

SO SÁNH CÁC BỆNH PHẨM SỬ DỤNG CHO XÉT NGHIỆM SARS-COV-2 BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME RT-PCR

TS. HOÀNG XUÂN SỬ, TS. ĐINH THỊ THU HẰNG,
ThS. NGÔ QUÝ LÂM, PGS.TS. HỒ ANH SƠN

Học viện Quân y

Thẩm định khoa học: GS.TS. NGUYỄN LĨNH TOÀN

TÓM TẮT: Đến giữa tháng 4/2020, đại dịch COVID-19 gây ra do SARS-CoV-2 đã làm hàng triệu người mắc, hàng trăm ngàn người tử vong tại hơn 200 quốc gia, vùng lãnh thổ trên khắp thế giới. COVID-19 hiện vẫn chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, chưa có vắc xin phòng bệnh và biện pháp can thiệp chủ yếu là điều trị hỗ trợ và điều trị triệu chứng. Theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị COVID-19 (Bộ Y tế ban hành ngày 23/3/2020), tất cả các cơ sở y tế cần tiến hành sàng lọc, phân loại và cách ly ngay khi phát hiện ca bệnh nghi ngờ hoặc xác định mắc COVID-19; các trường hợp bệnh nghi ngờ cần được làm xét nghiệm khẳng định căn nguyên. Các loại bệnh phẩm sử dụng cho xét nghiệm SARS-CoV-2 có thể là dịch đường hô hấp trên (dịch họng, dịch tỵ hầu), dịch đường hô hấp dưới (đờm, dịch hút phế quản, dịch rửa phế nang), máu hoặc phân. Chúng tôi giới thiệu kết quả một số nghiên cứu đã được công bố về các loại bệnh phẩm sử dụng cho xét nghiệm SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật real-time RT-PCR.

Từ khóa: COVID-19, bệnh phẩm, kỹ thuật real-time RT-PCR.

ABSTRACT: Since the first outbreak of COVID-19 in Wuhan, China until mid-April 2020, there were millions of people infected with SARS COV-2 and thousands of deaths have been reported in more 200 other countries and territories around the world. There are still no specific antivirals and effective vaccines for prevention of SARS-CoV-2 infection. The main therapeutic interventions are supportive treatment. According to the Guideline for Diagnosis and Treatment of COVID-19 was released by the Ministry of Health on March 23, 2020), all suspected cases of COVID-19 should test for screening, classification and isolation as soon as a definitive case confirmed in healthcare institutions; Suspected cases must be tested to confirm SARS-CoV-2. Specimens used for SARS-CoV-2 test include upper respiratory tract (nasal swabs, pharyngeal swabs), lower respiratory tract (sputum, bronchoalveolar lavage fluid), blood or stool. We present and review the results of several published studies on the different types of clinical specimens used for detection of SARS-CoV-2 by real-time RT-PCR assay.

Keywords: COVID-19, specimen, real-time RT-PCR assay.

Chịu trách nhiệm nội dung: TS. Hoàng Xuân Sử, Email: hoangxuansu@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10/4/2020; mời thẩm định khoa học: 16/4/2020; chấp nhận đăng: 20/4/2020.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ.

Đến giữa tháng 4/2020, đại dịch viêm đường hô hấp cấp do SARS-CoV-2 (COVID-19) đã làm hàng triệu người mắc, hàng ngàn người tử vong tại hơn 200 quốc gia, vùng lãnh thổ trên khắp thế giới. Với biểu hiện lâm sàng đa dạng, từ nhiễm virus không có triệu chứng, viêm đường hô hấp trên, tới những biểu hiện bệnh lý nặng như viêm phổi, suy hô hấp, sốc nhiễm trùng..., bệnh nhân (BN) COVID-19 có thể suy chức năng đa cơ quan và dẫn đến tử vong, đặc biệt ở những người cao tuổi, người có bệnh mạn tính hay suy giảm miễn dịch. COVID-19 hiện vẫn chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, chưa có vắc xin phòng bệnh và biện pháp can thiệp chủ yếu là điều trị hỗ trợ và điều trị triệu chứng. Các biện pháp phòng bệnh chính được thống nhất là phát hiện sớm và quản lý cách ly ca bệnh.

Theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị COVID-19 (ban hành kèm theo Quyết định số 1344/QĐ-BYT, ngày 23/3/2020 của Bộ Y tế) [1], chẩn đoán xác định ca bệnh COVID-19 khi những trường hợp bệnh nghi ngờ hoặc bất cứ người nào có xét nghiệm dương

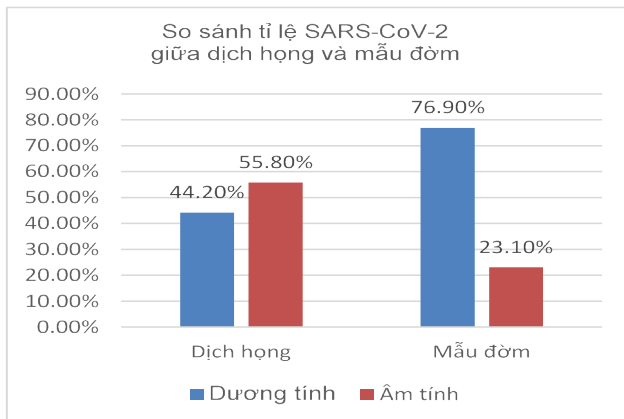
tính với virus SARS-CoV-2, được thực hiện bởi các cơ sở xét nghiệm do Bộ Y tế cho phép khẳng định. Cũng theo hướng dẫn này, việc điều tra, giám sát, xét nghiệm và báo cáo ca bệnh được chỉ rõ: tất cả các cơ sở y tế cần tiến hành sàng lọc, phân loại và cách ly ngay khi phát hiện ca bệnh nghi ngờ hoặc xác định mắc COVID-19; các trường hợp bệnh nghi ngờ cần được làm xét nghiệm khẳng định căn nguyên. Nhanh chóng lấy bệnh phẩm và gửi làm xét nghiệm xác định SARS-CoV-2 càng sớm càng tốt từ các ca bệnh trên, lấy dịch đường hô hấp trên (dịch mũi họng, dịch tỵ hầu) và khi mẫu bệnh phẩm dịch đường hô hấp trên âm tính nhưng vẫn nghi ngờ về lâm sàng, cần lấy dịch đường hô hấp dưới (đờm, dịch hút nội khí quản, dịch rửa phế quản). Nếu người bệnh thở máy, có thể chỉ cần lấy dịch đường hô hấp dưới; trong trường hợp cần thiết và nghi ngờ, có thể lấy máu và mẫu phân. Trường hợp xác định mắc COVID-19, cần lấy mẫu bệnh phẩm dịch hô hấp và xét nghiệm nhắc lại với khoảng cách mỗi 2-4 ngày hoặc ngắn hơn (nếu cần thiết) cho tới khi kết quả âm tính. Những trường hợp bệnh nghi ngờ, kể cả ở những trường hợp đã xác định được

tác nhân thông thường khác, cần làm xét nghiệm khẳng định để xác định SARS-CoV-2 ít nhất một lần... Như vậy, các loại bệnh phẩm sử dụng cho xét nghiệm SARS-CoV-2 được Bộ Y tế xác định có thể là dịch đường hô hấp trên (dịch mũi họng, dịch tỵ hầu), dịch đường hô hấp dưới (đờm, dịch hút nội khí quản, dịch rửa phế quản), máu hoặc phân.

Chúng tôi giới thiệu và tóm tắt kết quả một số nghiên cứu đã được công bố về các loại bệnh phẩm sử dụng cho xét nghiệm SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật real-time RT-PCR.

2. MỘT SỐ NGHIÊN CỨU SO SÁNH LOẠI BỆNH PHẨM SỬ DỤNG XÉT NGHIỆM SARS-COV-2 BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME RT-PCR.

