

Tiêu chí đánh giá chương trình QLSDKS tại bệnh viện rất đa dạng, được phân thành 2 nhóm lớn là tiêu chí số lượng (QMs) và tiêu chí chất lượng (QIs). Để thực hiện hiện quả hoạt động này, cần đánh giá một cách toàn diện và thực hiện việc phân tích các tiêu chí QMs và QIs đồng thời, định kỳ và có chiến lược.

VI. LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Sở Khoa Học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh (DOST HCMC) cho TS. Nguyễn Thị Hải Yến và ThS. Huỳnh Phương Thảo tại Quyết định số 51/QĐ-SKHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Charani, Esmita and Holmes, Alison (2019), "Antibiotic stewardship—twenty years in the making", *Antibiotics*. 8(1), p. 7.
2. Di Simone, Emanuele, et al. (2018), "Medication errors in the emergency department: knowledge, attitude, behavior, and training needs of nurses", *Indian journal of critical care*

- medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine. 22(5), p. 346.
3. Monnier, Annelie A, et al. (2018), "Quality indicators for responsible antibiotic use in the inpatient setting: a systematic review followed by an international multidisciplinary consensus procedure", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 73(suppl_6), pp. vi30-vi39.
4. Organization, World Health (2019), "Critically important antimicrobials for human medicine".
5. Page, Matthew J, et al. (2021), "The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews", *Systematic reviews*. 10(1), pp. 1-11.
6. Stanić Benić, Mirjana, et al. (2018), "Metrics for quantifying antibiotic use in the hospital setting: results from a systematic review and international multidisciplinary consensus procedure", *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 73(suppl_6), pp. vi50-vi58.
7. Thi-Hai-Yen Nguyen, Dat Van, et al. (2020), "Implementation status of antimicrobial stewardship programs in hospitals: a quantitative analysis study in Ho Chi Minh city, Vietnam", *MedPharmRes*. 4(2), pp. 34-39.

XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP GỘP QUE TRONG KỸ THUẬT REAL-TIME RT PCR CHẨN ĐOÁN SARS-COV-2

Nguyễn Thị Băng Sương^{1,2}, Lưu Nguyễn Trung Thông¹, Mai Thị Bích Chi¹, Nguyễn Hữu Huy¹, Nguyễn Hoàng Bắc^{1,2}

TÓM TẮT

Mở đầu: Phương pháp gộp que trong xét nghiệm real-time RT-PCR chẩn đoán SARS-CoV-2 được sử dụng phổ biến vì giúp tiết kiệm thời gian, nguồn lực, sàng lọc nhanh chóng trong khi vẫn bảo đảm độ tin cậy. Các phòng xét nghiệm cần thực hiện thẩm định xác nhận giá trị sử dụng hình thức gộp mẫu trước khi đưa vào sử dụng. **Mục tiêu:** So sánh khả năng phát hiện SARS-CoV-2 của kỹ thuật real-time RT PCR trên mẫu gộp que so với mẫu đơn. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả và thực nghiệm labo. Mẫu gộp 2, gộp 5 và gộp 10 được tạo từ các mẫu bệnh phẩm dịch tỵ hầu đã được xác định âm tính và dương tính với SARS-CoV-2 bằng real-time RT PCR trên 2 bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) và Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott). **Kết quả:** Độ tương đồng chẩn đoán dương SARS-CoV-2 ở mẫu gộp 2, gộp 5 và gộp 10 là 100% khi so với mẫu đơn với độ chênh lệch Ct trung bình của các gen không vượt quá 1,7. **Kết luận:** Nghiên cứu cho thấy khả năng phát

hiện mẫu dương tính với SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật real-time RT PCR ở mẫu gộp que là tương đương với mẫu đơn.

Từ khóa: SARS-CoV-2, gộp que.

