thành những vụ dịch nhỏ. Hàng năm ghi nhận trung bình khoảng 20 - 80 trường hợp. Nguồn lây bệnh chủ yếu từ trâu, bò, ngựa bị mắc bệnh rồi lây sang người qua việc giết mổ và ăn thịt gia súc bị mắc bệnh hoặc vi khuẩn than từ động vật mắc bệnh gây ô nhiễm đất, nước từ đó lây sang người tiếp xúc. Thông thường các vụ dịch than ở người được ghi nhận, báo cáo sau các vụ dịch xảy ra trên gia súc.

Bệnh than (mã ICD10 A2) thuộc bệnh truyền nhiễm nhóm B trong Luật Phòng chống bệnh truyền nhiễm ở Việt Nam.

1. Tác nhân gây bệnh

Trực khuẩn than thuộc họ *Bacillaceae*, giống *Bacillus*, là một trực khuẩn Gram dương. Sức đề kháng của trực khuẩn than kém, dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát trùng thông thường, nhiệt độ 50-58°C sau 15-40 phút, 100°C sau 10 phút, ánh sáng mặt trời sau 10-16 giờ. Tuy nhiên, nha bào của trực khuẩn than có sức đề kháng cao với điều kiện môi trường khắc nghiệt và có thể tồn tại trong đất từ 5-10 năm, sau đó có thể xâm nhập vào cơ thể động vật hoặc người để gây bệnh.

2. Ổ chứa, thời gian ủ bệnh và thời kỳ lây truyền

Ổ chứa là động vật: thường là động vật ăn cỏ bao gồm vật nuôi (trâu, bò, cừu, ngựa, dê, chó, mèo...) và động vật hoang dã.

Thời gian ủ bệnh tùy thuộc vào từng thể bệnh lâm sàng, có thể từ vài giờ đến 43 ngày (thể phổi), đa số các trường hợp xuất hiện triệu chứng trong vòng 48 giờ sau khi phơi nhiễm. Thời gian ủ bệnh trung bình là 30 ngày.

Thời kỳ lây truyền: sự lây truyền của bệnh than từ người sang người là rất hiếm xảy ra. Nha bào than tồn tại rất lâu trong đất, sản phẩm da, lông, xương của động vật bị nhiễm bệnh và có thể lây sang người sau nhiều năm.

3. Đường lây truyền

3.1. Qua đường da: do da bị tổn thương tiếp xúc trực tiếp với với máu, các chất thải, các mô, lông, da, xương của động vật mắc bệnh than hoặc tiếp xúc với các sản phẩm làm từ những nguyên liệu của động vật bị nhiễm bệnh như mật trổng, bàn chải, áo da. Bệnh có thể lây truyền qua tiếp xúc với đất bị nhiễm nha bào than trong quá trình giết mổ hoặc sử dụng phân bón chế biến từ xương động vật bị mắc bệnh.

3.2. Qua đường hô hấp: do hít phải nha bào vi khuẩn, thường gặp trong công nghiệp chế biến da, len, xương hoặc trực tiếp tiếp xúc với động vật mắc bệnh than.

3.3. Qua đường tiêu hóa: do ăn phải thực phẩm bị nhiễm trực khuẩn than.

4. Tính cảm nhiễm

Mọi người đều có thể cảm nhiễm với trực khuẩn than; những người thường xuyên tiếp xúc với động vật ăn cỏ hay các sản phẩm làm từ các động vật này có nguy cơ nhiễm bệnh cao. Miễn dịch sau mắc bệnh thường bền vững, tuy nhiên cũng có trường hợp mắc lại nhưng rất hiếm.

II. HƯỚNG DẪN GIÁM SÁT

Đây là bệnh lây truyền từ động vật sang người, nên trong hoạt động giám sát cần phải phối hợp với mạng lưới thú y các tuyến để nắm bắt tình hình bệnh than ở súc vật tại địa phương nhằm ngăn chặn sớm sự lây lan bệnh từ động vật sang người.

1. Định nghĩa trường hợp bệnh

1.1. Trường hợp bệnh nghi ngờ

Là trường hợp bệnh có phơi nhiễm với động vật, sản phẩm của động vật nghi ngờ mắc bệnh hoặc ổ dịch cũ và khởi phát bệnh cấp tính với ít nhất một trong các biểu hiện sau:

- Thể da: lúc đầu ngứa, sau đó nổi mụn nước, tạo vết loét màu đen thường không đau, hay gặp ở cánh tay, bàn tay, xung quanh miệng và đầu gối.
- Thể phổi: triệu chứng tương tự như viêm đường hô hấp thông thường nhưng tiến triển nhanh gây ra khó thở nặng và sốc.
- Thể ruột hiếm gặp: đau bụng dữ dội kèm theo sốt, nhiễm khuẩn huyết.
- Thể màng não hiếm gặp: khởi phát cấp tính sốt cao có thể kèm co giật, mất ý thức, các dấu hiệu và triệu chứng viêm màng não.

1.2. Trường hợp bệnh xác định

Là trường hợp bệnh nghi ngờ kèm theo có ít nhất một trong các kết quả xét nghiệm sau:

- Nuôi cấy phân lập được trực khuẩn than, hoặc
- Xác định được đoạn gen đặc hiệu của trực khuẩn than bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

2. Nội dung giám sát

2.1. Giám sát bệnh nhân, người tiếp xúc

Điều tra trường hợp bệnh theo phiếu điều tra, lấy mẫu xét nghiệm, báo cáo các trường hợp bệnh nghi ngờ.

Lập danh sách, theo dõi sức khỏe hàng ngày các trường hợp có tiền sử tiếp xúc với nguồn truyền nhiễm trong vòng 30 ngày và có thể dài hơn đối với người tiếp xúc bệnh than thể phổi (43 ngày), khi có biểu hiện bệnh cần đến cơ sở y tế để khám và điều trị.

2.2. Giám sát các yếu tố dịch tễ liên quan

Lấy mẫu đất tại nhà bệnh nhân, khu vực chăn nuôi, chuồng trại, nơi giết mổ, nơi chôn gia súc bị bệnh hoặc nghi nhiễm bệnh để xét nghiệm xác định tác nhân gây bệnh.

Phối hợp với cơ quan thú y thực hiện lấy mẫu trên động vật và các sản phẩm từ động vật nghi mắc bệnh than.

3. Thu thập, bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm: mẫu bệnh phẩm da, dịch nốt phỏng, dịch cơ thể, phủ tạng, phân, đờm.

Thu thập, bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm: thực hiện theo quy định tại Phụ lục 2 kèm theo Hướng dẫn này.

4. Chẩn đoán phòng xét nghiệm: hướng dẫn chi tiết tại Phụ lục 3 kèm theo Hướng dẫn này.

5. Tổ chức xét nghiệm

5.1. Đơn vị lấy mẫu xét nghiệm

Trung tâm Kiểm soát bệnh tật/ Trung tâm Y tế dự phòng các tỉnh, thành phố, Trung tâm Y tế quận, huyện, các bệnh viện chịu trách nhiệm điều tra và lấy mẫu bệnh phẩm các trường hợp nghi ngờ mắc bệnh than trên địa bàn, đóng gói theo quy định và vận chuyển mẫu bệnh phẩm về các Viện Vệ sinh dịch tễ, Viện Pasteur theo khu vực phụ trách.

Phối hợp với cơ quan thú y tổ chức lấy mẫu trên động vật, sản phẩm từ động vật nghi ngờ mắc bệnh.

Các cán bộ tham gia lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm phải được tập huấn kỹ thuật lấy mẫu, được trang bị phòng hộ cá nhân, phải đảm bảo an toàn khi tiếp xúc với mầm bệnh.

Các Viện Vệ sinh dịch tễ, Viện Pasteur có trách nhiệm chỉ đạo, hỗ trợ chuyên môn kỹ thuật và phối hợp với các tỉnh, thành phố, quận, huyện thuộc khu vực phụ trách tiến hành điều tra, lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm kịp thời, đúng quy định.

