

THU THẬP MẪU BỆNH PHẨM TRONG XÉT NGHIỆM SARS-COV-2

ThS. Đỗ Thị Thu Thủy

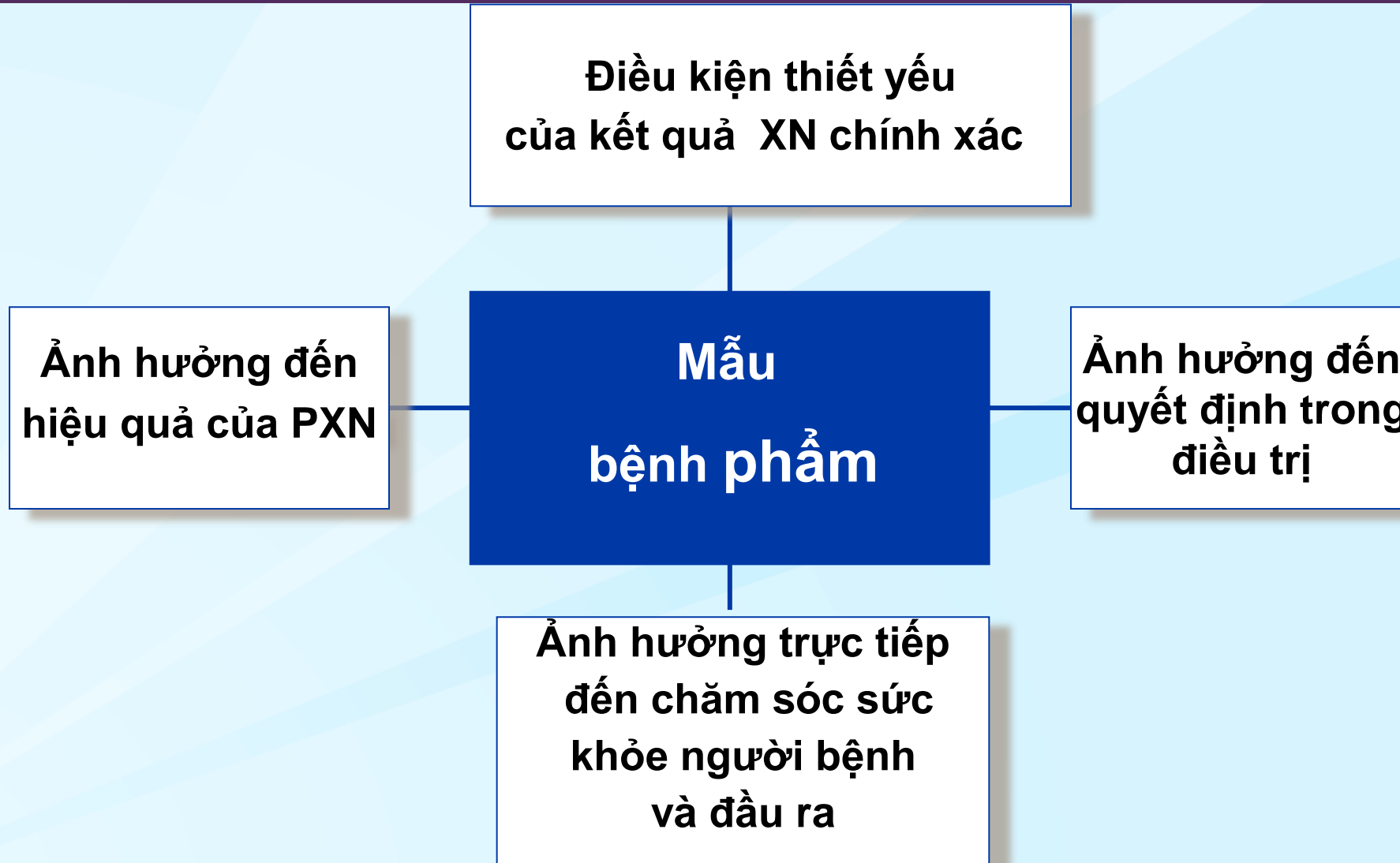
Trưởng nhóm tăng cường năng lực về xét nghiệm
Trung tâm Phòng ngừa và Kiểm soát Bệnh tật Hoa Kỳ tại Việt Nam

Mục tiêu

Sau khi kết thúc học phần này, học viên có thể:

