

khí làm chủ, háo chứng lâu ngày, phế hư không chủ được khí. Tỳ mất đi kiện vận, tích thấp sinh đàm. Thấp đàm lâu ngày hóa uất nhiệt hoặc phế hỏa mạnh, chưng dịch thành đàm, đàm giao trở ở phế dẫn tới chướng mãn, phế khí không tuyên thông, dẫn tới lưu chuyển khí bị rối loạn, không hạ giáng được dẫn đến hô hấp bị trở ngại mà thành Háo suyễn.

V. KẾT LUẬN

1. Tuổi trung bình của nghiên cứu là 64,86 ± 8,62 tuổi. Tỷ lệ nam cao hơn nữ (Nam: 86%, Nữ: 14%). Thời gian mắc bệnh trung bình 5,3 ± 1,39 (năm). Nghề nghiệp của người bệnh chủ yếu nhóm lao động chân tay. Có 88% người bệnh tiếp xúc với thuốc lá trên 10 năm, trong đó còn 10% còn hút thuốc. Tỷ lệ người bệnh tiếp xúc khói bếp 56%, tiếp xúc bụi nghề nghiệp 28%.

2. Người bệnh chủ yếu thuộc GOLD D chiếm tỷ lệ 82%. Mức độ ảnh hưởng trung bình – nặng lên chất lượng cuộc sống theo thang điểm CAT chiếm tỷ lệ cao nhất là 64%. Điểm khó thở mMRC trung bình là 1,86±0,40. Người bệnh chủ yếu có mạch trầm nhược 72%, chất lưỡi nhợt 58% và rêu lưỡi trắng nhớt 62%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Tạ Hữu Duy** (2011). Nghiên cứu áp dụng Bộ câu hỏi CAT đánh giá chất lượng cuộc sống Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính tại trung tâm hô hấp bệnh

viện Bạch Mai, Luận văn thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.

- Nguyễn Quang Đợi** (2019), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và một số yếu tố nguy cơ tắc động mạch phổi cấp ở bệnh nhân đợt cấp bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, Luận án tiến sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
- Nguyễn Thị Thu Hà** (2010). Kết quả sử dụng bộ câu hỏi CAT đánh giá tình trạng sức khỏe bệnh nhân mắc BPTNMT tại khoa lao và bệnh phổi bệnh viện 103. Luận văn thạc sĩ y học, Học viện Quân Y Hà Nội.
- Trương Thị Kim Nga** (2006). Nghiên cứu áp dụng bộ câu hỏi ST. GEORGE'S đánh giá chất lượng cuộc sống BPTNMT ở khoa hô hấp bệnh viện Bạch Mai. Luận văn tốt nghiệp bác sĩ chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội.
- Nguyễn Thanh Thủy** (2020), Nhận xét kết quả lâm sàng và chức năng thông khí sau điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính bằng tế bào gốc tự thân từ mô mỡ, Tạp chí nghiên cứu Y học, 137(1), 146-155.
- Kim Anh Tùng** (2019). Chương trình phục hồi chức năng cho người bệnh trong và sau đợt cấp COPD tại bệnh viện Phổi Trung ương, Luận văn Thạc sĩ y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
- Murray, C. J. and Lopez, A. D.** (1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. Lancet. 349(9064), pp. 1498-504.
- Global Burden of Disease Study 2017 - Causes of Death Collaborators** (2018). Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet. 392(10159), pp. 1736-1788.

XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN SARS-COV-2 BẰNG PHƯƠNG PHÁP REALTIME RT-PCR

TÓM TẮT

'Tiêu chuẩn vàng' cho chẩn đoán xác định ca nhiễm SARS-CoV-2 là xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền của virus bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR. Với các đặc tính kỹ thuật phức tạp, xét nghiệm Realtime RT-PCR cần được xác nhận và kiểm soát được chất lượng nghiêm ngặt. **Mục tiêu:** Kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee tại PXN Hóa sinh thuộc Bệnh viện Hữu nghị

Nguyễn Thị Như Ái¹, Đặng Thị Ngọc Dung²

Việt-Tiếp, Hải Phòng. **Đôi tượng và phương pháp nghiên cứu:** Tiến hành xác nhận các thông số độ chụm ngắn hạn, độ chụm dài hạn, độ chính xác của bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee theo hướng dẫn của tổ chức ASM. **Kết quả:** Độ chụm của xét nghiệm đạt giá trị CV% cho độ chụm ngắn hạn và độ chụm dài hạn đánh giá trên từng gen đích phù hợp với tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Độ chính xác của xét nghiệm có độ đồng thuận dương tính, âm tính đạt 100%. **Kết luận:** Kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng phương pháp phù hợp với tuyên bố của nhà sản xuất.

Từ khóa: SARS-CoV-2, xác nhận phương pháp, Realtime RT-PCR, validation, verification, ASM.

SUMMARY

PERFORMANCE VERIFICATION OF REALTIME RT-PCR FOR SARS-CoV-2 DETECTION

Recently, Realtime RT-PCR is considered one of the best methods to detect SARS-CoV-2. Because of

¹Bệnh viện Hữu nghị Việt-Tiếp

²Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Như Ái

Email: nhuaisht@gmail.com

Ngày nhận bài: 30.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 15.11.2022

Ngày duyệt bài: 30.11.2022

complex specifications, Realtime RT-PCR assays require verification and rigorous quality control.

Object: Verification of the use value of the Allplex™ SARS-CoV-2-Seegene kit at the department of Biochemistry laboratory of Vietnamese-Czech hospital, Hai Phong to ensure accuracy and reliability **Subjects and Methods:** Verifying the parameters of precision, and accuracy of Allplex™ SARS-CoV-2-Seegene kit according to the recommendations of the American Society for Microbiology (ASM). **Results:** The assay precision reached CV% values for short-term and long-term precision in accordance with the manufacturer's claims. The accuracy of the positive and negative consensus test reached 100%. **Conclusion:** method verification is in accordance with the manufacturer's claims.

Keywords: SARS-CoV-2, verification, Realtime RT-PCR, Verification and validation, ASM

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) là chủng virus của họ corona là nguyên nhân của bệnh COVID-19 đặc trưng bởi hội chứng viêm đường hô hấp cấp tiến triển, bệnh nhân có thể suy hô hấp và tử vong¹. Xét nghiệm chẩn đoán SARS-CoV-2 là một trong những chiến lược hiệu quả để hạn chế sự lây truyền của dịch bệnh vì nó giúp xác định những ca bệnh để từ đó có biện pháp cách li, phòng tránh lây nhiễm cho người xung quanh, đồng thời theo dõi sức khỏe và điều trị kịp thời, truy vết tiếp xúc và cung cấp thông tin dịch tễ học². Hiện nay, có nhiều phương pháp để xét nghiệm phát hiện virus SARS-CoV-2 như: xét nghiệm phát hiện kháng thể virus (test nhanh, định lượng), các xét nghiệm phát hiện kháng nguyên (test nhanh, CLIA/ECLIA), các xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền (acid nucleic) của virus (LAMP, rRT-PCR, giải trình tự,..). Realtime RT-PCR là một trong các phương pháp giúp phát hiện acid nucleic của virus SARS-CoV-2 và được các tổ chức khuyến cáo là "tiêu chuẩn vàng" trong thực hành chẩn đoán ca nhiễm^{3,4,5}.

Với các đặc tính kỹ thuật phức tạp và yêu cầu cấp thiết cần phải triển khai diện rộng, xét nghiệm Realtime RT-PCR cần được thực hiện kiểm tra xác nhận phương pháp và kiểm soát được chất lượng một cách chặt chẽ, giúp cung cấp những thông tin chính xác cho bác sỹ lâm sàng và các nhà chuyên môn khác để: phát hiện bệnh hoặc khả năng mắc bệnh; khẳng định hay phủ nhận một chuẩn đoán; tiên lượng bệnh; hướng dẫn quản lý bệnh nhân; theo dõi hiệu quả điều trị bệnh⁶.