5.2. Đơn vị xét nghiệm

Các Viện Vệ sinh dịch tễ, Viện Pasteur chịu trách nhiệm tiếp nhận các mẫu bệnh phẩm để thực hiện xét nghiệm và thông báo cho đơn vị gửi mẫu bệnh phẩm sau khi có kết quả xét nghiệm khẳng định.

Phòng xét nghiệm cần đảm bảo mức độ an toàn sinh học cấp II đối với kỹ thuật xét nghiệm chung và đảm bảo mức độ an toàn sinh học cấp III đối với kỹ thuật xét nghiệm cụ thể được quy định tại Thông tư số 41/2016/TT-BYT ngày 14/11/2016 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành danh mục vi sinh vật gây bệnh truyền nhiễm theo nhóm nguy cơ và cấp độ an toàn sinh học phù hợp kỹ thuật xét nghiệm.

6. Chế độ thông tin, báo cáo

Thực hiện thông tin, báo cáo trường hợp bệnh, ổ dịch theo quy định tại Thông tư số 54/2015/TT-BYT ngày 28/12/2015 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc Hướng dẫn chế độ thông tin báo cáo và khai báo bệnh, dịch bệnh truyền nhiễm.

Thực hiện phối hợp với cơ quan thú y cùng cấp trong giám sát, điều tra, xử lý ổ dịch, truyền thông phòng chống bệnh than... được thực hiện theo quy định tại Thông tư liên tịch số 16/2013/TTLT-BYT-BNN&PTNT ngày 27/5/2013 của Bộ Y tế và Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về việc Hướng dẫn phối hợp phòng, chống bệnh lây truyền từ động vật sang người nhằm tăng cường giám sát phát hiện sớm, xử lý kịp thời các trường hợp bệnh, ổ dịch bệnh than trên người.

III. CÁC BIỆN PHÁP PHÒNG BỆNH

Công tác phòng và chống dịch than cần có sự phối hợp chặt chẽ giữa cơ quan thú y và y tế.

1. Biện pháp phòng bệnh chung

Tuyên truyền tới từng hộ gia đình về tính chất nguy hiểm của bệnh than, các biện pháp phòng, chống bệnh than, nhất là ở những nơi có bệnh lưu hành địa phương, nơi có ổ dịch tiềm tàng, nơi có nguy cơ nhiễm nha bào than trong nông nghiệp cũng như công nghiệp để người dân chủ động phòng bệnh cho bản thân và cộng đồng. Tuyên truyền người dân không giết mổ, không ăn, không sử dụng, không buôn bán, vận chuyển sản phẩm từ gia súc mắc bệnh hoặc nghi ngờ mắc bệnh.

Trong những ngành công nghiệp có nguy cơ lây bệnh than, đặc biệt ở những nơi chế biến nguyên liệu động vật thô (lông, da, các sản phẩm của xương, sừng, lông...), cần có hệ thống thông gió, xử lý bụi tốt. Phải sử dụng quần áo bảo hộ lao động. Duy trì kiểm tra sức khỏe thường kỳ cho công nhân với sự chăm sóc y tế kịp thời đối với những vết xước da dễ bị nhiễm khuẩn.

2. Biện pháp phòng bệnh đặc hiệu

Hiện nay chưa có biện pháp phòng bệnh đặc hiệu cho bệnh này.

3. Điều trị dự phòng sau phơi nhiễm

Điều trị kháng sinh dự phòng sau phơi nhiễm đối với người tiếp xúc cần được bắt đầu càng sớm càng tốt, tốt nhất là trong vòng 48 giờ kể từ khi phơi nhiễm. Thời gian điều trị kháng sinh dự phòng từ 5-7 ngày (đối với phơi nhiễm qua đường da hoặc đường tiêu hoá), tối đa là 60 ngày (đối với phơi nhiễm qua đường hô hấp).

Những điểm lưu ý khi sử dụng kháng sinh dự phòng sau phơi nhiễm bệnh than:

- Liều khuyến cáo của các kháng sinh dưới đây là dành cho người có chức năng thận bình thường. Đối với những người suy thận, cần chỉnh liều kháng sinh cho phù hợp với chức năng thận.

- Liều trình điều trị Doxycycline trong 14 ngày thường không gây xỉn màu răng. Tuy nhiên, liệu trình điều trị kéo dài 60 ngày ở trẻ < 8 tuổi có thể gây xỉn màu răng.

- Levofloxacin được khuyến cáo sử dụng an toàn với liệu trình tối đa là 14 ngày ở trẻ em và 30 ngày ở người lớn.

- Amoxicillin hoặc Penicillin có nguy cơ kháng kháng sinh khi sử dụng liệu trình điều trị.

- Đối với phụ nữ có thai và đang cho con bú cần cân nhắc về tác dụng không mong muốn của thuốc và cần tham vấn bác sỹ điều trị.

Liều điều trị kháng sinh dự phòng như sau:

Người lớn	Phụ nữ có thai và đang cho con bú	Trẻ em (từ 1 tháng đến 17 tuổi)
1. Đối với tất cả các chủng		
1.1. Lựa chọn ưu tiên		
Ciprofloxacin 500 mg x 2 lần/ ngày (uống) hoặc	Ciprofloxacin 500 mg x 2 lần/ ngày (uống).	Ciprofloxacin 15 mg/ kg x 2 lần/ ngày (uống), không quá 500 mg/ 1 lần hoặc
Doxycycline 100 mg x 2 lần/ ngày (uống).		Doxycycline (không quá 100mg/ 1 lần): - Trẻ > 8 tuổi và > 45 kg: 100 mg x 2 lần/ ngày (uống). - Trẻ > 8 tuổi và ≤ 45kg: 2,2 mg/ kg x 2 lần/ ngày (uống). - Trẻ ≤ 8 tuổi: 2,2 mg/ kg x 2 lần/ ngày (uống).
1.2. Lựa chọn thay thế (ưu tiên theo thứ tự)		
Levofloxacin 750 mg x 1 lần/ ngày (uống) hoặc	Clindamycin 600 mg x 3 lần/ ngày (uống) hoặc	Clindamycin 30 mg/ kg x 3 lần/ ngày (uống), không quá 600 mg/ 1 lần hoặc

Người lớn	Phụ nữ có thai và đang cho con bú	Trẻ em (từ 1 tháng đến 17 tuổi)
Moxifloxacin 400 mg x 1 lần/ ngày (uống) hoặc	Doxycycline 100 mg x 2 lần/ ngày (uống).	Levofloxacin: - Trẻ <50 kg: 16 mg/ kg x 2 lần/ngày (uống), không quá 250 mg/ 1 lần. - Trẻ ≥50 kg: 500 mg x 1 lần/ ngày (uống).
Clindamycin 600 mg x 3 lần/ ngày (uống).		
2. Lựa chọn thay thế cho những chủng nhạy cảm với Penicillin (MIC <0.125 mcg/ml)		
Amoxicillin 1 g x 3 lần/ ngày (uống) hoặc	Amoxicillin 1 g x 3 lần/ ngày (uống) hoặc	Amoxicillin 75 mg/ kg x 3 lần/ ngày (uống), không quá 1 g/ 1 lần hoặc
Penicillin V 500 mg x 4 lần/ ngày (uống).	Penicillin V 500 mg x 4 lần/ ngày (uống).	Penicillin V 50 - 75 mg/ kg x 4 lần/ ngày (uống), không quá 500 mg/ 1 lần.

IV. XỬ LÝ Ổ DỊCH

1. Định nghĩa ổ dịch

1.1. Ổ dịch: Một nơi (thôn, xóm, đội/ tổ dân phố/ đơn vị ...) được gọi là ổ dịch khi ghi nhận ít nhất 1 trường hợp bệnh xác định trở lên và có yếu tố dịch tễ liên quan.

1.2. Ổ dịch chấm dứt: Ổ dịch bệnh than chấm dứt khi không ghi nhận trường hợp mắc mới trong vòng 60 ngày kể từ ngày khởi phát trường hợp bệnh gần nhất.

2. Các biện pháp xử lý ổ dịch

2.1. Triển khai các biện pháp phòng bệnh chung (mục 1, phần III).

2.2. Thực hiện thêm các biện pháp sau

2.2.1. Đối với người bệnh

Những trường hợp mắc bệnh hoặc nghi ngờ phải được quản lý, điều trị tại cơ sở y tế. Cách ly, theo dõi, điều trị sớm và phòng chống biến chứng.

