

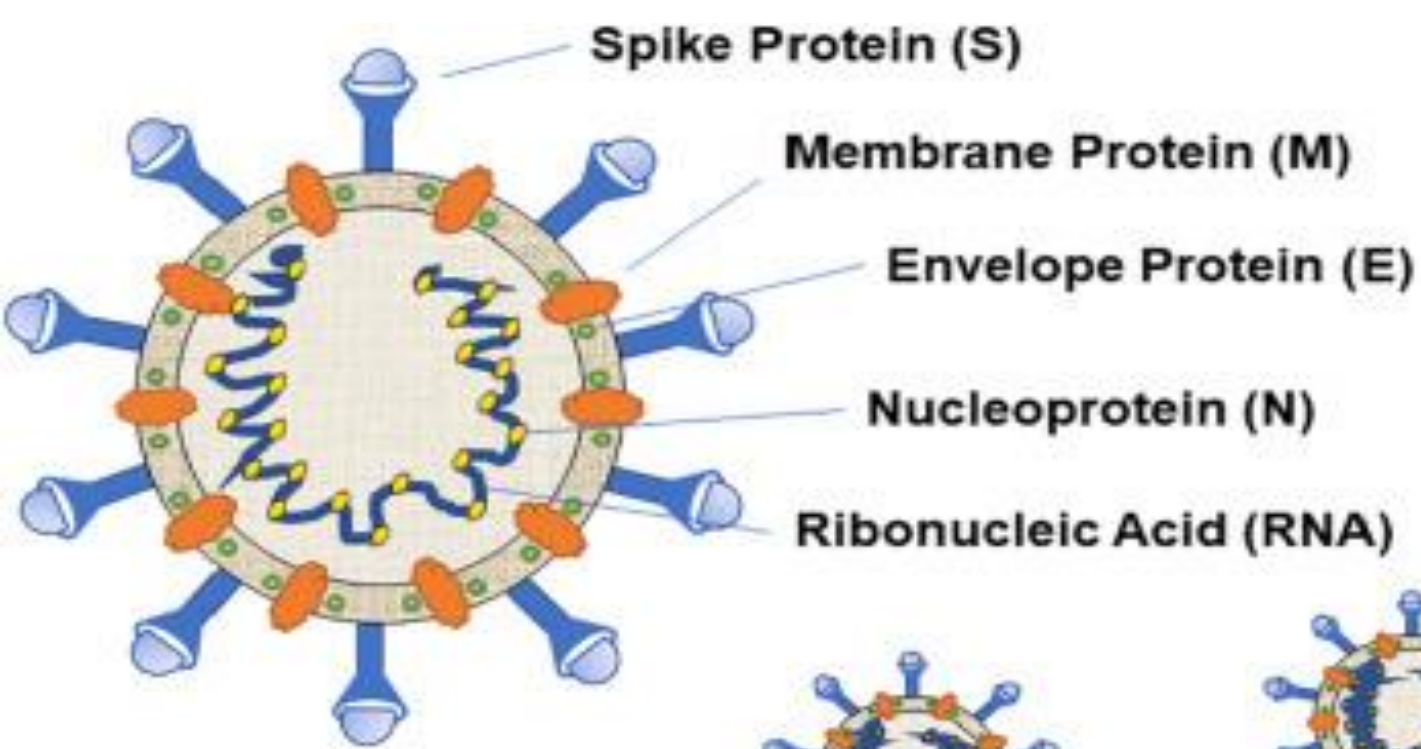


**CẬP NHẬT TÌNH HÌNH COVID- XÉT NGHIỆM
CHẨN ĐOÁN SARS-COV-2**

MỤC TIÊU

1. Liệt kê được loại mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm SARS-CoV-2
2. Kể tên 1 số kỹ thuật chẩn đoán SARS- CoV- 2
3. Nhận định được kết quả của 1 số tình huống giả định.

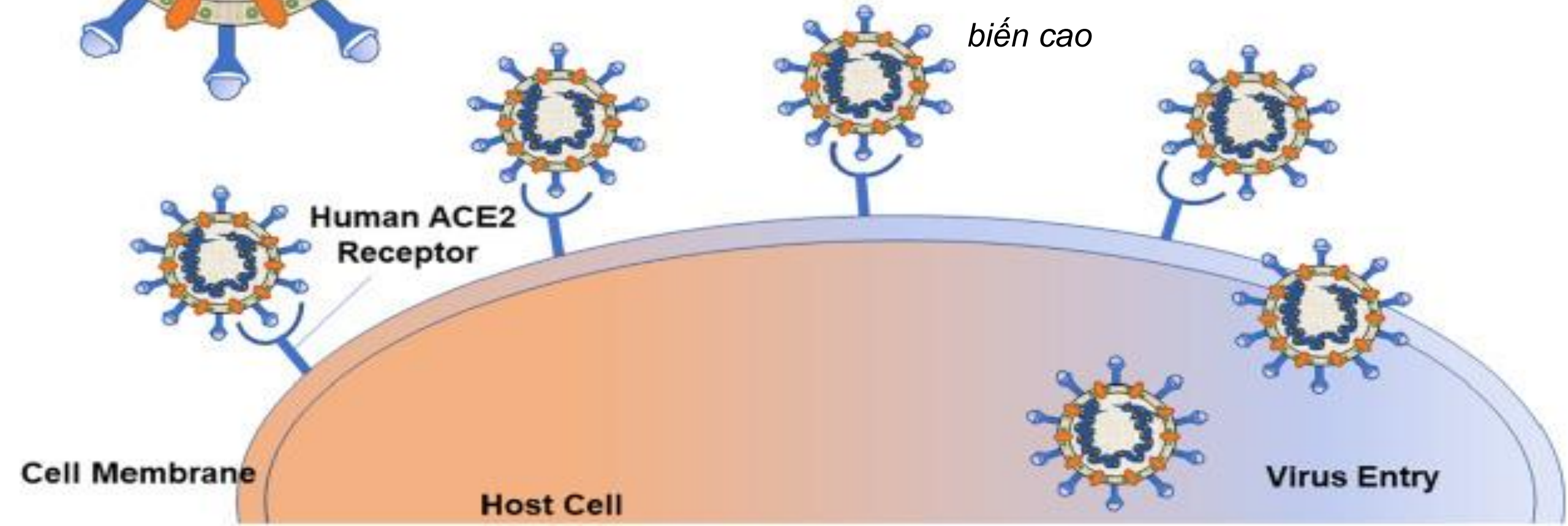
1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA SARS-CoV-2