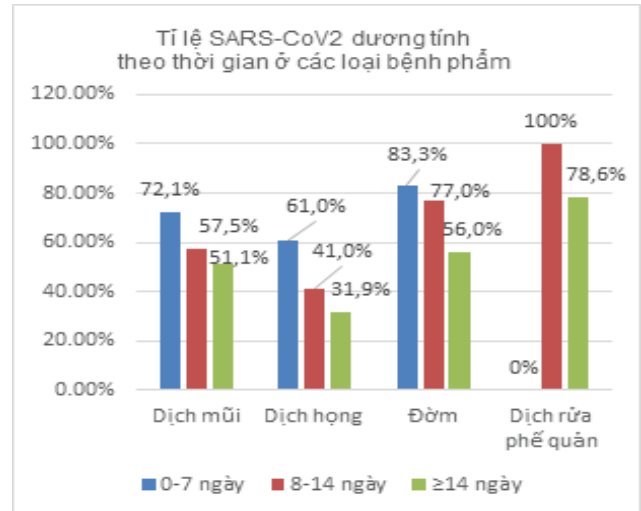
- **Nghiên cứu của Chenyao Lin và cộng sự (Bệnh viện Trung Nam, Đại học Vũ Hán, Trung Quốc) công bố trên trang "MedRxiv.org", ngày 21/2/2020 [2]:** Nghiên cứu thực hiện trên 52 BN nhiễm SARS-CoV-2, so sánh 2 loại bệnh phẩm là dịch họng và mẫu đờm, sử dụng xét nghiệm chẩn đoán nhiễm SARS-CoV-2 cho thấy: tỉ lệ phát hiện SARS-CoV-2 dương tính ở bệnh phẩm đờm (76,9%) cao hơn so với bệnh phẩm dịch họng (44,2%). Trong đó, 51,9% BN có kết quả dương tính hoặc ở trong mẫu dịch họng hoặc trong mẫu đờm; 36,5% BN có kết quả dương tính cả trong mẫu dịch họng và mẫu đờm; 15,4% BN có kết quả âm tính cả trong mẫu dịch họng và mẫu đờm. Tuy nhiên, 40,1% BN có kết quả dương tính trong mẫu đờm nhưng âm tính trong mẫu dịch họng và chỉ có 7,7% BN âm tính trong mẫu đờm nhưng dương tính trong mẫu dịch họng (biểu đồ 1).



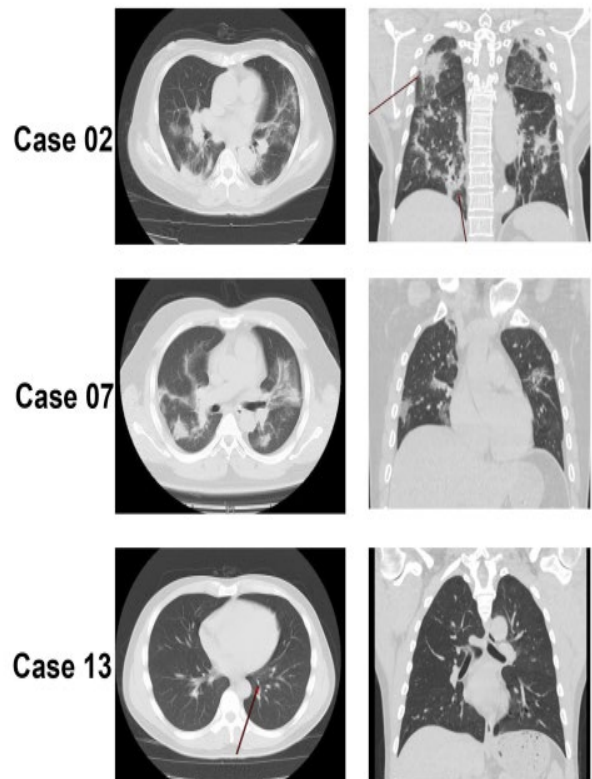
Biểu đồ 1. Tỉ lệ SARS-CoV-2 trong dịch họng và đờm.

- **Nghiên cứu của Yang Yang và cộng sự (Viện Paster Thượng Hải, Viện Hàn lâm khoa học Trung Quốc), công bố trên trang "MedRxiv.org", ngày 11/02/2020 [3]:** Nghiên cứu thực hiện trên 213 BN COVID-19 tại tỉnh Quảng Đông, đánh giá các loại bệnh phẩm khác nhau sử dụng xét nghiệm SARS-CoV-2, cho thấy tỉ lệ nhiễm cao nhất được phát hiện trong bệnh phẩm dịch rửa phế quản (100% trong bệnh phẩm thu thập từ 8-14 ngày và 78,6% bệnh phẩm thu thập sau ít nhất 14 ngày), tiếp theo bệnh phẩm đờm (83,3% trong bệnh phẩm

thu thập từ 0-7 ngày và 77,04% bệnh phẩm thu thập từ 8-14 ngày), dịch mũi (72,14% trong bệnh phẩm thu thập từ 0-7 ngày và 57,5% bệnh phẩm thu thập từ 8-14 ngày) và cuối cùng là dịch họng (61,05% bệnh phẩm thu thập từ 0-7 ngày và 41,2% bệnh phẩm thu thập từ 8-14 ngày). Như vậy, nghiên cứu chỉ ra tỉ lệ dương tính cao khi bệnh phẩm đường hô hấp trên được lấy trong 7 ngày đầu sau khi xuất hiện triệu chứng. Đáng chú ý, nghiên cứu cũng chỉ ra 3 BN có hình ảnh tổn thương điển hình viêm phổi trên CT.scan nhưng xét nghiệm âm tính với SARS-CoV-2 (biểu đồ 2 và hình 1)..