Phòng xét nghiệm Hóa sinh thuộc Bệnh viện hữu nghị Việt-Tiệp, Hải Phòng hiện đang sử dụng bộ trang thiết bị chẩn đoán in vitro phát

hiện RNA của virus SARS-CoV-2 Allplex™ SARS-CoV-2-Seegene của Công ty Seegene, Hàn Quốc. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu "Thực hiện kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng xét nghiệm Realtime RT-PCR với SARS-CoV-2 bằng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegene".

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn: 30 mẫu bệnh phẩm đường hô hấp đã tách chiết RNA virus SARS-CoV-2 được lưu tại Phòng xét nghiệm Hóa sinh thuộc Bệnh viện hữu nghị Việt-Tiệp, Hải Phòng đã được xác định âm tính/dương tính bằng phương pháp so sánh Kit LightMix SarbecoV E-gene plus EAV control của hãng Tib mobil. Mẫu dương tính mạnh có giá trị Ct từ 15-24, mẫu dương tính trung bình có giá trị Ct từ 25-32, mẫu dương tính yếu giá trị Ct từ >32, mẫu âm tính có Ct > 40.

Tiêu chuẩn loại trừ: Lượng mẫu còn quá ít sau khi làm xét nghiệm; không được bảo quản ở nhiệt độ nhỏ hơn -70°C, mẫu được rã đông trên 1 lần.

2.2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng xét nghiệm

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện từ 2/2022 đến 4/2022 tại Phòng xét nghiệm Hóa sinh thuộc Bệnh viện hữu nghị Việt-Tiệp-Hải Phòng.

Quy trình thực hiện: Toàn bộ thực nghiệm được tiến hành theo khuyến cáo của ASM (Hiệp hội Vi sinh Hoa Kỳ)⁷

+ Mẫu đủ tiêu chuẩn lựa chọn: được tính toán, chia nhỏ, mã hóa (thông tin ngày tách chiết, ngày chia) và lưu trữ trong các ống eppendorf và bảo quản ở nhiệt độ -70°C, mỗi thử nghiệm sẽ sử dụng 1 ống riêng để đảm bảo điều kiện tương đồng ban đầu của mẫu.

+ Thực nghiệm đánh giá độ chụm ngắn hạn: 20 mẫu ở 4 mức nồng độ khác (5 dương tính mạnh, 5 dương tính trung bình, 5 dương tính yếu, 5 mẫu âm tính) nhau dựa trên phương pháp so sánh. Thực hiện phân tích 3 lần tại 3 thời điểm trong ngày.

+ Thực nghiệm đánh giá độ chụm dài hạn: 20 mẫu ở 4 mức nồng độ khác nhau (5 dương tính mạnh, 5 dương tính trung bình, 5 dương tính yếu, 5 mẫu âm tính) dựa trên phương pháp so sánh. Thực hiện phân tích lặp lại trong 5 ngày khác nhau.

+ Thực nghiệm đánh giá độ chính xác:

Chuẩn bị 30 mẫu ở 4 mức nồng độ khác nhau (5 dương tính mạnh, 5 dương tính trung bình, 5 dương tính yếu, 15 mẫu âm tính) dựa trên phương pháp so sánh.

+ Mỗi mẻ chạy thực hiện đều kèm theo chứng âm, chứng dương

Hóa chất thực hiện xác nhận Realtime RT-PCR:

+ Sử dụng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegene. Hỗn hợp phản ứng chứa cặp mồi và đầu dò được thiết kế trong vùng N gene, E gene, RdRp gene của bộ gene SARS-CoV-2. Các cặp mồi chịu trách nhiệm nhân bản các

trình tự đặc hiệu cho SARS-CoV-2. Sản phẩm nhân bản được phát hiện bởi tín hiệu huỳnh quang phát ra từ sự phân cắt mẫu dò Taqman đặc hiệu cho SARS-CoV-2.