SUMMARY

VERIFICATION OF SWAB POOLING REAL-TIME RT PCR TESTING TO DETECTION OF SARS-COV-2

Background: The swab pooling method in real-time RT-PCR diagnostics for SARS-CoV-2 is commonly used due to saving time and resources for laboratory, quickly screening while ensuring reliability. Laboratories need to perform verification of swab pooling before putting them into use. **Objective:** Comparison of the ability of real-time RT PCR to detect SARS-CoV-2 on a pooled samples compared to a single sample. **Materials and method:** Descriptive and experimental study. The 2-Pooled, 5-pooled and 10-pooled were created from nasopharyngeal swab samples that were confirmed negative and positive for SARS-CoV-2 by real-time RT PCR on Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) and Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott). **Results:** The percentage of positive agreement of SARS-CoV-2 in 2-Pooled, 5-pooled and 10-pooled were 100% when compared with the single sample with the mean Ct difference not exceeding 1.7. **Conclusion:** The study showed that the ability to detect samples positive for SARS-CoV-2 by real-time

¹Bệnh viện Đại học Y Dược TP.Hồ Chí Minh

²Đại học Y Dược TP.Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Băng Sương

Email: suong.ntb@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 2.01.2023

Ngày phản biện khoa học: 16.3.2023

Ngày duyệt bài: 28.3.2023

RT PCR in the pooled sample was equivalent to the single sample.

Keywords: Sars-CoV-2; Swab pooling.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xét nghiệm Realtime RT-PCR dùng trong chẩn đoán SARS-CoV-2 là một trong những công cụ cơ bản để kiểm soát đại dịch COVID-19. Tuy nhiên số lượng mẫu cần xét nghiệm quá lớn (bao gồm mẫu từ những người có triệu chứng và không có triệu chứng) làm cho các phòng xét nghiệm bị quá tải và thiếu hụt nguồn lực. Trong chiến lược thực hiện xét nghiệm để sàng lọc F0, Bộ Y tế đã ban hành Quyết định số 1817/QĐ-BYT ngày 07/04/2021 hướng dẫn tạm thời việc thực hành gộp mẫu xét nghiệm giúp tiết kiệm thời gian và nguồn lực, gia tăng hiệu suất xét nghiệm, và quan trọng hơn hết là xác định F0 một cách nhanh chóng. Có 2 hình thức gộp mẫu là gộp que và gộp dung dịch. Hình thức gộp que được sử dụng phổ biến vì giúp giảm bớt thao tác trong phòng thí nghiệm và giảm thiểu sự pha loãng RNA của virus có trong mẫu. [1], [2]. Nghiên cứu này tiến hành nhằm so sánh khả năng phát hiện SARS-CoV-2 của kỹ thuật real-time RT PCR trên mẫu gộp que so với mẫu đơn lẻ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh phẩm dịch tỵ hầu được bảo quản trong môi trường vận chuyển virus (VTM). Các mẫu bệnh phẩm được xác định kết quả âm tính và dương tính với tác nhân SARS-Cov-2 bằng kỹ thuật xét nghiệm Realtime RT-PCR tại Bệnh viện Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu:

Chuẩn bị mẫu: Chọn mẫu dương từ 30 bệnh nhân độc lập được xác định dương tính với SARS-CoV-2 bằng Realtime RT PCR, chia làm 3 nhóm: 10 bệnh nhân có Ct: 15 – 24, 10 bệnh nhân có Ct: 25 – 30 và 10 bệnh nhân có Ct: 31 – 37.

Chọn các mẫu âm tính từ 310 bệnh nhân độc lập được xác định âm tính với SARS-CoV-2 bằng Realtime RT PCR.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xác định độ tương đồng chẩn đoán SARS-CoV-2 giữa mẫu đơn và mẫu gộp que.

Bảng 1. Xác định độ tương đồng chẩn đoán SARS-CoV-2 giữa mẫu đơn và mẫu gộp que trên sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) và Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott)

Tạo mẫu gộp dương: Mỗi bệnh nhân dương tính được lấy thêm 3 que tương ứng với mẫu gộp 2, gộp 5 và gộp 10 vào ống môi trường đã có sẵn các que âm tính để tạo thành 30 mẫu gộp dương tương ứng.

Tạo mẫu gộp âm: Mẫu gộp âm được lấy từ bệnh nhân âm tính cho đủ số lượng 30 mẫu gộp âm tương ứng với mẫu gộp 2, gộp 5 và gộp 10.

Phương pháp chẩn đoán SARS-CoV-2: Ly trích RNA của virus bằng sinh phẩm MagNA Pure 96 DNA and Viral Nucleic Acid Small Volume Kit trên hệ thống tách chiết tự động của hãng Roche. Thể tích mẫu sử dụng để tách là 200 μ L.

Realtime RT PCR: Các mẫu đơn và mẫu gộp dương tính được thực hiện lặp lại 3 lần và tính giá trị Ct trung bình trên 2 bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay và Alinity m SARS-CoV-2.