Thường xuyên giữ vệ sinh da, vết loét, không để lây nhiễm chéo sang người bệnh khác hoặc cho cán bộ y tế.

Dụng cụ y tế, đồ dùng tiếp xúc trực tiếp với nguồn lây nhiễm và chất thải, dịch tiết cơ thể của bệnh nhân phải được thu gom, xử lý theo quy định. Bệnh nhân thể phổi phải đeo khẩu trang để tránh lây nhiễm cho người tiếp xúc.

2.2.2. Đối với người tiếp xúc

Người tiếp xúc là những người có ăn, giết mổ động vật nghi ngờ mắc bệnh hoặc tiếp xúc trực tiếp với nguồn lây nhiễm (động vật, sản phẩm của động vật, đất, nước nghi ô nhiễm tác nhân gây bệnh) hoặc tiếp xúc trực tiếp với chất thải, dịch tiết cơ thể của bệnh nhân hoặc tiếp xúc trực tiếp với bệnh nhân thể phổi.

Điều trị dự phòng cho người tiếp xúc theo hướng dẫn tại Mục 3, Phần III trong Hướng dẫn này.

Lập danh sách, theo dõi sức khỏe hàng ngày các trường hợp có tiền sử tiếp xúc với nguồn truyền nhiễm trong vòng 30 ngày và có thể dài hơn đối với người tiếp xúc bệnh than thể phổi (43 ngày). Khi phát hiện các triệu chứng cần được cách ly điều trị tại cơ sở y tế.

2.2.3 Đối với khu vực ổ dịch

a) Xử lý môi trường

Thường xuyên lau rửa nền nhà, tay nắm cửa và bề mặt các vật dụng bằng các chất tẩy rửa thông thường như xà phòng, các chất khử khuẩn gia dụng hoặc bằng dung dịch khử trùng có chứa Clo nồng độ 0,5% Clo hoạt tính.

Phun dung dịch khử trùng có chứa Clo nồng độ 0,5% Clo hoạt tính tại các địa điểm có liên quan dịch tễ càng sớm càng tốt 2-3 lần cách nhau 2-3 ngày. Địa điểm khử trùng (lau rửa, phun) gồm:

- Khu vực nghi ô nhiễm: nhà người bệnh, khu vực chuồng trại, nơi giết mổ, nơi chôn gia súc mắc bệnh.
- Các gia đình tiếp giáp nhà người bệnh, gia đình có gia súc mắc bệnh.
- Tại phòng khám bệnh, nơi điều trị người bệnh.

Các phương tiện sau khi vận chuyển người bệnh phải được xử lý bằng các dung dịch khử trùng có chứa Clo nồng độ 0,5% Clo hoạt tính.

b) Xử lý đối với dụng cụ y tế; đồ dùng, chất bài tiết của người bệnh

Dụng cụ y tế, đồ dùng tiếp xúc với tổn thương của bệnh nhân; chất thải của bệnh nhân: phân, nước tiểu, chất nôn, đờm, máu, dịch rỉ ra từ niêm mạc, lông, râu tóc, bông, băng gạc... phải được thu gom, khử trùng triệt để càng sớm càng tốt.

Tùy theo từng loại dụng cụ, chất thải cần khử trùng mà lựa chọn một trong những cách khử trùng phù hợp sau đây:

- Hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 60 phút.
- Ngâm trong dung dịch Formalin 10% tối thiểu 120 phút.
- Ngâm tối thiểu 120 phút trong dung dịch khử trùng chứa Clo có nồng độ 2,5% Clo hoạt tính.
- Đốt cháy hoàn toàn theo quy trình xử lý rác thải y tế. Chú ý đảm bảo công tác phòng cháy chữa cháy.

c) Xử lý người bệnh tử vong

Nếu người bệnh tử vong thì tiến hành sát trùng tẩy uế lần cuối tại gia đình hoặc bệnh viện và mai táng bệnh nhân tử vong theo quy định đối với bệnh truyền nhiễm gây dịch nhóm B theo Thông tư số 02/2009/TT-BYT ngày 26/5/2009 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc Hướng dẫn vệ sinh trong hoạt động mai táng và hỏa táng.

d) Xử lý đối với động vật mắc bệnh

Phối hợp với cơ quan thú y, chính quyền địa phương tiến hành xử lý theo hướng dẫn tại Mục 5, Phụ lục 12 về Hướng dẫn phòng, chống bệnh nhiệt thán, ban hành kèm theo Thông tư số 07/2016/TT-BNNPTNT ngày 31/5/2016 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về Hướng dẫn phòng, chống bệnh lây truyền động vật trên cạn.

đ) Phòng hộ cá nhân

Những người trực tiếp điều trị, chăm sóc, tham gia xử lý ổ dịch than phải sử dụng đầy đủ phương tiện bảo hộ cá nhân theo quy định để phòng lây nhiễm. Sau đó phải rửa tay, chân sạch bằng xà phòng hoặc ngâm tay, chân vào dung dịch khử trùng chứa Clo với nồng độ 0,5% Clo hoạt tính trong 1 phút rồi rửa kỹ lại bằng nước sạch.

Không sử dụng nước vôi hay vôi bột để xử lý trong ổ dịch than vì vôi bột làm tăng khả năng tồn tại của nha bào than trong môi trường.

Trong quá trình thực hiện nếu có vướng mắc, đề nghị phản ánh kịp thời về Bộ Y tế (Cục Y tế dự phòng) để giải quyết./.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**



Nguyễn Thanh Long

PHỤ LỤC 1
CÁC BIỂU MẪU BÁO CÁO

(Kèm theo Quyết định số 5703/QĐ-BYT ngày 20 tháng 12 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

Cơ sở y tế điều tra ca bệnh:.....
Ngày điều tra:...../...../.....

Mẫu 1

PHIẾU ĐIỀU TRA TRƯỜNG HỢP BỆNH THAN TRÊN NGƯỜI

I. THÔNG TIN CÁ NHÂN

1. Họ và tên bệnh nhân:.....
2. Ngày/tháng/năm sinh:/...../..... Tuổi:.....3. Giới: ☐ Nam ☐ Nữ
4. Dân tộc:..... 5. Điện thoại:.....
6. Nghề nghiệp (ghi rõ):.....
7. Địa chỉ nơi cư ngụ:
8. Địa chỉ nơi làm việc:.....
9. Ngày khởi bệnh:...../...../..... 10. Ngày vào viện:...../...../.....
11. Cơ sở điều trị:.....

II. TÌNH TRẠNG BỆNH

12. Lý do vào viện:
13. Tiền sử dịch tễ:.....
- Bệnh kèm theo:.....
14. Triệu chứng:
Thể da: lúc đầu ngứa, sau đó nổi phỏng nước, loét màu đen thường không đau, hay gặp ở cánh tay và bàn tay ☐ Khác.....
Thể phổi: triệu chứng tương tự như viêm đường hô hấp trên thông thường nhưng diễn tiến nhanh chóng gây ra khó thở nặng và sốt ☐ Khác.....
Thể ruột (hiếm gặp): đau bụng dữ dội kèm theo sốt, nhiễm khuẩn huyết ☐ Khác.....

15. Xét nghiệm:
Loại mẫu:
- Cơ sở lấy mẫu:.....
- Ngày lấy mẫu:...../...../..... Ngày có kết quả:...../...../.....
- Kết quả xét nghiệm:.....
- Phương pháp xét nghiệm:.....
- Cơ sở xét nghiệm:.....
- X- quang: (ngày...../...../.....).....
- Kết quả khám nghiệm tử thi:.....

III. YẾU TỐ DỊCH TỄ

- Tiền sử tiếp xúc: (trong vòng 30 ngày trước khi mắc bệnh)
16. Đi đâu trong vòng 30 ngày gần đây Có ☐ Không ☐
 - Địa chỉ (nếu có đi):.....