+ Thành phần phản ứng: tổng thể tích 20 µl gồm: 5 µl RNA, 5 µl SARS2 MOM, 5 µl Enzym (EM8), 5 µl Rnase free water. Chu trình nhiệt của phản ứng: 50°C/20 phút, 95°C/15 Phút, [95°C/10 giây, 60°C/15 giây, 72°C/10s]×45 chu kỳ bảo quản mẫu nhiệt độ 10°C.

+ Theo khuyến cáo của nhà sản xuất, kết quả sau khi thực hiện cần được đọc và phiên giải theo bảng dưới đây:

Bảng 1: Hướng dẫn phân tích kết quả xét nghiệm

STT	Kết quả đọc huỳnh quang				Kết quả
	FAM (gene E)	Cal Red 610 (gene RdRp)	Quasar 670 (gene N1)	HEX (IC)	
1	+	+	+	+/-	Dương tính
2	+	-	+	+/-	
3	+	+	-	+/-	
4	-	+	-	+/-	
5	-	-	+	+/-	
6	+	-	-	+/-	Nghi ngờ
7	-	-	-	+	Âm tính
8	-	-	-	-	Không kết luận được

"+" tín hiệu vượt ngưỡng trước 40 chu kỳ (Ct≤40)

"-" tín hiệu không vượt ngưỡng

Trường hợp "Không kết luận được" hoặc "Nghi ngờ" cần thực hiện lại xét nghiệm. Nếu kết quả vẫn "Không kết luận được", "Nghi ngờ" cần gửi mẫu tới PXN khác để đối chiếu.

Xử lý số liệu: Phương pháp phân tích bao gồm tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, hệ số biến thiên. Phân tích thống kê bằng phần mềm Excel, medcalc 2.0

Tiêu chuẩn chấp nhận:

+ Giá trị CV% độ chụm ngắn hạn < 4%

+ Giá trị CV% độ chụm dài hạn < 4%

+ Độ đồng thuận dương tính PPA (Positive percent agreement), độ đồng thuận âm tính NPA (Negative percent agreement), độ đồng thuận tổng OPA (Overall predictive agreement) đạt 100%.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học. Xét nghiệm trên sử dụng mẫu bệnh phẩm đường hô hấp đã sử dụng trong chẩn đoán nhiễm SARS-CoV-2. Trong quá trình thực hiện nghiên cứu, hoàn toàn không can thiệp vào quyết định chẩn đoán và điều trị.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 2: Kết quả đánh giá độ chụm ngắn hạn của mẫu dương tính

Mã bệnh nhân	Gene E			Gen N			Gen RdRp		
	\bar{x}	SD	CV(%)	\bar{X}	SD	CV(%)	\bar{X}	SD	CV(%)
BND1	16.33	0.26	1.60	17.65	0.55	3.10	17.62	0.32	1.82
BND2	16.51	0.62	3.76	16.72	0.07	0.40	17.60	0.09	0.49
BND3	17.24	0.54	3.12	17.79	0.55	3.10	17.81	0.17	0.94
BND4	18.37	0.47	2.54	17.96	0.16	0.87	18.93	0.12	0.64
BND5	18.64	0.39	2.08	19.27	0.19	0.96	18.83	0.05	0.25
BND6	25.58	0.25	1.00	27.44	0.38	1.39	25.73	0.74	2.72
BND7	26.59	0.17	0.64	26.17	0.41	1.57	24.35	0.37	3.94
BND8	26.45	0.40	1.52	27.45	0.62	2.25	27.40	0.60	1.76
BND9	26.75	0.47	1.74	28.60	1.07	3.72	27.95	0.56	2.33
BND10	28.31	0.38	1.35	30.29	0.11	0.36	24.19	0.46	3.19
BND31	34.73	0.70	2.01	35.14	0.58	1.66	32.93	0.92	2.78

BND32	35.54	0.19	0.54	35.23	0.19	0.54	34.35	0.89	2.58
BND33	36.22	0.21	0.57	36.37	0.59	1.62	35.81	0.30	0.82
BND34	36.49	0.39	1.07	36.38	0.08	0.23	32.96	0.15	0.46
BND35	37.54	0.37	0.97	36.46	0.58	1.59	36.48	0.80	2.20

Nhận xét: Giá trị CV% đánh giá độ chụm ngắn hạn của bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee trên các mẫu dương tính sử dụng đều nhỏ hơn 4%. Giá trị CV% của gen E là 0,54-3,76%, giá trị CV% của gen N là 0,23-3,10 %, giá trị CV% của gen RdRp là 0,25-3,94%.