Biểu đồ 2. Tỉ lệ SARS-CoV2 dương tính theo thời gian ở các loại bệnh phẩm.



Hình 1. Hình ảnh CT.scan viêm phổi do SARS-CoV-2.

- **Nghiên cứu của Liang Peng và cộng sự (Bệnh viện Đại học Quảng Đông, Trung Quốc), ngày 21/02/2020 [5]:**

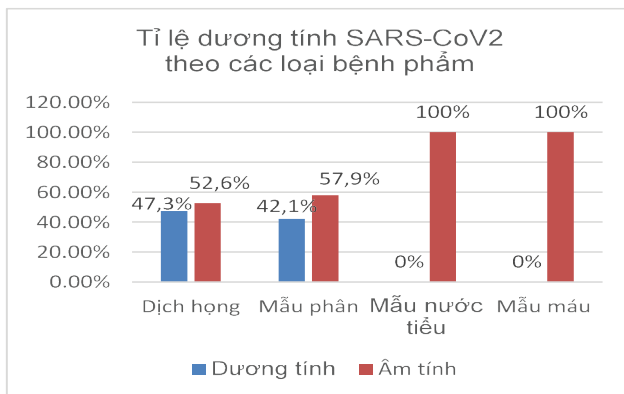
Nghiên cứu trên 9 BN khẳng định nhiễm SARS-CoV-2, cho thấy có thể phát hiện SARS-CoV-2 trong mẫu nước tiểu và mẫu dịch phết hậu môn (bảng dưới).

Bảng: Tải lượng SARS-CoV-2 trong các mẫu bệnh phẩm khác nhau.

qRT-PCR, copies/ml

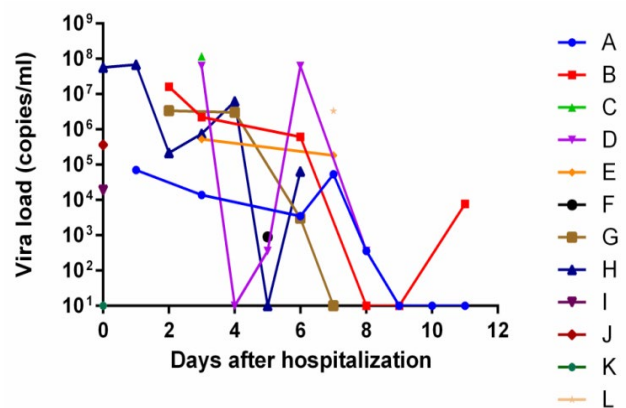
Oropharyngeal swab	ND	4.56E+02	2.41E+04	1.14E+04	ND	6.11E+03	6.77E+04	9.83E+03	2.29E+04	7(78%)
Blood	ND	ND	ND	8.04E+00	ND	ND	ND	9.11E-01	ND	2(22%)
Urine	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.22E+02	ND	ND	1(11%)
Anal swab	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.47E+02	5.42E+04	2(22%)

- **Nghiên cứu của Chunbao Xie và cộng sự (Bệnh viện Nhân dân tỉnh Tứ Xuyên, Trung Quốc), công bố trên tạp chí “International journal of Infectious Diseases”, ngày 22/02/2020 [4]:** Nghiên cứu trên 19 BN nghi nhiễm SARS-CoV-2, sử dụng các loại bệnh phẩm khác nhau cho thấy, tỉ lệ dương tính ở 47,36% trong mẫu dịch họng và 42,10% trong mẫu bệnh phẩm phân; không phát hiện SARS-CoV-2 trong mẫu nước tiểu và mẫu máu. Trong khi đó, tỉ lệ BN có hình ảnh viêm phổi trên CT-scan cao hơn so với kết quả xét nghiệm SARS-CoV-2 bằng kĩ thuật real-time RT-PCR. Nghiên cứu đề nghị kết hợp CT-scan trong chẩn đoán nhiễm SARS-CoV-2 ở các trường hợp nghi ngờ nhiễm khi kết quả ban đầu cho thấy xét nghiệm virus âm tính (biểu đồ 3).



Biểu đồ 3. Tỉ lệ dương tính SARS-CoV-2 theo các loại bệnh phẩm.