17. Tiếp xúc với gia súc

Lò mổ gia súc Có ☐ Không ☐
 Trại chăn nuôi gia súc/ vật nuôi Có ☐ Không ☐
 Động vật hoang dã Có ☐ Không ☐
 Nơi tập trung, phân phối, sản xuất các sản phẩm từ các nguyên liệu có nguồn gốc động vật: da, xương, sừng, lông, len ... Có ☐ Không ☐
 Trực tiếp giết mổ gia súc Có ☐ Không ☐
 Ăn thịt gia súc chết không rõ nguyên nhân Có ☐ Không ☐

Nếu có, loại gia súc/ vật nuôi:..... ở đâu:

Ngày tiếp xúc...../...../.....

18. Tiếp xúc gần với người được chẩn đoán bị bệnh than trong vòng 30 ngày hoặc 43 ngày (bệnh than thể phổi)

Có ☐ Không ☐ Không rõ ☐

Địa chỉ (nếu có):..... ngày:...../...../.....

V. CHẨN ĐOÁN, RA VIỆN

19. Chẩn đoán vào viện:.....

20. Chẩn đoán khi ra viện/chuyển viện/tử vong:.....

21. Ngày ra viện...../...../..... chuyển viện...../...../..... tử vong:...../...../.....

22. Tình trạng bệnh nhân khi ra viện:

Khỏi ☐ Đỡ/ổn định ☐ Nặng, xin về ☐

Chuyển viện ☐ Di chứng (.....) ☐ Tử vong ☐

23. Nếu chuyển viện, tên bệnh viện chuyển đến:.....

24. Các ghi nhận khác:.....

Ngày điều tra:/...../.....

Người điều tra

Ngày.....tháng.....năm 20...

Lãnh đạo cơ sở Y tế

(Ký tên đóng dấu)

PHIẾU YÊU CẦU XÉT NGHIỆM VÀ TRẢ LỜI KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM BỆNH THAN TRÊN NGƯỜI

Mã số bệnh nhân: ____/____/____/____

Họ và tên:

Ngày, tháng, năm sinh: ____/____/____ Tuổi (năm): ____

Giới: ☐ Nam ☐ Nữ

Điện thoại liên lạc:

Địa chỉ: Số nhà/số phòng: Xã/phường:

Quận/huyện: Tỉnh, thành phố:

Ngày nhập viện: ____/____/20____ (ngày/tháng/năm)

Ngày khởi phát: ____/____/20____ (ngày/tháng/năm)

Ngày lấy mẫu: ____/____/20____ (ngày/tháng/năm)

Thời gian lấy mẫu: ____ giờ ____ phút

Loại bệnh phẩm:

☐ Da ☐ Dịch nốt phỏng ☐ Dịch cơ thể ☐ Phũ tạng ☐ Phân ☐ Đờm

☐ Khác (ghi rõ)

Nơi lấy mẫu:

Bác sỹ yêu cầu xét nghiệm
(ký, họ tên)

Người lấy mẫu
(ký, họ tên)

Số điện thoại của bác sỹ yêu cầu xét nghiệm:

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Đơn vị xét nghiệm:

Mã số bệnh nhân: ____/____/____/____

Ngày nhận bệnh phẩm: ____/____/20____ (ngày/tháng/năm)

Tình trạng bệnh phẩm: ☐ Tốt ☐ Không tốt ☐ Từ chối xét nghiệm (lý do:.....)

Ngày xét nghiệm: ____/____/20____ (ngày/tháng/năm)

Kỹ thuật xét nghiệm:

Kết quả: ☐ Trực khuẩn than *B. anthracis* ☐ khác (ghi rõ))

Cán bộ xét nghiệm
(ký, họ tên)

....., ngày.....tháng.....năm.....
Trưởng phòng xét nghiệm
(ký, họ tên)

MẪU BÁO CÁO TRƯỜNG HỢP BỆNH HOẶC Ồ DỊCH LÂY TRUYỀN TỪ ĐỘNG VẬT SANG NGƯỜI
(Áp dụng đối với đơn vị y tế khi trao đổi thông tin bệnh dịch với các đơn vị thú y)
(Ban hành kèm theo Thông tư số 16/2013/TTLT-BYT-BNN&PTNT ngày 25/5/2013)

Cơ quan chủ quản:.....

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Đơn vị:.....

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số:...../.....

....., ngày..... thángnăm

**BÁO CÁO
TRƯỜNG HỢP BỆNH HOẶC Ồ DỊCH BỆNH THAN**

Mẫu 3

Kính gửi:

I. Thông tin bệnh nhân đầu tiên

1. Họ tên bệnh nhân:..... Tuổi:..... Giới:.....
2. Họ tên người liên hệ (đối với trẻ em):.....
3. Nghề nghiệp:.....
4. Nơi ở hiện tại:.....
5. Quận/Huyện:..... Tỉnh:Số điện thoại:
6. Ngày khởi phát triệu chứng đầu tiên:...../...../.....
7. Ngày vào viện:...../...../.....Ngày tử vong (nếu có):/...../.....
8. Nơi khám bệnh đầu tiên:.....
9. Nơi bệnh nhân đang điều trị:.....
10. Chẩn đoán ban đầu:.....
11. Chẩn đoán xác định:.....
12. Tiền sử:
13. Yếu tố dịch tễ:
14. Ngày lấy mẫu bệnh phẩm:Loại bệnh phẩm.....
15. Ngày gửi bệnh phẩm xét nghiệm:/...../.....
16. Ngày trả và kết quả xét nghiệm:/...../.....
17. Nơi xét nghiệm:..... Phương pháp xét nghiệm:.....

II. Tổng hợp tình hình bệnh hoặc ổ dịch đến thời điểm báo cáo

1. Tổng số trường hợp mắc:.....
2. Tổng số trường hợp tử vong:.....
3. Số địa phương ghi nhận trường hợp bệnh: Số tỉnh:..... Số huyện:.....Số xã:.....
4. Số mẫu xét nghiệm:.....
5. Số mẫu dương tính:.....
6. Các yếu tố nguy cơ:.....

III. Nhận định tình hình

.....
.....

IV. Các biện pháp phòng, chống dịch đã triển khai

.....
.....

Nơi nhận:

-

Thủ trưởng đơn vị

(ký, đóng dấu)

PHỤ LỤC 2

HƯỚNG DẪN LẤY MẪU, BẢO QUẢN, VẬN CHUYỂN BỆNH PHẨM

(Kèm theo Quyết định số 5703/QĐ-BYT ngày 20 tháng 12 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

1. Loại bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm da, dịch nốt phỏng, dịch cơ thể, phủ tạng, phân, đờm.

2. Vật liệu và thiết bị cần thiết

2.1. Các trang thiết bị cần thiết

2.1.1. Lấy mẫu

- Kẹp, dao, kéo vô trùng;
- Bơm tiêm 5ml để lấy máu;
- Bông cotton sát trùng;
- Tấm bông vô trùng (loại rời hoặc loại đặt trong ống nghiệm);
- Lọ đựng phân, đờm, dịch tiêu hóa, đất;
- Ống nghiệm đựng máu, ống nghiệm có tấm bông vô trùng;
- Giá để ống nghiệm, khay inox;
- Băng dính, nhãn dán, bút viết không xóa;
- Túi nilon có khóa kích thước 40x30cm hoặc 20x20cm;
- Túi rác thải y tế có nhãn an toàn sinh học;
- Bộ quần áo bảo hộ cá nhân;
- Thùng vận chuyển mẫu;
- Bình tích lạnh;
- Các mẫu điện thông tin bệnh phẩm.

2.1.2. Bảo quản mẫu

a) Tại tuyến địa phương cần có

- Tủ lạnh thường;
- Thùng xốp;
- Đá hoặc bình tích lạnh;
- Sổ sách ghi chép.

b) Tại tuyến trung ương cần có

- Tủ lạnh thường, tủ lạnh âm -30°C, -80°C;
- Sổ sách ghi chép, hệ thống máy tính lưu trữ dữ liệu hồ sơ của mẫu;
- Cán bộ chịu trách nhiệm giám sát khu vực lưu trữ.