- Cầu, ĐK 125nm; 4 protein cấu trúc: gai, màng, vỏ và nucleocapsid

- Thay đổi protein gai dẫn đến thay đổi khả năng lây truyền hay mức độ nghiêm trọng của bệnh

- Khi lây nhiễm nhiều có khả năng đột biến cao



2. CÁC LOẠI BỆNH PHẨM CHẨN ĐOÁN SARS- CoV -2

CHỈ ĐỊNH LẤY MẪU XÉT NGHIỆM

2.1. Ca bệnh nghi ngờ:

- Là người có ít nhất một trong các triệu chứng: **sốt; ho; đau họng; khó thở hoặc viêm phổi** và có một trong các yếu tố dịch tễ sau:

- Có tiền sử **đến/qua/đi/về từ quốc gia, vùng lãnh thổ có ghi nhận ca mắc COVID-19 lây truyền nội địa**, theo thông tin của Tổ chức Y tế thế giới trong vòng 14 ngày kể từ ngày nhập cảnh.

- Có tiền sử **đến/đi/về từ nơi có ổ dịch đang hoạt động** tại Việt Nam trong vòng 14 ngày trước khi khởi phát bệnh.

- Tiếp xúc gần với ca bệnh xác định hoặc ca bệnh nghi ngờ trong vòng 14 ngày trước khi khởi phát bệnh.

2.2. Ca bệnh xác định:

Là ca bệnh nghi ngờ hoặc bất cứ người nào có xét nghiệm dương tính với vi rút SARS- CoV-2 được thực hiện bởi các cơ sở xét nghiệm do Bộ Y tế cho phép khẳng định.

Bắt buộc tối thiểu 01 mẫu bệnh phẩm đường hô hấp:

- Bệnh phẩm đường hô hấp trên: **mẫu ngoáy dịch tỵ hầu**
- **Nếu không lấy được mẫu ngoáy dịch tỵ hầu, có thể lấy một trong các**

mẫu dưới đây:

- Bệnh phẩm đường hô hấp trên
 - Mẫu ngoáy dịch họng
 - Mẫu ngoáy dịch mũi (cả hai bên), áp dụng cho người có triệu chứng
 - Dịch rửa mũi/tỵ hầu;
 - Dịch súc họng
- Bệnh phẩm đường hô hấp dưới
 - Đờm
 - Dịch phế nang, dịch nội khí quản, dịch màng phổi
 - Tổ chức phổi, phế quản, phế nang

Yêu cầu về loại mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm sinh học phân tử chẩn đoán COVID-19 Quyết định số 1619/QĐ-BYT ban hành ngày 09/04/2020

Các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng mẫu



- Thời gian thu thập mẫu



- Dụng cụ và Kỹ thuật lấy mẫu



- Bảo quản (Nhiệt độ và thời gian)
- Vận chuyển

THỜI KỲ Ủ BỆNH

Khoảng thời gian ủ bệnh

2-14 ngày

Thời gian ủ bệnh trung bình

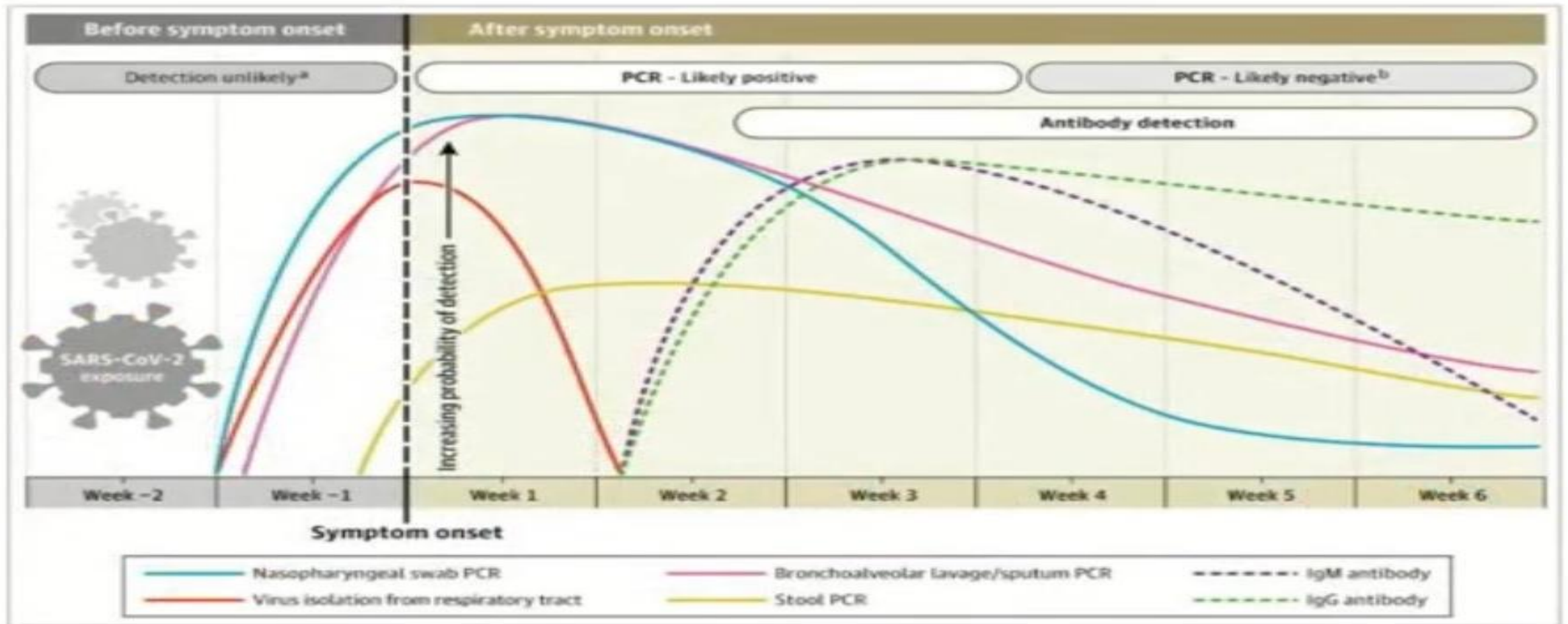
5-7

Đã có 1 số báo cáo thời kỳ ủ bệnh có thể là

27 ngày

3. CÁC KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM CHẨN ĐOÁN COVID- 19

DIỄN TIẾN CÁC XÉT NGHIỆM SARS-CoV-2



- Phát hiện đáp ứng miễn dịch với virus

- IgM: kháng thể đầu tiên. Không kéo dài
- IgG: xuất hiện sau đó. Kéo dài lâu hơn.
- Total Antibodies: Tất cả các kháng thể: IgM, IgG, IgA v.v.