Allplex™ SARS-CoV-2 Assay: Các gen đích phát hiện của bao gồm gen E, gen RdRP/S và gen N. Chứng nội tại được sử dụng để kiểm soát chất lượng là bộ gen MS2 phage. Mẫu được khẳng định dương tính khi giá trị Ct của 4 gen \leq 37.

Alinity m SARS-CoV-2: Thực hiện trên hệ thống tự động bao gồm bước ly trích RNA và Realtime RT PCR. Gen đích phát hiện là RdRP/N gen. Chứng nội tại được sử dụng để kiểm soát chất lượng là Armored RNA. Mẫu được khẳng định dương tính khi giá trị Ct của 2 gen \leq 37.

Các biến số thu thập: kết quả chẩn đoán (biến định tính: dương/âm), giá trị Ct ghi nhận được ở mẫu dương (biến định lượng).

Xử lý kết quả: Các biến số định tính được trình bày dưới dạng tỉ lệ phần trăm, biến định lượng trình bày dưới dạng mean \pm SD. Sử dụng phần mềm SPSS version 20.0 cho các phân tích thống kê.

Xác định độ tương đồng chẩn đoán bằng hệ số Cohen's Kappa. Độ chênh lệch giá trị Ct giữa mẫu đơn và mẫu gộp que (gộp 2, gộp 5 và gộp 10) là hiệu số giữa giá trị Ct mẫu đơn và mẫu gộp que, được trình bày dưới dạng mean \pm SD trên 2 bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) và Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott).

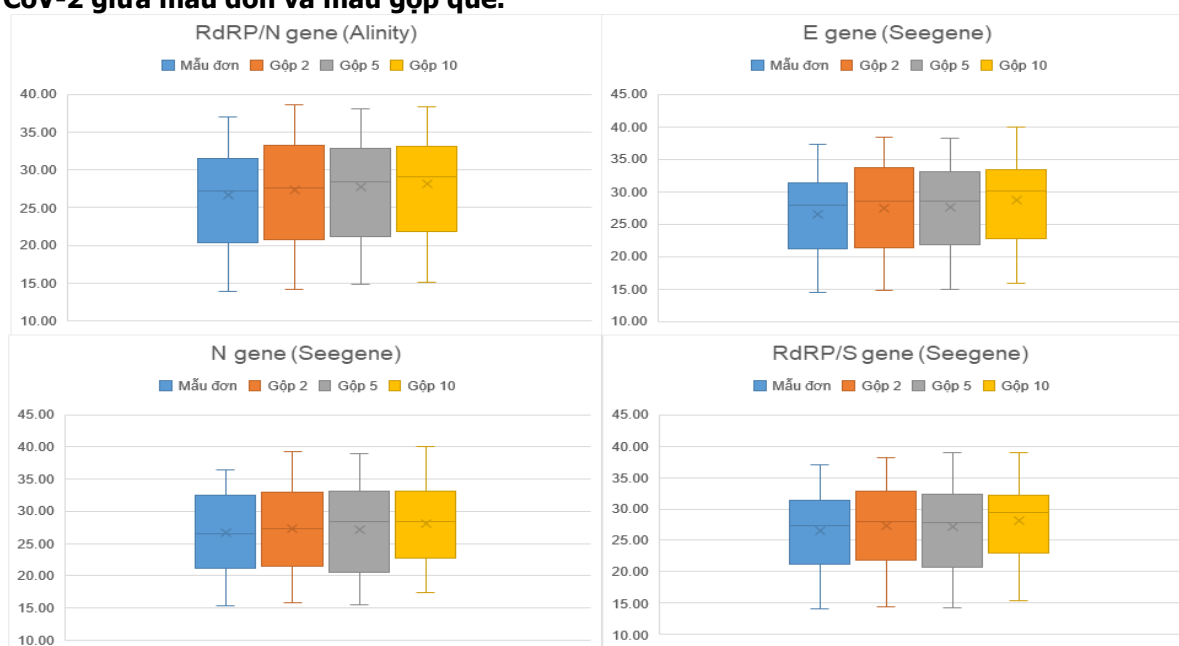
Vấn đề Y đức. Nghiên cứu đã thông qua hội đồng y đức theo quyết định số 87/GCN-HĐĐĐ ngày 29 tháng 9 năm 2022.