2.1.3. Vận chuyển mẫu

- Hộp vận chuyển bệnh phẩm 3 lớp kích cỡ tùy thuộc số lượng, loại mẫu cần vận chuyển (theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế thế giới);
- Giá, khay, hộp kín đựng mẫu;
- Giấy thấm;
- Dung dịch sát khuẩn: cồn 70° hoặc sodium hypochlorite 10%; 0.5% (NaClO);
- Nhãn (tùy thuộc loại bệnh phẩm);
- Băng dính.

2.1.4. Hóa chất, thuốc thử

- Môi trường vận chuyển: Carry Blair, nước muối sinh lý 0.85%;

- Dung dịch formaldehyde 10% (pH trung tính);
- Dung dịch sát khuẩn: Cloramin B 5% hoặc NaClO 0,5%, còn 70°.

3. Hướng dẫn lấy mẫu, bảo quản, vận chuyển

3.1. Lấy mẫu

3.1.1. Bệnh phẩm trên người

Mặc quần áo phòng thí nghiệm, đeo gang tay, khẩu trang.

a) Đối với thể da

- Chuẩn bị ống nghiệm vô trùng, dán nhãn ghi mã số bệnh phẩm.
- Dùng tăm bông vô trùng chấm nhẹ vào vùng da có tổn thương dạng bong nước, xoay nhẹ tăm bông vài vòng cho thấm đủ lượng dịch mủ. Sau đó cho tăm bông vào ống nghiệm đã chuẩn bị. Lưu ý: lấy 2 tăm bông bệnh phẩm/01 bệnh nhân, tránh làm tổn thương rộng vết bong nước.

- Trường hợp nốt phỏng đã có vảy: dùng kẹp (vô trùng) khê nhấc vùng da có vảy lên, sau đó dùng tăm bông ấn sâu vào phần viền của vết thương hoặc lấy kéo cắt 1 phần của vảy da. Cho tăm bông, vảy da vào các ống nghiệm đã chuẩn bị sẵn. Sát trùng vùng da cho bệnh nhân, băng lại nếu cần thiết.

b) Đối với thể tiêu hóa

- Chuẩn bị ống nghiệm vô trùng, ống nghiệm đựng môi trường Cary-Blair, hoặc lọ đựng mẫu. Dán nhãn ghi mã số bệnh phẩm.

- Lấy phân (khoảng bằng hạt đỗ), chất nôn cho vào lọ. Nếu bệnh nhân không đi ngoài được thì dùng tăm bông lấy mẫu phân trực tràng. Cắm tăm bông vào ống nghiệm đã chuẩn bị.

- Nếu trên tử thi có thể lấy mẫu tổ chức: ruột, gan, lách... cắt mảnh khoảng 10gr cho vào ống nghiệm vô trùng.

- Nếu lấy máu: dùng bơm tiêm 5ml lấy 2-3ml máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm đã chuẩn bị sẵn.

c) Đối với thể phổi

- Chuẩn bị ống nghiệm vô trùng, dán nhãn ghi mã số bệnh phẩm.

- Dùng 02 tăm bông lấy đờm hoặc lấy 1-2ml dịch não tủy (tuân thủ theo quy trình của bệnh viện) hoặc dịch phổi (tuân thủ theo quy trình của bệnh viện).

- Bệnh phẩm máu lấy tương tự thể tiêu hóa (thường lấy ở giai đoạn muộn của bệnh).

- Đậy ống nghiệm chặt, để vào giá hoặc xếp vào túi đựng bệnh phẩm.

- Ghi chép thông tin của bệnh phẩm theo mẫu. Hướng dẫn khử nhiễm khu vực xung quanh bằng thuốc sát khuẩn cloramin B 5%.

- Cởi bỏ áo thí nghiệm, rửa tay bằng xà phòng hoặc còn 70° hoặc dung dịch sát khuẩn.

3.1.2. Bệnh phẩm ở động vật

Phối hợp với cơ quan thú y tổ chức lấy mẫu trên động vật, sản phẩm từ động vật nghi ngờ mắc bệnh.

3.2. Bảo quản, vận chuyển mẫu

3.2.1. Bảo quản

Trong quá trình vận chuyển

- Bệnh phẩm, mẫu được giữ lạnh trong hộp vận chuyển có bình tích lạnh đạt nhiệt độ từ 15-25°C.

- Có hồ sơ mẫu kèm theo.

Tại phòng thí nghiệm: mẫu lưu trữ trong BSL3

- Có hồ sơ của mẫu bệnh phẩm. Ký xác nhận trong biên bản nhận mẫu.

- Mẫu có thể được xử lý ngay hoặc giữ mẫu ở 2-8°C trong ngày.

- Mẫu sau khi xử lý hoặc đã phân lập được chủng.

- Giữ chủng trong môi trường canh thang não tim (BHI) có 30% glycerol, để ở -20°C (trong 6 tháng) hoặc -80°C nếu cần để lâu hơn. Ghi nhãn mã số bệnh phẩm theo như hồ sơ ban đầu và nhãn hiệu loại bệnh phẩm lưu trữ. Điền thông tin vào biểu mẫu bảo quản bệnh phẩm.

- Mẫu bệnh phẩm chưa xử lý còn lại cất ở -20°C (trong 6 tháng) hoặc -80°C nếu để lâu hơn. Điền thông tin vào biểu mẫu bảo quản bệnh phẩm.

- Các mẫu ADN đã tách chiết cất ở -20°C (trong 6 tháng) hoặc -80°C nếu cần để lâu hơn. Ghi mã số bệnh phẩm. Điền thông tin vào biểu mẫu bảo quản bệnh phẩm.

- Có thể kiểm tra định kỳ các chủng đang lưu trữ. Có chữ ký xác nhận của người làm và điền thông tin vào biểu mẫu bảo quản bệnh phẩm.

- Kiểm tra định kỳ các tủ lạnh, tủ âm sâu. Có chứng chỉ được xác nhận của phía chuyên môn.

- Cập nhật các thông tin về mẫu bằng hệ thống máy tính.

3.2.2. Vận chuyển mẫu

3.2.2.1. Vận chuyển mẫu bệnh phẩm trong nước

a) Vận chuyển mẫu từ nơi thu thập đến phòng thí nghiệm tuyến địa phương

- Cho mẫu bệnh phẩm vào trong hộp nhựa cứng có nắp xoáy chặt. Ống nghiệm đựng bệnh phẩm phải được bọc bằng giấy mềm trước khi cho vào hộp vận chuyển.

- Bệnh phẩm lấy được vận chuyển trực tiếp đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ phòng hoặc 2-8°C.

- Bệnh phẩm cấy máu: vận chuyển ngay lập tức đến phòng thí nghiệm ở nhiệt độ phòng.

b) Vận chuyển đến phòng thí nghiệm tuyến trung ương: phải đóng gói theo tiêu chuẩn sau:

- Đóng gói bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm được giữ trong ống nghiệm nhựa, có nắp xoáy kín. Nắp được bọc kín bằng giấy paraffin. Ghi thông tin của mẫu lên ống nghiệm.

Lớp 1: hộp nhựa có nắp xoáy kín, không thấm nước. Ống nghiệm bệnh phẩm được cuốn một lớp giấy thấm tẩm dung dịch sát khuẩn (cồn 70° hoặc dung dịch NaClO 10%) để trong hộp (lưu ý: nếu mẫu là dung dịch thì lượng dung

dịch sát khuẩn tẩm và giấy thấm phải thấm đủ tương đương thể tích dung dịch của mẫu). Ghi thông tin lên nhãn của lớp 2.

Lớp 2: Hộp nhựa cứng, có nắp xoáy kín, không thấm nước. Lớp thứ 2 được bọc bằng bìa cát tông và đặt vào trong lòng hộp này.

Lớp 3: Hộp bìa cứng/ hoặc thùng nhựa, chứa đựng toàn bộ phần lớp 2. Ghi thông tin bệnh phẩm, người nhận, người gửi (và/hoặc người chịu trách nhiệm) lên nhãn. Phần chứa của lớp 3 có thể gồm các bình tích lạnh, đá hoặc đá CO₂ tùy theo loại mẫu, thời gian vận chuyển mẫu và nhiệt độ khi vận chuyển.