Bảng 3: Kết quả đánh giá độ chụm ngắn hạn của mẫu âm tính

Mã bệnh nhân	Gene IC		
	X	SD	CV (%)
BNA1	23.95	0.54	2.26
BNA2	23.84	0.58	2.44
BNA3	24.34	0.59	2.44
BNA4	24.40	0.30	1.24
BNA5	25.76	0.74	2.88

Nhận xét: Giá trị CV% đánh giá độ chụm ngắn hạn của các mẫu âm tính sử dụng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee đều nhỏ hơn 4%. Giá trị CV nhỏ nhất là 1,24%, giá trị CV lớn nhất là 2,88%.

Bảng 4: Kết quả đánh giá độ chụm dài hạn các mẫu dương tính

Mã bệnh nhân	Gene E			Gen N			Gen RdRp		
	X	SD	CV (%)	X	SD	CV (%)	X	SD	CV (%)
BND1	16.60	0.35	1.60	17.45	0.612	3.51	18.15	0.65	3.56
BND2	16.49	0.45	3.76	16.63	0.23	1.37	17.72	0.19	1.05
BND3	17.85	0.52	3.12	18.24	0.57	3.13	17.94	0.22	1.21
BND4	18.67	0.40	2.54	18.23	0.65	3.58	19.33	0.75	3.87
BND5	18.64	0.42	2.08	19.23	0.44	2.29	19.37	0.73	3.75
BND06	25.80	0.46	1.77	28.16	0.83	2.95	25.61	0.70	2.72
BND07	26.82	0.50	1.87	26.40	0.86	3.26	25.24	0.99	3.94
BND08	26.96	0.47	1.75	28.05	0.75	2.66	27.44	0.48	1.76
BND09	27.07	0.46	1.70	28.96	0.59	2.04	28.43	0.66	2.33
BND10	27.83	0.47	1.70	30.60	0.31	1.02	24.60	0.79	3.19
BND11	35.12	1.19	3.40	35.41	0.41	1.16	32.48	0.74	2.27
BND12	36.13	1.16	3.22	35.32	0.35	0.98	34.41	0.79	2.28
BND13	36.90	0.89	2.40	36.91	0.62	1.69	36.75	1.22	3.32
BND14	37.24	1.01	2.70	36.68	0.40	1.10	33.48	0.56	1.67
BND15	37.47	0.39	1.04	36.96	0.69	1.86	37.36	0.81	2.18

Nhận xét: Giá trị CV% đánh giá độ chụm dài hạn của các mẫu dương tính sử dụng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee đều nhỏ hơn 4%. Giá trị CV% của gen E là 1,04-3,76%, giá trị CV% của gen N là 0,98-3,58%, giá trị gen RdRp là 1,05-3,94%.

Bảng 5: Kết quả đánh giá độ chụm dài hạn của mẫu âm tính

Mã bệnh nhân	Gene IC		
	X	SD	CV (%)
BNA6	23.88	0.90	3.77
BNA7	23.87	0.76	3.17
BNA8	24.56	0.85	3.46
BNA9	24.39	0.66	2.71
BNA10	24.87	0.89	3.58

Giá trị CV% đánh giá độ chụm dài hạn của các mẫu âm tính sử dụng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee đều nhỏ hơn 4%.