Giải trình tự gen

- XĐ trình tự bộ gen
- KĐ và mô tả đặc điểm VR
- Nghiên cứu

XN khuếch đại a.nucleic

(RT- PCR, PCR- LAM)

- Phát hiện vật chất DT của VR
- Sàng lọc or KĐ Covid 19

Nuôi cấy VR

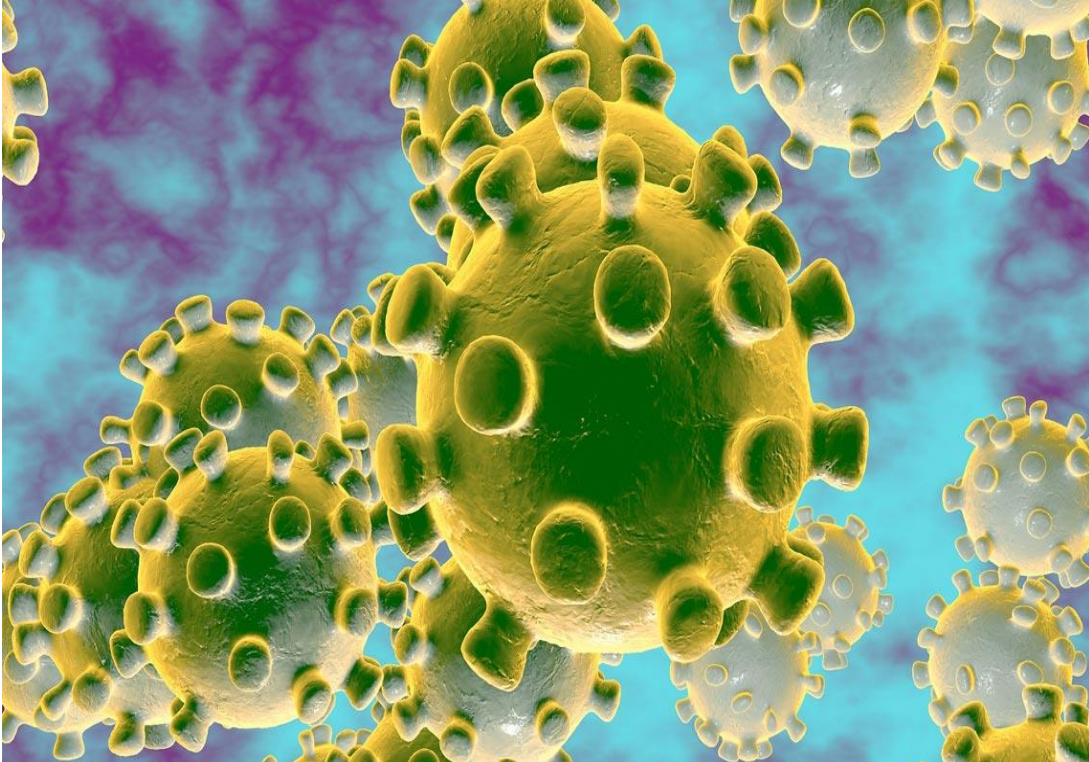
Phòng ATSH cấp 3;

- Phát hiện VR sống
- Nghiên cứu

XN miễn dịch

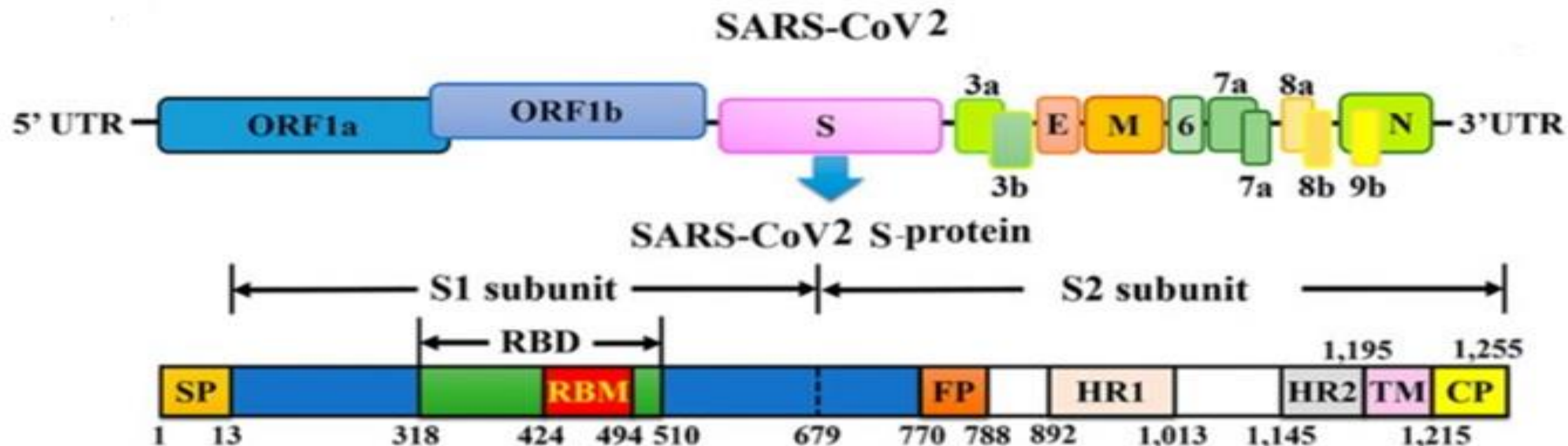
- XĐ kháng nguyên
- Phát hiện kháng thể kháng VR