- Gửi bệnh phẩm: nếu sử dụng phương tiện ô tô: bàn giao mẫu và viết báo cáo. Nếu gửi theo bưu điện: tuân thủ các thủ tục yêu cầu của đơn vị chuyển hàng. Theo dõi thông tin và kiểm tra khi hàng đã đến nơi.

- Ghi chép, lưu trữ các báo cáo: hồ sơ gửi mẫu; báo cáo Ban lãnh đạo, Ban ATSH nếu có sự cố xảy ra.

c) Vận chuyển mẫu trong khu vực phòng thí nghiệm

Các mẫu bệnh phẩm phải được vận chuyển bằng giá hoặc khay, được để trong hộp inox hoặc hộp nhựa có nắp kín.

3.2.2.2. Vận chuyển mẫu ra nước ngoài

- Đóng gói bệnh phẩm:

Sử dụng hộp vận chuyển mẫu theo đúng tiêu chuẩn quốc tế: IATA, UN (hoặc theo yêu cầu của hàng vận chuyển).

Phân loại mẫu theo qui định vận chuyển quốc tế để lựa chọn phương tiện vận chuyển phù hợp (Dangerous Goods Regulations).

Mẫu bệnh phẩm được giữ trong túyp nhựa, có nắp xoáy kín. Nắp được cuốn bằng giấy paraffin. Ghi thông tin của mẫu lên ống nghiệm.

Lớp 1: hộp nhựa có nắp xoáy kín, không thấm nước. Ống nghiệm bệnh phẩm được cuốn một lớp giấy thấm tẩm dung dịch sát khuẩn (cồn 70° hoặc NaClO 10%) để trong hộp (lưu ý: nếu mẫu là dung dịch thì lượng dung dịch sát khuẩn tẩm vào giấy thấm phải thấm đủ tương đương thể tích dung dịch của mẫu). Ghi thông tin lên nhãn của lớp 2.

Lớp 2: hộp nhựa cứng, có nắp xoáy kín, không thấm nước. Lớp thứ 2 được bọc bằng giấy bìa cát tông và đặt vào trong lòng hộp này.

Lớp 3: hộp bìa cứng có lớp xốp lót hoặc thùng nhựa có lớp cách nhiệt (isothermal box) chứa đựng toàn bộ phần lớp 2. Ghi thông tin bệnh phẩm, người nhận, người gửi (và/hoặc người chịu trách nhiệm) lên nhãn. Phần chứa của lớp 3 có thể gồm các bình tích lạnh, đá hoặc đá CO₂ tùy theo loại mẫu, thời gian vận chuyển mẫu và nhiệt độ khi vận chuyển.

- Gửi bệnh phẩm:

Giấy xác nhận đồng ý vận chuyển mẫu của cơ quan có thẩm quyền như Bộ Y tế, Ban ATSH.

Tuân thủ các thủ tục yêu cầu của đơn vị chuyển hàng.

Theo dõi kiểm tra thông tin khi hàng đến nơi.

- Ghi chép, lưu trữ các báo cáo: hồ sơ gửi mẫu; báo cáo cơ quan chức năng như Bộ Y tế, Ban ATSH... nếu có sự cố xảy ra.

PHỤ LỤC 3

HƯỚNG DẪN CHẨN ĐOÁN TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

(Kèm theo Quyết định số 5703/QĐ-BYT ngày 20 tháng 12 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế)
(Áp dụng cho các phòng xét nghiệm tuyến Trung ương hoặc tương đương nếu có phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp III)

1. Các trang thiết bị cần thiết

- Tủ an toàn sinh học BSC 2;
- Tủ ấm 37°C, tủ ấm CO₂;
- Kính hiển vi quang học;
- Hệ thống PCR: máy luân nhiệt, máy điện di, máy chụp gel;
- khay inox vận chuyển mẫu;
- Hộp đựng đồ sắc nhọn (inox);
- Túi đựng rác thải y tế, có nhãn hiệu an toàn sinh học;
- Phương tiện bảo hộ cá nhân;
- Dung dịch tiệt trùng vật liệu thải.

2. Nội dung quy trình

a) Xử lý bệnh phẩm

- Tuân thủ thường qui ra, vào Phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp III (BSL3).

- Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.

Bệnh phẩm dạng bột: làm trong Tủ an toàn sinh học nhóm 3 (BSC3)

- Đeo mặt nạ phòng độc (nếu không làm trong BSC3);
- Chuyển các túi/ bì thư chứa chất bột trong BSC3;
- Dùng kéo vô trùng cắt một góc của bì thư hoặc túi;
- Luồn tăm bông vô trùng qua vết cắt chấm vào bột phía trong;
- Ghi mã số bệnh phẩm lên ống thí nghiệm 5ml vô trùng. Cho 2 ml nước cất vô trùng vào ống nghiệm;

- Nhúng tăm bông đã chấm bột vào ống nghiệm. Lắc nhẹ bằng máy lắc (vortex) tạo thành huyền dịch;

- Huyền dịch này có thể sử dụng để làm tiêu bản nhuộm soi, nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất;

- Ống nghiệm đựng bệnh phẩm cần cho vào hộp đựng bệnh phẩm, xịt cồn 70° khử nhiễm trước khi đưa ra ngoài BSC 3 để cất đi.

Bệnh phẩm thể da: làm trong Tủ an toàn sinh học nhóm 2 (BSC2)

- Dịch mụn nước:

Lấy ống nghiệm 5 ml cho 1 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,85%, ghi mã số bệnh phẩm trên nhãn ống nghiệm.

Que tăm bông có bệnh phẩm được nhúng vào ống nghiệm, xoay que tăm bông hoặc mài nhẹ lên thành ống nghiệm. Đóng nắp ống nghiệm. Lắc nhẹ bằng máy vortex hoặc bằng tay.

Huyền dịch này có thể sử dụng để làm tiêu bản nhuộm soi, nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất.

Lưu ý: trong trường hợp bệnh phẩm vận chuyển từ nơi xa đến, có thể nhúng tăm bông vào môi trường tăng sinh canh thang não tim (BHI) để ủ ấm 37°C trong 8 giờ. Sau đó tiến hành nuôi cấy như thường qui.

Ống nghiệm đựng bệnh phẩm cần cho vào hộp đựng bệnh phẩm, xịt còn 70°C khử trước khi đưa ra ngoài BSC2 để cất đi.

- Vẩy da:

Lấy ống nghiệm 5 ml cho 1 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,85%, ghi mã số bệnh phẩm trên nhãn ống nghiệm.

Gấp mảnh vẩy/da bằng kẹp vô trùng cho vào ống nghiệm. Dùng máy nghiền tổ chức hoặc đầu que thủy tinh vô trùng, nghiền 1-2 phút đến khi bệnh phẩm thành huyền dịch. Đóng nắp ống nghiệm.

Huyền dịch này có thể sử dụng để làm tiêu bản nhuộm soi, nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất.

Ống nghiệm đựng bệnh phẩm cần cho vào hộp đựng bệnh phẩm, xịt còn 70°C khử trước khi đưa ra ngoài BSC2 để cất đi.

Bệnh phẩm tiêu hóa: làm trong BSC2

- Phân:

Lấy ống nghiệm 5 ml cho 1 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,85%, ghi mã số bệnh phẩm trên nhãn ống nghiệm.

Dùng que cấy hoặc đầu tăm vô trùng lấy 1 ít bệnh phẩm (10gr) cho vào ống nghiệm. Xoay tròn que cấy và lắc nhẹ bằng máy vortex 15-30 giây đến khi tạo thành huyền dịch. Đóng nắp ống nghiệm.

Huyền dịch này có thể sử dụng để làm tiêu bản nhuộm soi, nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất.

- Mảnh ruột:

Lấy ống nghiệm 5 ml cho 1 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,85%, ghi mã số bệnh phẩm trên nhãn ống nghiệm.

Dùng dao cắt mảnh ruột khoảng 10 gr, dùng kẹp vô trùng gấp cho vào ống nghiệm. Dùng máy nghiền tổ chức hoặc đầu que thủy tinh vô trùng, nghiền 1-5 phút đến khi bệnh phẩm thành huyền dịch. Đóng nắp ống nghiệm.