Bảng 6: Kết quả đánh giá độ chính xác

Phương	Kết quả	Phương pháp TC
--------	---------	----------------

pháp	rtRT-PCR	Dương tính	Âm tính
Seegene	Dương tính	15	0
	Âm tính	0	15

Độ đồng thuận dương tính PPA= 100%

Độ đồng thuận âm tính NPA= 100%

Độ đồng thuận tổng OPA= 100%

IV. BÀN LUẬN

Xác nhận phương pháp là hoạt động độc lập của PXN nhằm đưa ra các bằng chứng khách quan để chứng minh các thông số kỹ thuật của phương pháp mà nhà sản xuất công bố là phù hợp với điều kiện vận hành thực tế của phòng xét nghiệm. Hơn thế, kết quả xét nghiệm phải

đảm bảo chính xác, tin cậy, kịp thời phục vụ cho công tác lâm sàng được tốt nhất. Nghiên cứu này tiến hành kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee xét nghiệm Realtime RT-PCR với SARS-CoV-2 bằng theo hướng dẫn mới nhất của Hiệp hội Vi sinh Hoa Kỳ⁷.

Nghiên cứu thực nghiệm với 30 mẫu bệnh phẩm đường hô hấp đã tách chiết RNA virus SARS-CoV-2 và được xác định âm tính/dương tính bằng phương pháp so sánh: Kit LightMix SarbecoV E-gene plus EAV control (Tib mobil), đã được khẳng định trước đó. Kết quả đánh giá độ chụm dài hạn và ngắn hạn trong nghiên cứu của chúng tôi đều đạt yêu cầu của nhà sản xuất. Trước đó trong một thử nghiệm đánh giá độ chụm của bộ sinh phẩm khác liên quan đến phương pháp Realtime RT-PCR có một số kết quả có giá trị CV% lớn hơn tiêu chuẩn của nhà sản xuất, cụ thể là giá trị độ chụm ngắn hạn của mẫu âm tính sử dụng Ct của chúng nội và Ct một số mẫu dương tính có CV% lớn hơn 4%. Tại thời điểm tiến hành, thực nghiệm được thực hiện ba lần trong cùng một ngày, nhằm hạn chế quá trình cấp đông, rã đông nhiều lần nên chúng tôi đã không chia nhỏ mẫu ra các ống, chỉ bảo quản trong ngăn tủ lạnh 2-8°C. Kết quả dẫn tới chất lượng mẫu ảnh hưởng rõ rệt, bằng chứng là độ chụm CV% ngắn hạn lớn hơn so với yêu cầu của nhà sản xuất. Khuyến của Hiệp hội Bệnh học Hoa Kỳ (College of American Pathologists – CAP) không khuyến cáo (not recommended) với các mẫu RNA sau tách chiết và bảo quản nhiệt độ lạnh 2-8°C⁸. Từ đó, sau thời điểm lựa chọn được mẫu RNA đã được tách chiết và khẳng định bằng phương pháp so sánh, chúng tôi tiến hành ghi nhận thời gian tách chiết, chia nhỏ các ống tương ứng số lần thực hiện các thực nghiệm, ghi nhận thời điểm chia nhỏ mẫu, bảo quản đúng điều kiện -70°C và chỉ thực hiện rã đông một lần duy nhất. Thực nghiệm đánh giá độ chính xác được đánh giá qua 3 mức nồng độ chạy một lần. Trong nghiên cứu này sử dụng 30 mẫu để đánh giá độ chính xác với kết quả là của PPA=100%, NPA=100%, OPA=100%, phù hợp với tiêu chuẩn của nhà sản xuất đưa ra.

Một trong những hạn chế của nghiên cứu thực nghiệm xác nhận phương pháp Realtime RT-PCR với SARS-CoV-2 này là chưa thực hiện xác nhận giới hạn phát hiện (LoD) của mẫu. Do tại thời điểm nghiên cứu, dịch SARS-CoV-2 bùng nổ mạnh, để sản xuất được các vật liệu chuẩn cho việc xác định đánh giá (LoD) của bộ sinh phẩm như việc nuôi cấy và định lượng virus còn