3.1. NUÔI CÂY VIRUS



Mẫu covid 19 nuôi cấy thành công được sử dụng làm mẫu chuẩn trong sản xuất các bộ sinh phẩm chẩn đoán, nghiên cứu vaccine, dược phẩm

3.2. Giải trình tự gen



Khẳng định và xác định đặc điểm virus

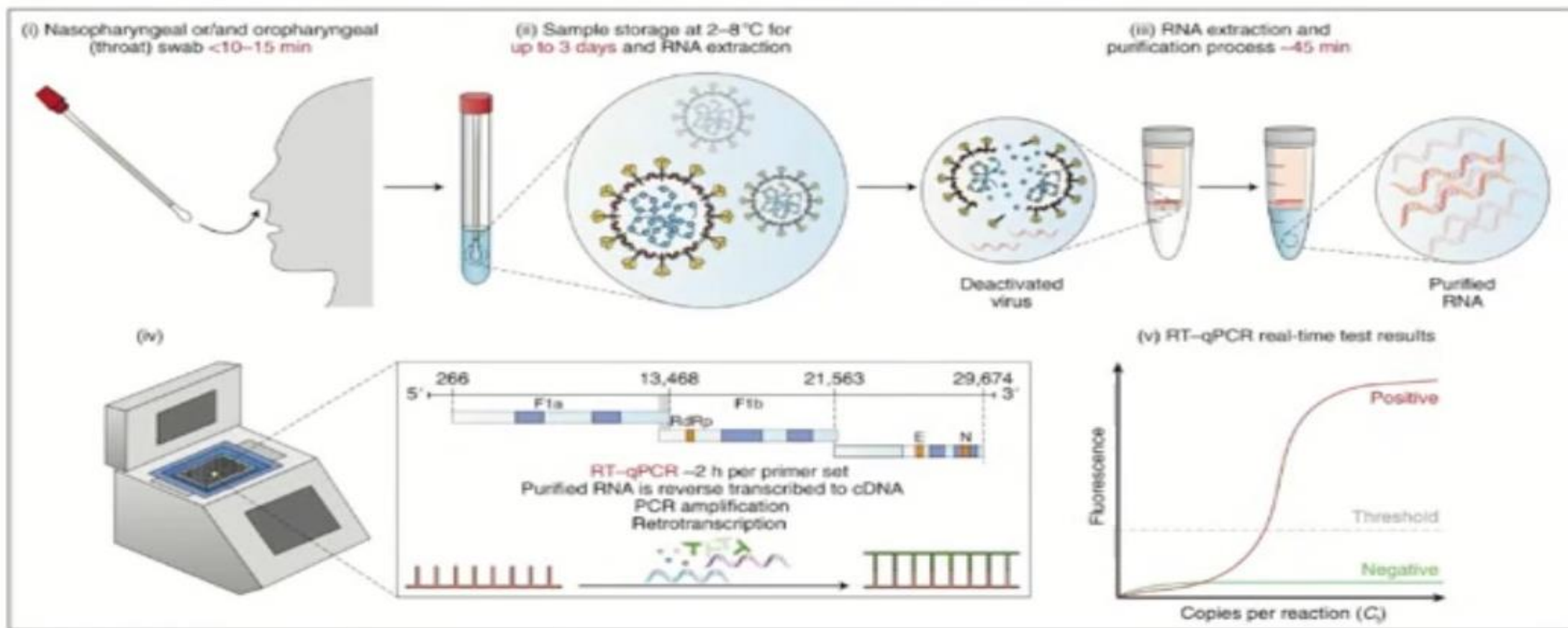
Giám sát về mặt virus học, theo dõi/ phát hiện các dòng đột biến mới và quá trình tiến hóa của virus.

Truy vết ổ dịch, các khu vực có dịch để áp dụng các biện pháp can thiệp

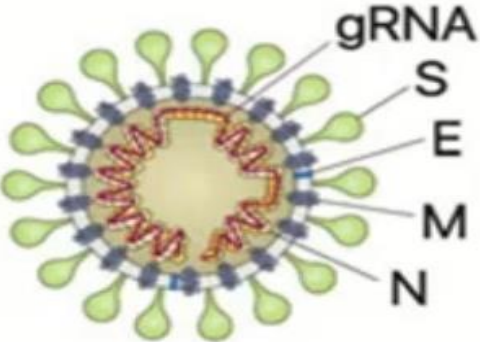
XÉT NGHIỆM REAL TIME RT- PCR

RT-PCR = **R**everse **T**ranscriptase **P**olymerase **C**hain **R**eaction
(**P**hản ứng **C**huỗi **P**olymerase **S**ao chép **N**gược)

Phát hiện vật liệu di truyền SARS-CoV-2 trong mẫu bệnh phẩm, cho thấy rằng người đó bị nhiễm vi rút. Là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán



PRIMER



SARS-CoV-2



RdRP gene

E gene

N gene

RNA sao chép

F Primer

GTGARATGGTCATGTGT
GGCGG

ACAGGTACGTTAATA
GTTAATAGCGT

CACATTGGCACC
CGCAATC

R primer

CARATGTAAASACACTATT
AGCATA

ATATTGCAGCAGTACG
CACACA

GAGGAACGAG
AAGAGGCTTG

Probe

FAM-
CAGGTGGAACCTCATCAGG
AGATGC-BBQ

FAM-
ACACTAGCCATCCTTAC
TGCGCTTCG-BBQ

FAM-
ACTTCCTCAAGGAACA
ACATTGCCA-BBQ

RT- PCR

Quy trình	Gene đích
Đức-Charite Berlin	E, RdRp (không còn khuyến cáo)
US-CDC	N1, N2
Việt Nam (Việt Á)	N
Thái Lan	N
Nhật	E, N, RdRp, S
Hồng Kong	ORF1b, N
Pháp	RdRp
China-CDC	ORF1ab, N

- QĐ 4383/BYT ngày 28/5/2021 về danh sách sinh phẩm được cấp phép
- **Mỗi PXN cần thẩm định phương pháp trước khi sử dụng**

RT- PCR gộp mẫu (pool)