Mẫu đơn	Số lượng	Mẫu gộp 2		Mẫu gộp 5		Mẫu gộp 10	
		Kết quả tương đồng	Phần trăm tương đồng	Kết quả tương đồng	Phần trăm tương đồng	Kết quả tương đồng	Phần trăm tương đồng
Am tính	30	30	100%	30	100%	30	100%
Ct: 15 – 24	10	10	100%	10	100%	10	100%
Ct: 25 – 30	10	10	100%	10	100%	10	100%
Ct: 31 – 37	10	10	100%	10	100%	10	100%
Tổng cộng	60	60	100%	60	100%	60	100%

Hệ số Cohen's Kappa: 1

Nhận xét: Độ tương đồng chẩn đoán SARS-CoV-2 giữa mẫu đơn và mẫu gộp que (gộp 2, gộp 5 và gộp 10) là 100% đối với 2 sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) và Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott).

Phân bố độ chênh lệch trung bình chu kỳ ngưỡng (Ct) của các gen chẩn đoán SARS-CoV-2 giữa mẫu đơn và mẫu gộp que.



Hình 1. Phân bố độ chênh lệch trung bình chu kỳ ngưỡng (Ct) của các gen chẩn đoán trên 2 sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) và Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott)

Nhận xét: Đối với các gen phát hiện SARS-CoV-2 trên cả 2 bộ sinh phẩm Seegene và Abbott thì giá trị Ct sẽ tăng theo số lượng que gộp có trong mẫu.

Độ chênh lệch chu kỳ ngưỡng chẩn đoán SARS-CoV-2 giữa mẫu đơn và mẫu gộp que

Bảng 2. Đánh giá mức độ sai lệch chu kỳ ngưỡng giữa mẫu đơn và mẫu gộp trên sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene)

Khoảng Ct mẫu đơn dương tính	Vùng gen	Độ chênh lệch trung bình (ΔCt) 2 và độ dao động		
		Mẫu gộp 2	Mẫu gộp 5	Mẫu gộp 10
15 – 24	E	0,46 ± 0,20	0,74 ± 0,44	1,50 ± 0,27
	RdRP/S	0,47 ± 0,16	0,79 ± 0,38	1,65 ± 0,32
	N	0,52 ± 0,20	0,69 ± 0,41	1,55 ± 0,26
25 – 30	E	0,65 ± 0,08	1,15 ± 0,58	1,55 ± 0,55
	RdRP/S	0,67 ± 0,09	1,07 ± 0,79	1,51 ± 0,67
	N	0,65 ± 0,10	1,17 ± 0,72	1,63 ± 0,71
31 – 37	E	1,23 ± 0,31	1,45 ± 0,44	1,68 ± 0,45
	RdRP/S	1,30 ± 0,25	1,31 ± 0,59	1,61 ± 0,41
	N	1,31 ± 0,21	1,47 ± 0,39	1,62 ± 0,52

Nhận xét: Độ chênh lệch trung bình (ΔCt) mẫu gộp và mẫu đơn trên sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) ghi nhận cao nhất ở mẫu gộp 10 và thấp nhất ở mẫu gộp 2 trên cả 3 vùng gen.

Bảng 3. Đánh giá mức độ sai lệch chu kỳ ngưỡng giữa mẫu đơn và mẫu gộp trên sinh phẩm Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott).

Khoảng Ct mẫu đơn dương tính	Vùng gen	Độ chênh lệch trung bình (ΔCt) 2 và độ dao động		
		Mẫu gộp 2	Mẫu gộp 5	Mẫu gộp 10
15 – 24	RdRP/N	0,39 ± 0,11	0,84 ± 0,17	1,41 ± 0,25
25 – 30	RdRP/N	0,56 ± 0,17	1,25 ± 0,20	1,65 ± 0,53
31 – 37	RdRP/N	1,15 ± 0,62	1,27 ± 0,64	1,48 ± 0,46

Nhận xét: Độ chênh lệch trung bình (ΔCt) mẫu gộp và mẫu đơn trên sinh phẩm Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott) ghi nhận cao nhất ở mẫu gộp 10 và thấp nhất ở mẫu gộp 2 trên vùng gen RdRP/N.