gặp rất nhiều khó khăn về mặt kĩ thuật, yêu cầu về cơ sở vật chất hay đảm bảo an toàn sinh học trong quá trình vận chuyển các mẫu vật liệu tham chiếu, do đó rất khó để tìm được một mẫu thương mại biết trước giá trị nồng độ virus. Bên cạnh đó việc thiếu vật liệu tham chiếu cũng ảnh hưởng tới khả năng thực hiện các thực nghiệm khác như độ đặc hiệu phân tích (phản ứng chéo), mặc dù các thông tin này đã được công bố trong khuyến cáo của nhà sản xuất. Tuy nhiên, do mức độ khẩn cấp về dịch tế phức tạp của dịch SARS-CoV-2 cũng như cần thiết phải triển khai nhanh chóng các phương pháp phát hiện virus, nhóm nghiên cứu đã tiến hành theo khuyến cáo của ASM⁷ với 2 thông số độ chụm và độ chính xác. Kết quả của thực nghiệm là bước đầu quan trọng khẳng định xét nghiệm đảm bảo các đặc tính về kỹ thuật, và là điều kiện tiên quyết trước khi tiến hành chạy trên mẫu bệnh nhân. Bên cạnh đó cần tuân thủ chặt chẽ trong việc lựa chọn và bảo quản mẫu thực nghiệm, bảo quản sử dụng hóa chất cũng như thao tác thực nghiệm.

V. KẾT LUẬN

Xác nhận giá trị sử dụng xét nghiệm Realtime RT-PCR với SARS-CoV-2 bằng bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2-Seegenee tại PXN Hóa sinh của Bệnh viện hữu nghị Việt Tiệp phù hợp với tuyên bố của nhà sản xuất. Đủ điều kiện thực hiện xét nghiệm trên bệnh nhân.

VI. LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ từ các anh/chị/ em đồng nghiệp trực thuộc PXN Hóa sinh, Bệnh viện hữu nghị Việt Tiệp, Bộ môn Hóa Sinh-Trường Đại học Y Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cucinotta D, Vanelli M.** WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta bio-medica : Atenei Parmensis.* 2020;91(1):157-160.
2. **Sule WF, Oluwayelu DO.** Real-time RT-PCR for COVID-19 diagnosis: challenges and prospects. *The Pan African medical journal.* 2020;35(Suppl 2):121.
3. **La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson SM.** Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reproductive biomedicine online.* 2020;41(3):483-499.
4. **Xu M, Wang D, Wang H, et al.** COVID-19 diagnostic testing: Technology perspective. *Clinical and translational medicine.* 2020;10(4):e158.
5. **Tahamtan A, Ardebili A.** Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert review of molecular diagnostics.* 2020;20(5):453-454.

6. **Umakanthan S, Sahu P, Ranade AV, et al.** Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate medical journal*. 2020;96(1142):753-758.
7. **Mitchell SL, St George K, Rhoads DD, et al.** Understanding, Verifying, and Implementing Emergency Use Authorization Molecular Diagnostics for the Detection of SARS-CoV-2 RNA. *Journal of clinical microbiology*. 2020;58(8).
8. **Buckingham L.** Molecular diagnostics: fundamentals, methods, and clinical applications. 2019.