- Xét nghiệm gộp mẫu (pool) là gộp mẫu của nhiều người vào với nhau
- Có 3 cách gộp mẫu:

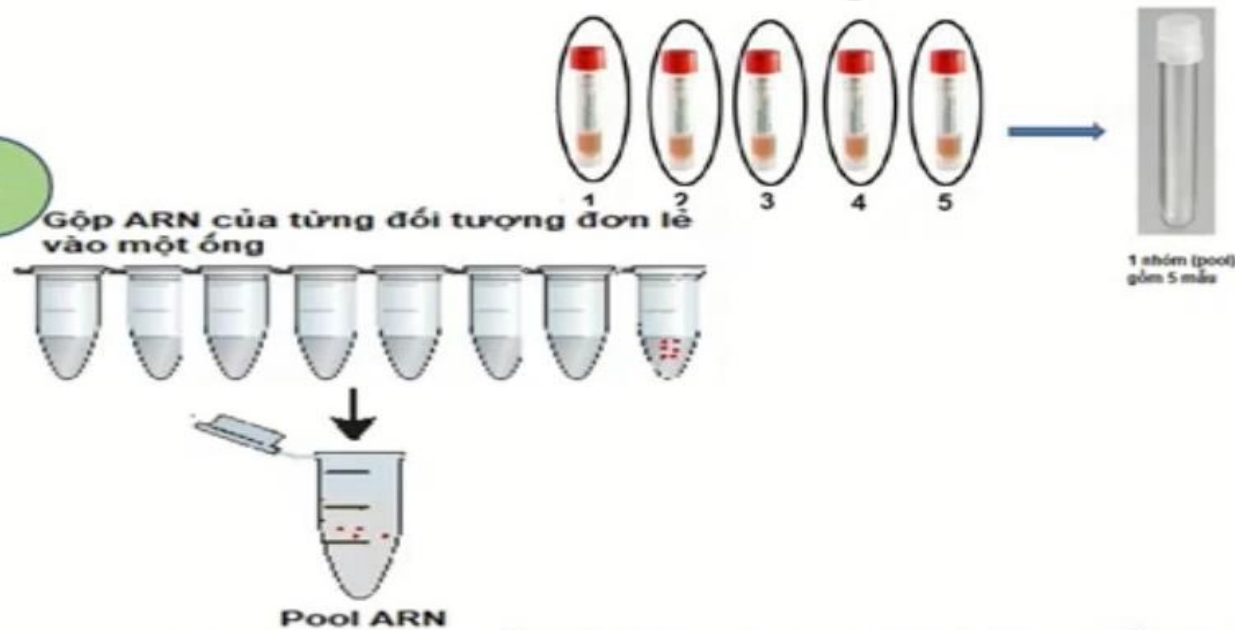
1 Gộp mẫu từ việc hút một lượng mẫu nhất định từ ống môi trường (VTM/UTM) có chứa que lấy mẫu riêng lẻ của các đối tượng khác nhau cho vào một ống.



2

Gộp các que lấy mẫu riêng lẻ của các đối tượng khác nhau vào 1 ống có chứa môi trường vận chuyển

3



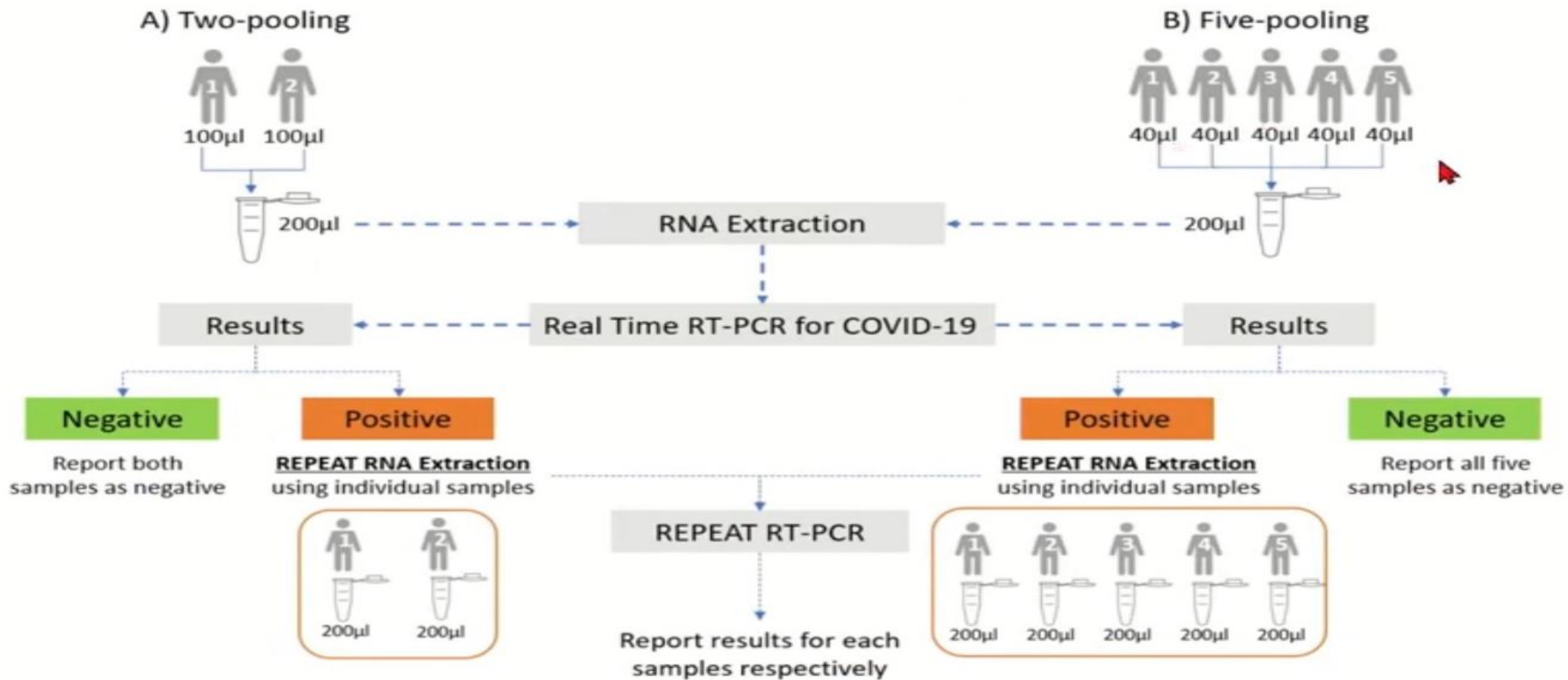
Lưu ý: Gộp mẫu chỉ áp dụng khi tỷ lệ mắc thấp, không áp dụng cho bệnh nhân đang điều trị COVID. các trường hợp khác theo QĐ 3486/BYT → 1817/QĐ-BYT: 27/4/2021