Huyền dịch này có thể sử dụng để làm tiêu bản nhuộm soi, nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất.

- Dịch tiêu hóa:

Lấy ống nghiệm 5 ml cho 1 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,85%, ghi mã số bệnh phẩm trên nhãn ống nghiệm.

Que tăm bông có bệnh phẩm được nhúng vào ống nghiệm. Xoay que tăm bông hoặc mài nhẹ nhàng lên thành ống nghiệm. Đóng nắp ống nghiệm, lắc nhẹ nhàng bằng máy vortex hoặc bằng tay.

Huyền dịch này có thể sử dụng để làm tiêu bản nhuộm soi, nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất.

Bệnh phẩm thể hô hấp

- Đờm: làm tương tự như bệnh phẩm dịch mũi/ dịch tiêu hóa.

- Máu: ly tâm, chất huyết thanh cho vào ống nghiệm eppendorf 2 ml cất tủ âm 30°C hoặc để nguyên làm tiêu bản nhuộm hoặc cấy máu.

Bệnh phẩm từ môi trường

- Đất:

Ghi mã số bệnh phẩm trên nhãn ống nghiệm nước cất 10ml.

Dùng mũi dao hoặc que cấy lấy 1gr đất trong lọ đựng bệnh phẩm cho vào ống nghiệm nước cất. Đóng nắp ống nghiệm. Lắc nhẹ bằng máy vortex hoặc bằng tay.

Pha loãng huyền dịch ở 2 nồng độ 1:10 và 1:100, thể tích 10ml bằng nước cất vô trùng hoặc đệm phốt phát (PBS, pH 7,4).

Huyền dịch này có thể sử dụng để nuôi cấy. Đối với tách chiết ADN cho kỹ thuật PCR thì việc xử lý mẫu theo thường qui của hãng sản xuất.

- Hộp/ ống nghiệm đựng bệnh phẩm cần cho vào hộp đựng bệnh phẩm, xịt cồn 70°C khử nhiễm trước khi đưa ra ngoài BSL2/ BSL3 để cất đi.

- Khử nhiễm khu vực xét nghiệm sau khi xử lý mẫu xong.

- Điền các mẫu báo cáo. Lưu trữ thông tin trong BSL2/ BSL3.

b) Nhuộm soi

Tuân thủ thường qui ra vào phòng BSL3

- Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.

- Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm trong BSC và tuân thủ thường qui xử lý bệnh phẩm (tùy theo từng loại bệnh phẩm).

- Tiến hành nhuộm gram và nhuộm mực tàu: soi xác định tính chất bắt màu (gram dương), hình thể (hình que, xếp thành chuỗi) hoặc hình ảnh vỏ nha bào trên tiêu bản nhuộm mực tàu.

- Điền mẫu ghi chép công việc, lưu tại khu vực được qui định trong BSL3.

- Sau 24 - 48 giờ đọc kết quả. Ghi chép vào mẫu báo cáo kết quả vi sinh. Lưu trữ thông tin tại BSL3.

c) Nuôi cấy

- Tuân thủ thường qui ra vào phòng BSL3.
- Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.
- Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm trong BSC và tuân thủ thường qui xử lý bệnh phẩm (tùy theo từng loại bệnh phẩm).

- Cấy chuyển bệnh phẩm:

- + Ghi mã số bệnh phẩm trên các đĩa môi trường nuôi cấy;
- + Nhỏ 50 - 100 μ l dung dịch bệnh phẩm (tùy loại bệnh phẩm) đã được chuẩn bị lên môi trường thạch máu 5%, MacConkey, PLET, thạch dinh dưỡng;
- + Dùng que cấy ria theo hình chữ Z với bệnh phẩm là thức ăn, dịch mũi, họng, tổ chức hoặc ria kiểu mắt sàng nếu là bệnh phẩm nước, đất;

Lưu ý: bệnh phẩm máu cấy trong bình canh thanh não tim bò để ủ tiếp 37°C trong 24 giờ.

+ Các đĩa môi trường được giữ ở tủ ấm 35°C - 37°C trong 18-24 giờ (hoặc 48 giờ với môi trường PLET);

- Điền mẫu ghi chép công việc, lưu tại khu vực được qui định trong BSL3.

- Sau 24 - 48 giờ đọc kết quả. Ghi chép vào mẫu báo cáo kết quả vi sinh. Lưu trữ thông tin tại BSL3.

d) Thử nghiệm tính sinh vật hóa học

- Tuân thủ thường qui ra, vào phòng BSL3.
- Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.
- Xếp các ống môi trường theo thứ tự cần thiết. Ghi mã số bệnh phẩm.
- Dùng khay inox (hoặc nhựa) vận chuyển đĩa thạch nuôi cấy vi khuẩn từ tủ ấm 37°C đưa vào BSC.

Lưu ý: các đĩa thạch cần được khử nhiễm bằng cồn 70° trước khi đưa vào/ra BSC.

- Chọn khuẩn lạc điển hình để xác định tính chất sinh vật hóa học.
- Dùng que cấy 1 μ l (cần khử trùng nếu que cấy platin) lấy một phần khuẩn lạc cấy chuyển vào các ống môi trường.

Lưu ý: đối với các môi trường lỏng, cần mài nhẹ đầu que cấy lên thành ống sau đó nhúng xuống môi trường.

- Xếp các ống môi trường vào khay/giá vận chuyển. Xịt cồn 70° trước khi đưa ra ngoài BSC, để tủ ấm 35-37°C trong 24 giờ.

- Tuân thủ thường qui khử nhiễm sau khi làm việc.

- Điền mẫu ghi chép công việc, lưu tại khu vực được qui định trong BSL3.

- Sau 24 giờ: đọc kết quả, ghi chép vào mẫu báo cáo kết quả vi sinh. Lưu trữ thông tin tại BSL3.

e) Thử nghiệm ly giải thực khuẩn thể vi khuẩn

- Tuân thủ thường qui ra, vào phòng BSL3.
 - Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.
 - Dùng khay inox (hoặc nhựa) vận chuyển đĩa thạch nuôi cấy vi khuẩn hoặc dung dịch nuôi cấy từ tủ ấm 37°C ra BSC. Xịt cồn 70° khử nhiễm trước khi đưa đĩa thạch vào BSC.
 - Ghi mã số bệnh phẩm lên đĩa thạch máu cừu. Đánh dấu nơi sẽ nhỏ gamma - phase trên đĩa thạch.
 - Dùng que cấy vô trùng ria chủng cần thử trên đĩa thạch (ria theo kiểu mắt sàng) nhỏ 5 µl B.anthraxis gamma - phase lên mặt thạch ở vùng đã đánh dấu. Để khô tự nhiên (tránh loang xung quanh), cất vào tủ ấm 35-37°C, kiểm tra sau mỗi 6 giờ đến 24 giờ.
 - Đọc kết quả: dương tính khi xuất hiện vòng vô khuẩn ở điểm nhỏ gamma - phase. Âm tính khi không có vòng vô khuẩn.
 - Ghi chép vào mẫu báo cáo kết quả vi sinh. Lưu trữ tại BSL3.
- Chú ý: Đôi khi (hiếm gặp) có chủng không điển hình nên không dương tính với gamma - phase. Khi đó cần xác định tiếp bằng phương pháp sinh học phân tử.

f) Thử tính nhạy Penicillin

- Tuân thủ thường qui ra, vào phòng BSL3.
- Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.
- Dùng khay inox (hoặc nhựa) vận chuyển đĩa thạch nuôi cấy vi khuẩn hoặc dung dịch nuôi cấy từ tủ ấm 37°C đưa vào BSC.
- Xịt cồn 70° khử nhiễm trước khi đưa đĩa thạch vào BSC.
- Ghi mã số bệnh phẩm trên túyp chứa 1.5 ml nước muối sinh lý.
- Lấy 01 vòng khuẩn lạc vào túyp. Để tủ ấm 37°C trong 2 giờ. Sau đó, kiểm tra ống nghiệm có vi khuẩn để đạt độ đục Mc'Faland 0,5.
- Dùng que tăm bông vô trùng ria cấy (theo kiểu mắt sàng) vi khuẩn lên thạch Mueller Hinton hoặc thạch máu cơ bản. Để đĩa thạch khô tự nhiên trong khoảng 15 phút.
- Đặt khoanh giấy kháng sinh Penicillin G lên, ấn nhẹ nhàng cho khoanh kháng sinh tiếp xúc với bề mặt đĩa thạch.
- Xịt cồn 70° khử nhiễm, đưa đĩa thạch ra khỏi BSC, để vào tủ ấm 37°C trong 18-24 giờ.
- Đọc kết quả: đo vòng khuẩn xung quanh khoanh giấy kháng sinh. Đánh giá nhạy cảm kháng sinh khi vòng vô khuẩn $\geq 29\text{mm}$. Ghi chép vào mẫu báo cáo kết quả vi sinh. Lưu trữ tại BSL3.

g) PCR (Polymerase Chain Reaction) - Phản ứng trùng hợp chuỗi

- Tuân thủ thường qui ra, vào phòng BSL2.
- Tuân thủ thường qui chuẩn bị khu vực làm thí nghiệm.
- Thực hiện trên mẫu ADN đã được tiến hành tách chiết trong BSL3.