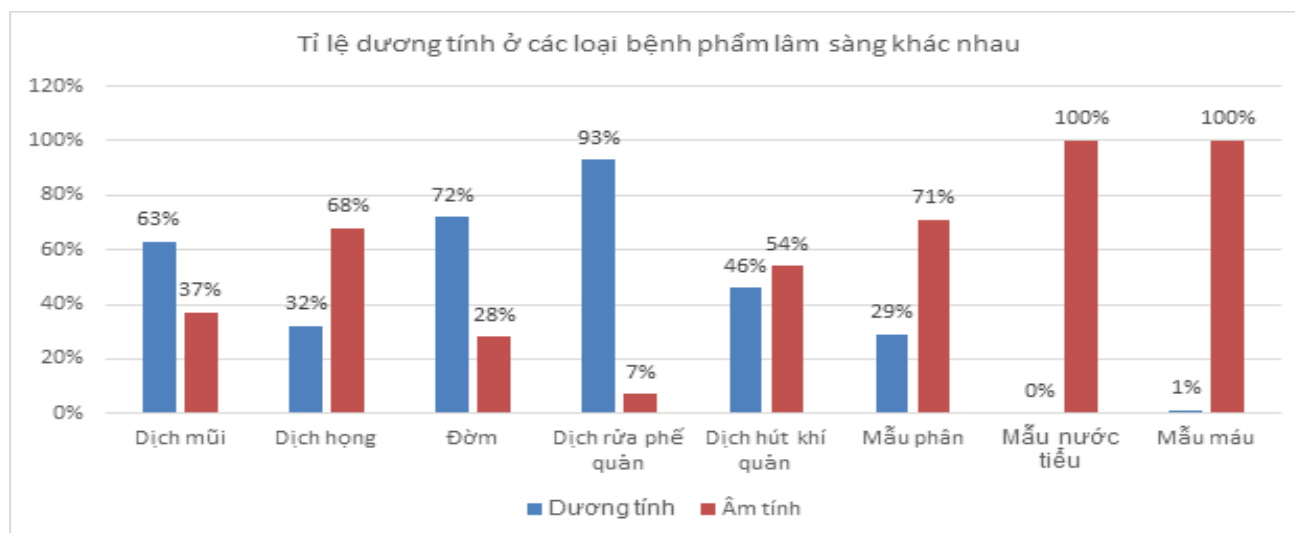
- **Nghiên cứu của Kelvin Kai-Wang To và cộng sự (Đại học Hồng Kông, Trung Quốc), công bố trên tạp chí “Clinical Infectious Diseases” ngày 12/02/2020 [6]:** Nghiên cứu trên 12 BN khẳng định nhiễm SARS-CoV-2, cho thấy có thể phát hiện được SARS-CoV-2 trong mẫu nước bọt ở 11/12 BN (91,7%), với tải lượng virus trung bình là $3,3 \times 10^6$ copies/ml (từ $9,9 \times 10^2$ đến $1,2 \times 10^8$ copies/ml) (biểu đồ 4).



Biểu đồ 4. Tải lượng SARS-CoV-2 trong mẫu nước bọt.

- **Nghiên cứu của Lê Thị Quỳnh Mai và cộng sự, công bố trên Tạp chí “Emerging Infectious Diseases” ngày 02/4/2020 [8]:** Nghiên cứu gần đây trên 12 BN nhiễm SARS-CoV-2 ở Việt Nam, sử dụng quy trình real-time RT-PCR của Tổ chức Y tế thế giới, cho thấy giá trị chu kì ngưỡng trung bình đối với gen E, RdRp và N lần lượt là 29,19; 33,03 và 30,97. Trong đó, chu kì ngưỡng thấp nhất là 23,0 và cao nhất là > 40,0 đối với gen E. Như vậy, ước tính tải lượng virus trung bình khoảng 10^4 copies/ml.

- **Nghiên cứu của Wenling Wang và cộng sự (Trung tâm Kiểm soát và dự phòng bệnh tật Bắc Kinh, Trung Quốc), công bố trên Tạp chí “JAMA” ngày 11/3/2020 [7]:** Nghiên cứu trên 205 BN xét nghiệm real-time RT-PCR bằng các loại bệnh phẩm khác nhau, cho thấy dịch rửa phế quản có tỉ lệ dương tính cao nhất (93%), tiếp đến mẫu đờm (72%), dịch mũi (63%), dịch hút khí quản (46%), dịch họng (32%), mẫu phân (29%), máu (1%) và nước tiểu (0%). Điểm đáng chú ý là giá trị chu kì ngưỡng trung bình (mean Cycle threshold) của các loại bệnh phẩm > 30 (tương ứng tải lượng virus < $2,6 \times 10^4$ copies/ml) ngoại trừ dịch mũi có giá trị chu kì ngưỡng 24,3 (tương ứng tải lượng virus $1,4 \times 10^6$ copies/ml), chỉ ra mẫu bệnh phẩm có tải lượng virus cao hơn (biểu đồ 5).