CHIẾN LƯỢC GỘP MẪU

Table 2: Comparison of Optimal Pool Size and Prevalence Rates on Test Efficiency^{15,18}

Prevalence (%)	Optimal pool size	Theoretical Ct shift (log₂(n))	Test number reduction (%)	Increase predicted in testing efficiency (%)
1	11	3.46	80	400
3	6	2.58	67	200
5	5	2.32	57	133
7	4	2.00	50	100
10	4	2.00	41	69
15	3	1.58	28	39

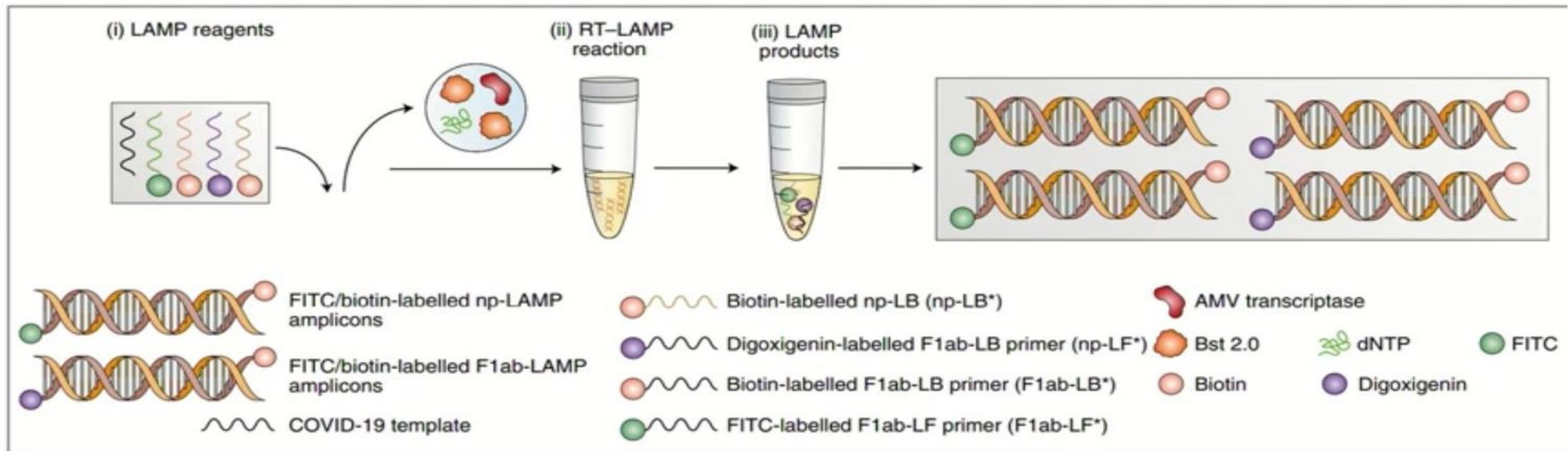
PHIÊN GIẢI KẾT QUẢ MẪU GỘP



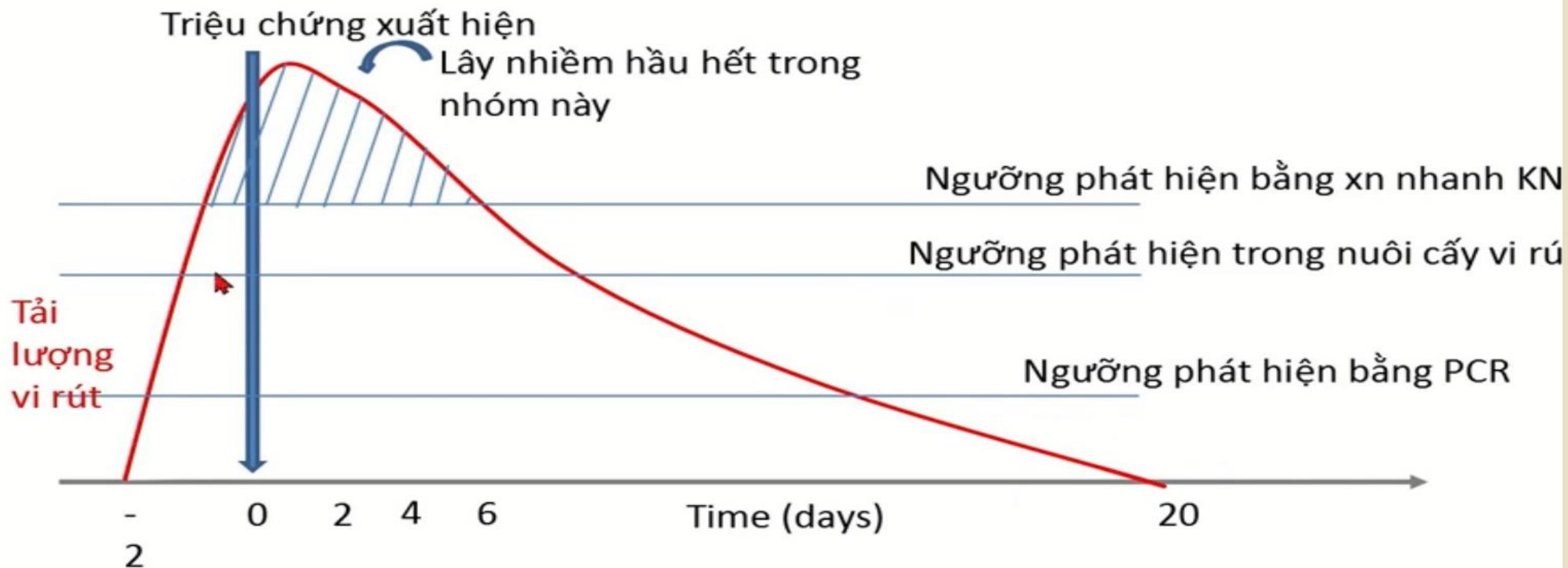
- ❖ Nghiên cứu ở Đức: gồm 9 bệnh nhân mắc COVID- 19 ở mức độ nhẹ đã cho thấy kết quả các mẫu bệnh phẩm lấy sau ngày thứ 8 (kể từ khi khởi phát triệu chứng) có kết quả dương tính real-time RT-PCR, nhưng khi nuôi cấy tế bào kết quả **ÂM TÍNH**
- ❖ Hàn Quốc đã báo cáo 447 trường hợp tái dương tính (15/5/2020).
 - Các bệnh nhân đã được xét nghiệm lại do có triệu chứng nhẹ (37,5%) hoặc sàng lọc (59.6%).
 - Đã tiến hành điều tra trên 286 (63.8%) bệnh nhân → không có trường hợp thứ phát nào được xác định
 - Nuôi cấy vi rút được thực hiện trên 108 bệnh nhân liên tiếp → tất cả kết quả nuôi cấy đều **ÂM TÍNH**