- Tiến hành phản ứng: Dung tích của 1 phản ứng là 25 µl được đựng trong tuýp 0,2 ml vô trùng với các thành phần và chu trình sau: (qui trình chuẩn bị được thực hiện trong BSC2).

Phương pháp	Thành phần phản ứng		Chu trình
WHO pXO1 và pXO2	PCR master mix	12,5 µl	95 °C / 5 phút
	Cap1234	0,5 µl	94 °C / 1 phút
	Cap1301	0,5 µl	52 °C / 1 phút
	PA5	0,5 µl	72 °C / 1 phút
	PA8	0,5 µl	72 °C / 10 phút
	H ₂ O - Rnase free	9,5 µl	4 °C - ∞
	ADN khuôn	1 µl	

Các sản phẩm PCR thu được cất ở 4°C cho đến khi phân tích.

Phân tích sản phẩm PCR bằng điện di trên thạch agarose, 1,5% agarose với 0,5X đệm TAE (Tris Acetate – EDTA). Nhỏ SYBR Safe DNA Gel Stain (theo tỷ lệ 5 µl/ 100ml thạch) vào thạch được đun sôi cho tan, xuống nhiệt độ khoảng 60°C.

Trộn 8 µl sản phẩm PCR với 2 µl dd bromophenol blue.

Nhỏ thang chuẩn (marker) 4 µl vào lỗ đầu tiên của bản gel, sau đó cho 10 µl sản phẩm PCR đã trộn vào các lỗ tiếp theo trên bản thạch.

Chạy điện di: 100V/45 phút

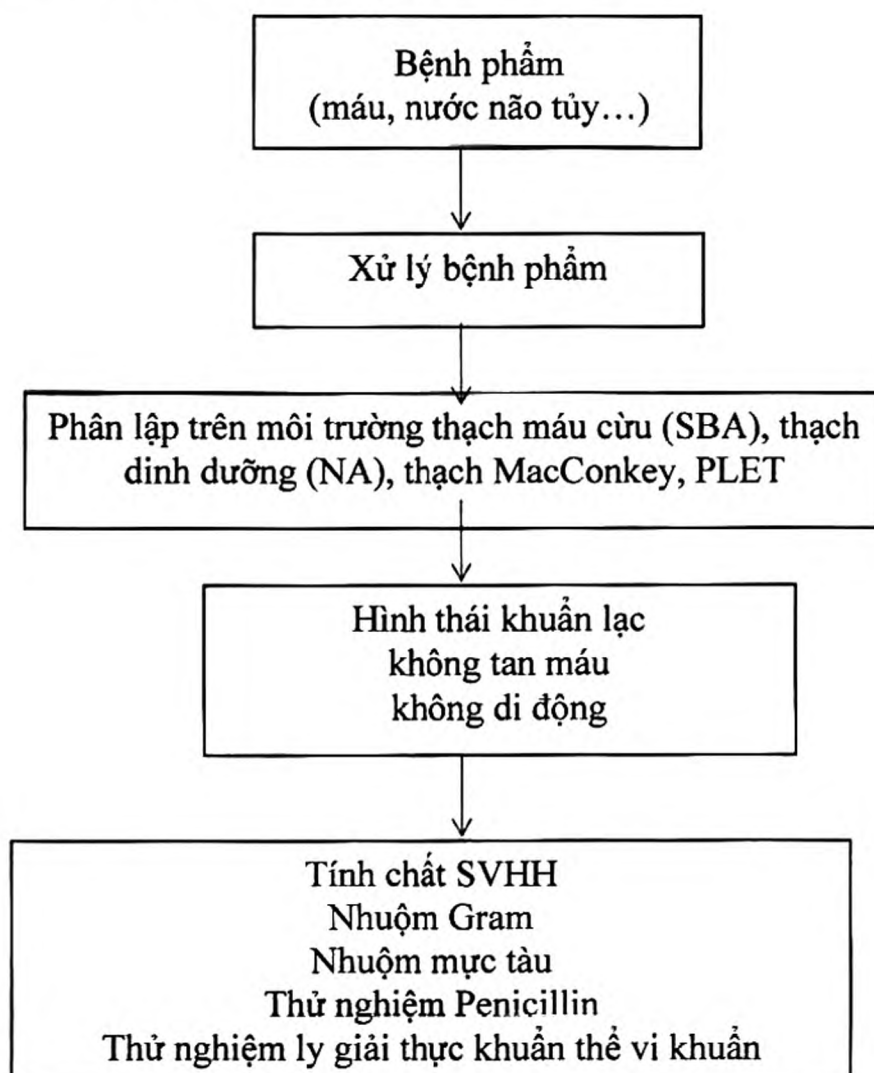
Quan sát và chụp ảnh bằng đèn đọc UV trên máy GelDoc: Gen cap (846 bp) và pag (603bp).

Đọc kết quả

- Bệnh phẩm có kết quả PCR dương tính nếu có vạch đặc hiệu tương ứng với vạch của ống chứng dương. Kết luận: Có vi khuẩn *B. anthracis* trong mẫu bệnh phẩm.

- Bệnh phẩm có kết quả PCR âm tính nếu không có vạch đặc hiệu tương ứng với vạch đặc hiệu của ống chứng dương. Kết luận: Không tìm thấy vi khuẩn *B. anthracis* trong mẫu bệnh phẩm.

3. Sơ đồ tóm tắt qui trình xét nghiệm bệnh than



Đọc kết quả và báo cáo kết quả

Hình thái và kích thước khuẩn lạc: trên môi trường thạch máu khuẩn lạc có kích thước 2-5mm, bằng phẳng hoặc lồi nhẹ, bờ không đều, kiểu lượn song. Thường có hình dấu phẩy sinh ra mép khuẩn lạc tạo thành dáng đầu “Medusa”

Tính chất khuẩn lạc thường dai, khó lấy, nhúng que cấy vào khuẩn lạc có hiện tượng giống như nhúng vào lòng trắng trứng, khác với khuẩn lạc của *B.cereus* và *B.thuringiensis*. Trục khuẩn than không làm tan máu kiểu beta (khác với *B.cereus*)

So sánh với các chứng khuẩn (tham khảo bảng sau):

Các tính chất	<i>B.anthraxis</i>	<i>B.cereus</i>
Di động	không	có
Voges-Proskauer (VP)	Dương	Dương

Lên men đường		
Glucose	Sinh axit, không hơi	Sinh axit, không hơi
Maltose	Sinh axit, không hơi	Sinh axit, không hơi
Sucrose	Sinh axit, không hơi	Sinh axit, không hơi
Arabinose	Âm tính	Âm tính
Mannitol	Âm tính	Âm tính
Xylose	Âm tính	Âm tính
Salicin	Thường âm tính hoặc chậm	Thường dương tính trong vòng 24 giờ

Báo cáo: chuẩn đoán xác định *B.anthraxis*, yêu cầu xét nghiệm thêm bằng phương pháp sinh học phân tử (nếu cần) hoặc gây thực nghiệm trên động vật để đánh giá độc lực của vi khuẩn phân lập được.