ĐÁNH GIÁ SỰ THAY ĐỔI CỦA TÂN MẠCH TRÊN OCTA SAU TIÊM NỘI NHÃN BEVACIZUMAB ĐIỀU TRỊ THOÁI HÓA HOÀNG ĐIỂM TUỔI GIÀ

Đỗ Thị Huyền¹, Mai Quốc Tùng^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá sự thay đổi của tân mạch trên OCTA sau tiêm Bevacizumab điều trị thoái hóa hoàng điểm tuổi già. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả tiến cứu trên 28 mắt của 27 bệnh nhân thoái hóa hoàng điểm tuổi già thể tân mạch có chỉ định tiêm nội nhãn Bevacizumab sau 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, từ tháng 10/2021 đến hết tháng 8/2022 tại Khoa Mắt – Bệnh viện Lão Khoa Trung Ương. **Kết quả:** 28 mắt bị bệnh của 27 bệnh nhân gồm 3 loại tân mạch: Loại 1, loại 2 và loại 3, trong đó tân mạch hắc mạc (CNV) loại 1 chiếm tỉ lệ cao nhất 75%, loại 2 chiếm 21,4 % và loại 3 chiếm 3,6%. Về mặt định tính, hình dạng tân mạch có sự thay đổi rõ rệt sau 3 tháng tiêm Bevacizumab, từ những tân mạch có hình dạng rõ rệt như dang có mạch gốc trung tâm (medusa), quạt san hô (seafan) đến sự giảm dần và biến mất của hệ thống mao mạch xung quanh và mạch phân nhánh nhỏ tuy nhiên mạch gốc trung tâm ít bị biến đổi. Về mặt định lượng, diện tích tân mạch trung bình đo được là $1,54 \pm 0,89 \text{ mm}^2$, sau liều nạp diện tích giảm 39,6% xuống $0,93 \pm 0,7 \text{ mm}^2$. Mật độ mạch máu, mật độ tưới máu vùng trung tâm thấp hơn vùng quanh trung tâm và tổng hợp, sau 3 tháng nhìn chung các thông số này đều giảm tuy nhiên sự giảm này không có ý nghĩa thống kê. **Kết luận:** OCTA cung cấp hình ảnh chi tiết về các đặc điểm định tính, định lượng của CNV, với độ tin cậy và an toàn cao cho phép chúng ta khảo sát lặp lại nhiều lần trong suốt quá trình theo dõi điều trị. Dưới tác dụng của Bevacizumab sau liều nạp thấy tân mạch có những thay đổi đáng kể về cả hình dạng và kích thước trên OCTA.

Từ khóa: Tân mạch hắc mạc, thoái hóa hoàng điểm tuổi già, tiêm nội nhãn Bevacizumab, chụp OCTA.

SUMMARY

EVALUATE THE CHANGE OF CHOROIDAL

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Lão Khoa Trung Ương

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Thị Huyền

Email: dthuyen@hpmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 14.11.2022

Ngày duyệt bài: 28.11.2022

NEOVASCULARIZATION BY OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY ANGIOGRAPHY AFTER BEVACIZUMAB INTRAVITREAL INJECTION IN WET AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Objective: Evaluate of the change of choroidal neovascularization by optical coherence tomography angiography after intravitreal injection Bevacizumab in wet age-related macular degeneration. **Method :** Prospective descriptive study on 28 eyes of 27 patients with exudative age-related macular degeneration who were indicated for intraocular injection of Bevacizumab after 1 month, 2 months and 3 months from 10/2021 to 8/2022 at the Department of Ophthalmology - National Geriatric Hospital. **Results:** 28 eyes of 27 patients were included in the study, with 3 types of neovascularization: type 1, type 2 and type 3, in which CNV type 1 accounts for the highest rate (75%), followed by type 2 (21.4%) and type 3 (3.6%). Qualitatively, the neovascular shape has changed markedly after 3 months of injection of Bevacizumab, from neovascularization with obvious shapes such as medusa, seafan to the decrease and disappearance of the surrounding capillary system. and the branching circuit is small, but the central root circuit is little changed. Quantitatively, the average neovascular area measured was $1.54 \pm 0.89 \text{ mm}^2$, after the loading phase the area decreased by 39.6% to $0.93 \pm 0.75 \text{ mm}^2$. Vascular density, perfusion density the central area is lower than the inner area and in the total, after 3 months in general these parameters decrease but this decrease is not statistically significant. **Conclusion:** OCTA provides detailed images of the qualitative and quantitative characteristics of CNV, with high reliability and safety allowing us to repeat the survey many times during the treatment follow-up. The effect of Bevacizumab after the loading phase, there were significant changes in both shape and size on OCTA.

Keywords: neovascularization, age-related macular degeneration, optical coherence tomography angiography, intravitreal Bevacizumab.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa hoàng điểm tuổi già (Age-related macular degeneration) là nguyên nhân gây mù không hồi phục hàng đầu với người trên 50 tuổi ở các nước phát triển, và thứ ba toàn cầu. Bệnh