KỸ THUẬT PCR - LAMP

- Khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng lặp RT (RT – LAMP) RT – LAMP dựa trên công nghệ nano.
- Các xét nghiệm dựa trên LAMP được phát hiện bằng mức độ đục hoặc bằng phương pháp so màu hoặc huỳnh quang

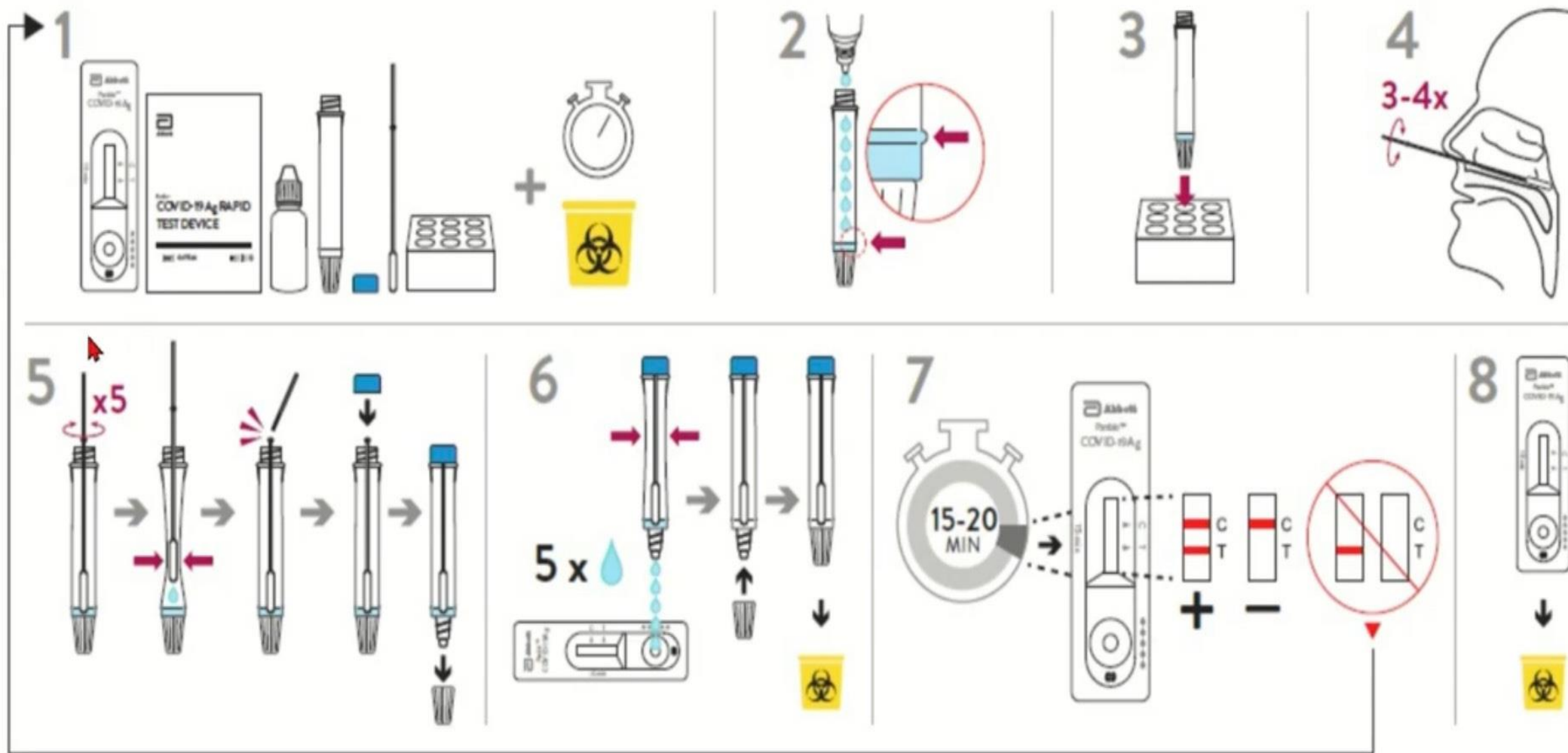


XÉT NGHIỆM KHÁNG NGUYÊN CỦA SARS- CoV-2



QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM

Test Procedure: Nasopharyngeal



Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays

Interim guidance

11 September 2020



<https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2infection-using-rapid-immunoassays>

Khi nào?

- Không có test PCR hoặc kết quả PCR quá lâu, chậm đáp ứng nhu cầu lâm sàng
- Trong vòng **5-7 ngày** sau khi khởi phát
- **Tests có độ nhạy $\geq 80\%$ và độ đặc hiệu $\geq 97\%$**



Cho mục đích gì?