IV. BÀN LUẬN

Việc gộp mẫu có ý nghĩa lớn nhất là: tăng năng lực xét nghiệm để sàng lọc các ca bệnh nhanh chóng trong khi vẫn bảo đảm độ tin cậy, qua đó có các biện pháp phòng dịch sớm, kịp thời và đồng thời tiết kiệm được nhân lực, các vật tư xét nghiệm. Tuy nhiên phương pháp xét nghiệm gộp mẫu khi sử dụng cũng có nhiều hạn chế như không đảm bảo được tính đồng nhất trong chẩn đoán của mẫu bệnh phẩm đơn lẻ, làm loãng nồng độ các mẫu dương tính vì thế giảm độ nhạy phân tích của kỹ thuật xét nghiệm, đặc biệt đối với các mẫu có nồng độ vi rút gần với giới hạn độ phát hiện (LoD) của kỹ thuật áp dụng. Gộp mẫu là kỹ thuật phức tạp và không được áp dụng thường quy tại các phòng xét nghiệm y tế; vì thế phải tăng cường kiểm soát chất lượng và thực hành đảm bảo chất lượng phải được thực hiện khi tiến hành gộp mẫu. Ngày 07/4/2021, Bộ Y tế ban hành quyết định 1817/QĐ-BYT hướng dẫn việc gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2 nhằm giảm thời gian xét nghiệm, sử dụng hiệu quả hơn nguồn lực xét nghiệm. Các phòng xét nghiệm trước khi triển khai quy trình gộp mẫu cần xác nhận giá trị sử dụng của mẫu gộp theo loại sinh phẩm sử dụng và cỡ mẫu gộp nhằm đánh giá mức ảnh hưởng đến độ nhạy của xét nghiệm.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, thực nghiệm trên 30 mẫu bệnh phẩm dương tính với các giá trị Ct khác nhau trên 2 bộ sinh phẩm Allplex™ SARS-CoV-2 Assay (Seegene) và Alinity m SARS-CoV-2 assay (Abbott) cho kết quả độ tương đồng chẩn đoán dương giữa mẫu đơn và mẫu gộp là 100%. Độ chênh lệch Ct trung bình giữa các mẫu đơn và mẫu gộp trong nghiên cứu là 0,39 – 1,68. Kết quả này đáp ứng được tiêu chí của FDA Hoa Kỳ: chấp nhận sai sót âm tính giả 5% và độ chênh lệch Ct trung bình không vượt quá 1,7 [3], [4]. Khi so sánh với nghiên cứu

Phan Nguyễn Thanh Vân (2022) thì độ chênh lệch Ct trung bình của hình thức gộp dung dịch là từ 1,95 – 3,14 ở mức gộp 5 và gộp 10, cho thấy kết quả phương pháp gộp que có độ chênh lệch Ct thấp hơn [5]. Đây là ưu điểm nổi bật hơn của phương pháp gộp que so với gộp dung dịch vì giảm thiểu sự pha loãng RNA của virus có trong mẫu. Kết quả trong nghiên cứu này tương đồng với các nghiên cứu khác trên thế giới khi sử dụng phương pháp gộp que sẽ có độ chênh lệch Ct thường không vượt quá 2 [6], [1].

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu cho thấy phương pháp gộp que có độ tương đồng chẩn đoán dương giữa mẫu đơn và mẫu gộp đạt được 100% và độ chênh lệch Ct trung bình đáp ứng được tiêu chí của FDA Hoa Kỳ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Christoff, A.P., et al.,** Swab pooling: A new method for large-scale RT-qPCR screening of SARS-CoV-2 avoiding sample dilution. PLoS One, 2021. 16(2): p. e0246544.
2. **Torres, I., E. Albert, and D. Navarro,** Pooling of nasopharyngeal swab specimens for SARS-CoV-2 detection by RT-PCR. Journal of Medical Virology, 2020.
3. **Administration, U.S.F.D.,** Amending Certain EUAs for RT-PCR Molecular-Based Diagnostic Tests to Authorize the Detection of Nucleic Acid from SARS-CoV-2 from Pooled Anterior Nasal Respiratory Specimens for Screening When Used as Part of a Serial Testing Program 2021.
4. **Food and D. Administration,** United States of America. Pooled sample testing and screening testing for COVID-19. 2020.
5. **Vân, P.N.T., et al.,** XÁC ĐỊNH GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP GỘP DUNG DỊCH TRONG CHẨN ĐOÁN SARS-COV-2 BẰNG KỸ THUẬT RT-qPCR. Tạp chí Y học Việt Nam, 2022. 515(2).
6. **Wunsch, M., et al.,** Safe and effective pool testing for SARS-CoV-2 detection. Journal of Clinical Virology, 2021. 145: p. 105018.