Biểu đồ 5. Tỉ lệ dương tính ở các loại bệnh phẩm lâm sàng khác nhau.

- Nghiên cứu của Roman Wölfel và cộng sự, công bố trên tạp chí "Nature" ngày 24/3/2020 [9]:

Nghiên cứu trên 9 BN, phân tích chi tiết sự nhân lên của SARS-CoV-2, cho thấy virus nhân lên ngay cả ở đường hô hấp trên, mặc dù thụ cảm thể của SARS-CoV-2 là ACE2 (có chủ yếu ở đường hô hấp dưới). Nghiên cứu cũng chỉ ra tải lượng virus cao trong tuần đầu sau khi khởi phát triệu chứng, tải lượng virus trung bình $6,76 \times 10^5$ copies/mẫu cho đến ngày thứ 5. Đối với mẫu bệnh phẩm lấy sau ngày thứ 5, tải lượng virus trung bình là $3,44 \times 10^5$ copies/mẫu và tỉ lệ phát hiện là 39,93%. Mẫu bệnh phẩm vẫn cho kết quả dương tính được lấy ở ngày 28 sau khởi phát triệu chứng. Điểm đáng chú ý tải lượng virus trong mẫu bệnh phẩm đờm là $7,00 \times 10^6$ copies/ml.

Xét nghiệm phát hiện SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật real-time RT-PCR đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán xác định ca bệnh, quản lý cách ly và theo dõi điều trị bệnh nhân COVID-19. Tuy nhiên các mẫu bệnh phẩm lâm sàng sử dụng cho xét nghiệm real-time RT-PCR có tỉ lệ dương tính khác nhau. Các kết quả nghiên cứu cho thấy mẫu bệnh phẩm đường hô hấp dưới như mẫu đờm và dịch rửa phế quản cho tỉ lệ dương tính cao nhất, tiếp đến là mẫu dịch mũi, dịch họng, mẫu phân và thấp nhất là mẫu máu và nước tiểu. Chính vì vậy cần lấy các loại bệnh phẩm khác nhau để cho kết quả xét nghiệm tốt nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Bộ Y tế (2020), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị viêm đường hô hấp cấp do SARS-CoV-2*, Ban hành kèm theo Quyết định số 1344/QĐ-BYT ngày 25/3/2020 của Bộ trưởng Bộ Y tế.
2. Comparison of throat swabs and sputum specimens for viral nucleic acid detection in 52 cases of novel coronavirus (SARS-CoV-2) infected pneumonia (COVID-19) | medRxiv [Internet]. [cited

2020 Mar 2]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.21.20026187v1>.

3. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections | medRxiv [Internet]. [cited 2020 Mar 2]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.11.20021493v2>.

4. Xie C, Jiang L, Huang G, Pu H, Gong B, Lin H, et al. Comparison of different samples for 2019 novel coronavirus detection by nucleic acid amplification tests. Int J Infect Dis [Internet]. 2020 Feb 27 [cited 2020 Mar 2];0(0). Available from: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(20\)30108-9/abstract](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(20)30108-9/abstract).

5. Peng L, Liu J, Xu W, Luo Q, Deng K, Lin B, et al. 2019 Novel Coronavirus can be detected in urine, blood, anal swabs and oropharyngeal swabs samples. medRxiv. 2020 Feb 25;2020.02.21.20026179.

6. To KK-W, Tsang OT-Y, Chik-Yan Yip C, Chan K-H, Wu T-C, Chan JMC, et al. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2020 Feb 12.

7. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. JAMA. 2020 Mar 11.

8. Le TQM, Takemura T, Moi ML, Nabeshima T, Nguyen LKH, Hoang VMP, et al. Early Release - Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Shedding by Travelers, Vietnam, 2020 - Volume 26, Number 7-July 2020 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. [cited 2020 Apr 12]; Available from: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-0591_article.

9. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. 2020 Apr 1. □