- Ứng phó với **những ổ dịch nghi ngờ**, sàng lọc người có nguy cơ nhiễm bệnh
- Hỗ trợ **điều tra ổ dịch**, các môi trường khép kín, khi có sự lây truyền COVID-19 được khẳng định bằng PCR
- XN tại các khu vực có sự **lây truyền rộng rãi** để phát hiện sớm và áp dụng cách ly



**PGS TS BS.
NGUYỄN THỊ BĂNG SƯƠNG**

Trưởng Khoa Xét nghiệm
Bệnh viện Đại học Y Dược TPHCM

Đặt câu hỏi:

Truy cập: www.slido.com

#UMC

hoặc



- Nhiều điều chưa biết về đáp ứng miễn dịch với SARS-CoV-2 của người nhiễm vi rút
- Các nghiên cứu vẫn đang trong giai đoạn thực hiện.
- Không dùng cho mục đích sàng lọc và chẩn đoán xác định nhiễm SARS-CoV-2.
- đánh giá khả năng bảo vệ chống lại sự phơi nhiễm vi rút lần tiếp theo và/ hoặc cho các mục đích truy tìm tiếp xúc
- Theo dõi hiệu quả của vaccine



UNIVERSITY MEDICAL CENTER



c: Phòng Khoa học và Đào tạo và Ban đào tạo khám và điều trị COVID-19

Đơn vị t

XÉT NGHIỆM KHÁNG THỂ

- Nhiều điều chưa biết về sự đáp ứng với SARS – CoV -2 của người nhiễm virus
- Không dùng sàng lọc và chẩn đoán xác định
- Đánh giá khả năng bảo vệ chống lại sự phơi nhiễm VR lần tiếp theo và hoặc cho các mục đích truy vết tìm tiếp xúc
- Theo dõi hiệu quả của vaccine

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM				BIỆN GIẢI KẾT QUẢ**
RNA	Antigen	IgM	IgG	
+	-	-	-	Bệnh nhân có thể đang trong thời kỳ đầu của nhiễm khi kháng nguyên hoặc kháng thể dưới giới hạn phát hiện hoặc chưa được tạo ra
+	+	-	-	Bệnh nhân có thể đang trong thời kỳ đầu của nhiễm khi kháng thể chưa được tạo ra hoặc dưới giới hạn phát hiện
+	+	+	-	Bệnh nhân đang trong giai đoạn nhiễm hoạt động và đã bắt đầu phát triển phản ứng miễn dịch với sản xuất kháng thể IgM
-	+	+	-	Bệnh nhân có thể đang ở giai đoạn đầu của nhiễm. Kết quả RNA có thể âm tính giả hoặc IgM dương tính giả
-	+	+	+	Bệnh nhân có thể đang ở giai đoạn đầu của nhiễm. Kết quả RNA có thể là âm tính giả
+	+	+	+	Bệnh nhân vẫn đang trong giai đoạn nhiễm hoạt động; phản ứng miễn dịch đã tiến triển
+	+	-	+	Bệnh nhân có thể đang ở giai đoạn muộn của nhiễm hoặc đã phát triển nhiễm tái phát (rất hiếm)
-	-	+	+	Bệnh nhân có thể đang ở giai đoạn muộn hoặc đang hồi phục của nhiễm hoặc RNA âm tính giả
-	-	-	+	Bệnh nhân có thể đã khỏi bệnh hoặc đã từng bị nhiễm trong quá khứ

**Kết quả xét nghiệm phải được xem xét với các dữ liệu lâm sàng khác sẵn có ở bác sĩ lâm sàng.

Phương pháp xét nghiệm

Xét nghiệm sinh học phân tử

Phát hiện vật chất di truyền của vi rút



Xét nghiệm kháng thể

Phát hiện kháng thể.
Hình chữ Y được tạo ra do việc đáp ứng miễn dịch để vô hiệu hóa vi rút hoặc đánh dấu là đã tiêu diệt vi rút



Xét nghiệm kháng nguyên

Phát hiện kháng nguyên: một số mảnh của vi rút mà hệ thống miễn dịch phát hiện ra. Một con vi rút thì có rất nhiều kháng nguyên



Mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm đường hô hấp



Mẫu máu

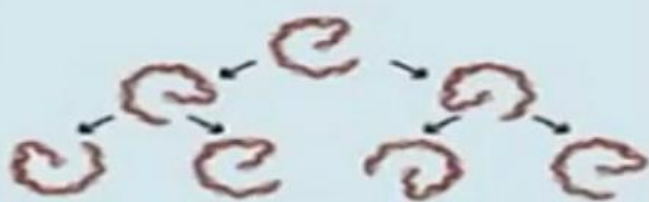


Mẫu bệnh phẩm đường hô hấp

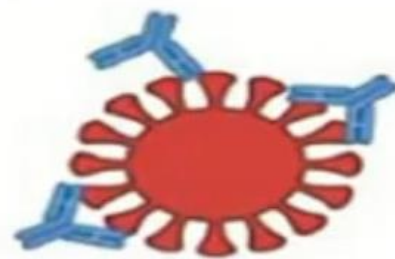


Phát hiện

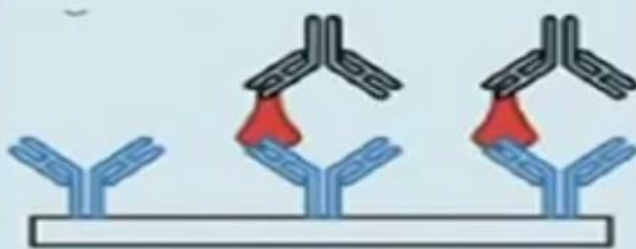
ARN (vật chất di truyền của vi rút)



Kháng thể kháng lại vi rút



Kháng nguyên của vi rút




RT- PCR là xét nghiệm sàng lọc và khẳng định trong chẩn đoán thường quy

Nuôi cấy và giải trình tự gen: sử dụng cho mục đích nghiên cứu và sản xuất vaccin

Xét nghiệm phát hiện kháng nguyên: ngày càng hoàn thiện và hữu ích cho thực tiễn lâm sàng

Xét nghiệm kháng thể : không sử dụng cho mục đích sàng lọc và chẩn đoán xác định nhiễm SARS- CoV -2, có tác dụng hỗ trợ chẩn đoán và đánh giá dịch tễ học



XIN CẢM ƠN SỰ LẮNG NGHE !

Photo by Sonlam Nguyen.