1. Nêu được tầm quan trọng của các loại mẫu bệnh phẩm
2. Liệt kê được các loại mẫu bệnh phẩm trong xét nghiệm SARS-CoV-2

Mẫu bệnh phẩm

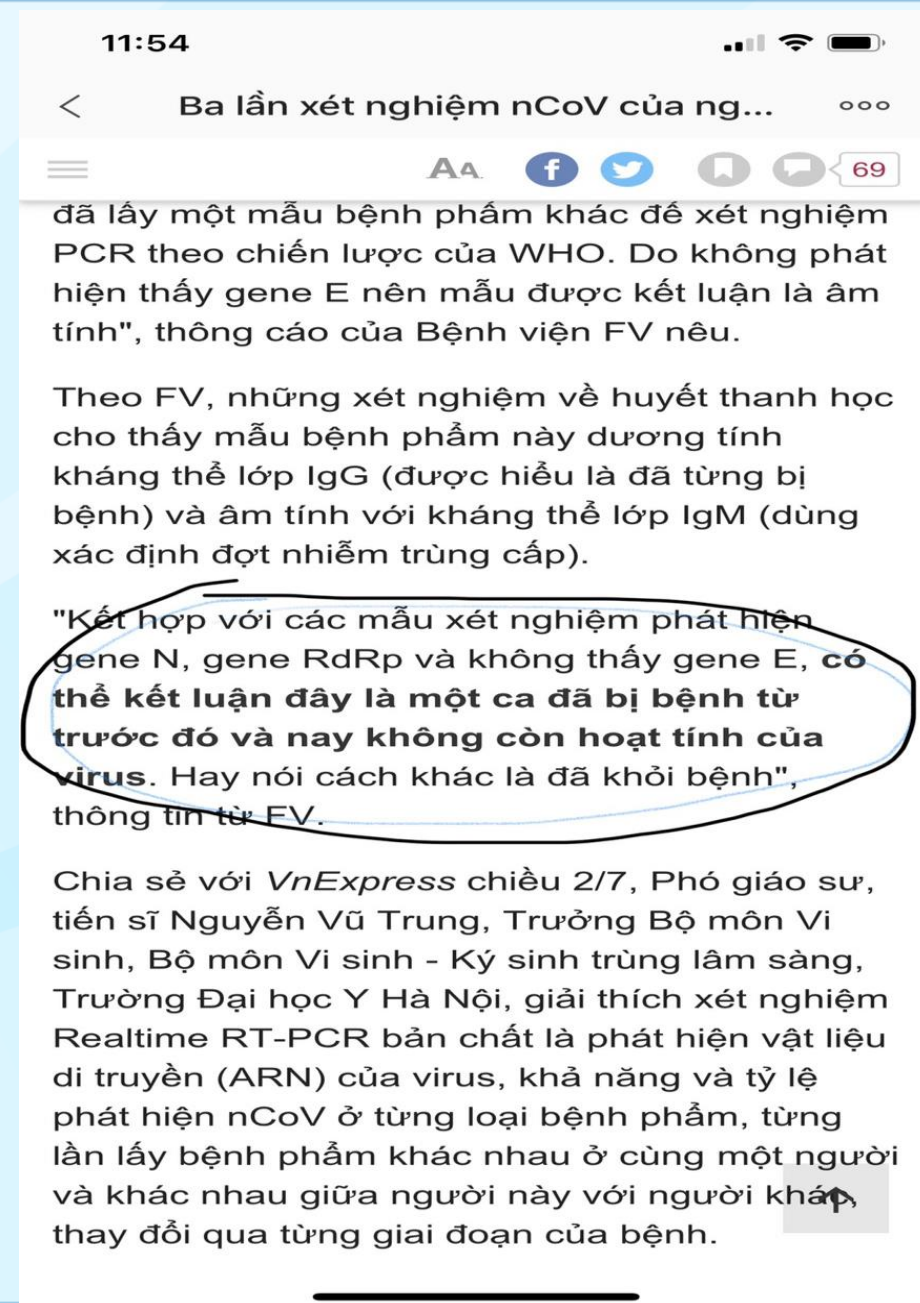


Các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng mẫu bệnh phẩm



Ví dụ: Phân tích kết quả xét nghiệm Realtime RT-PCR SARS-CoV-2

<https://vnexpress.net/ba-lan-xet-nghiem-ncov-cua-nguoi-indonesia-nghi-nhiem-4124654.html>



11:54

< Ba lần xét nghiệm nCoV của ng... >>>

AA f t 69

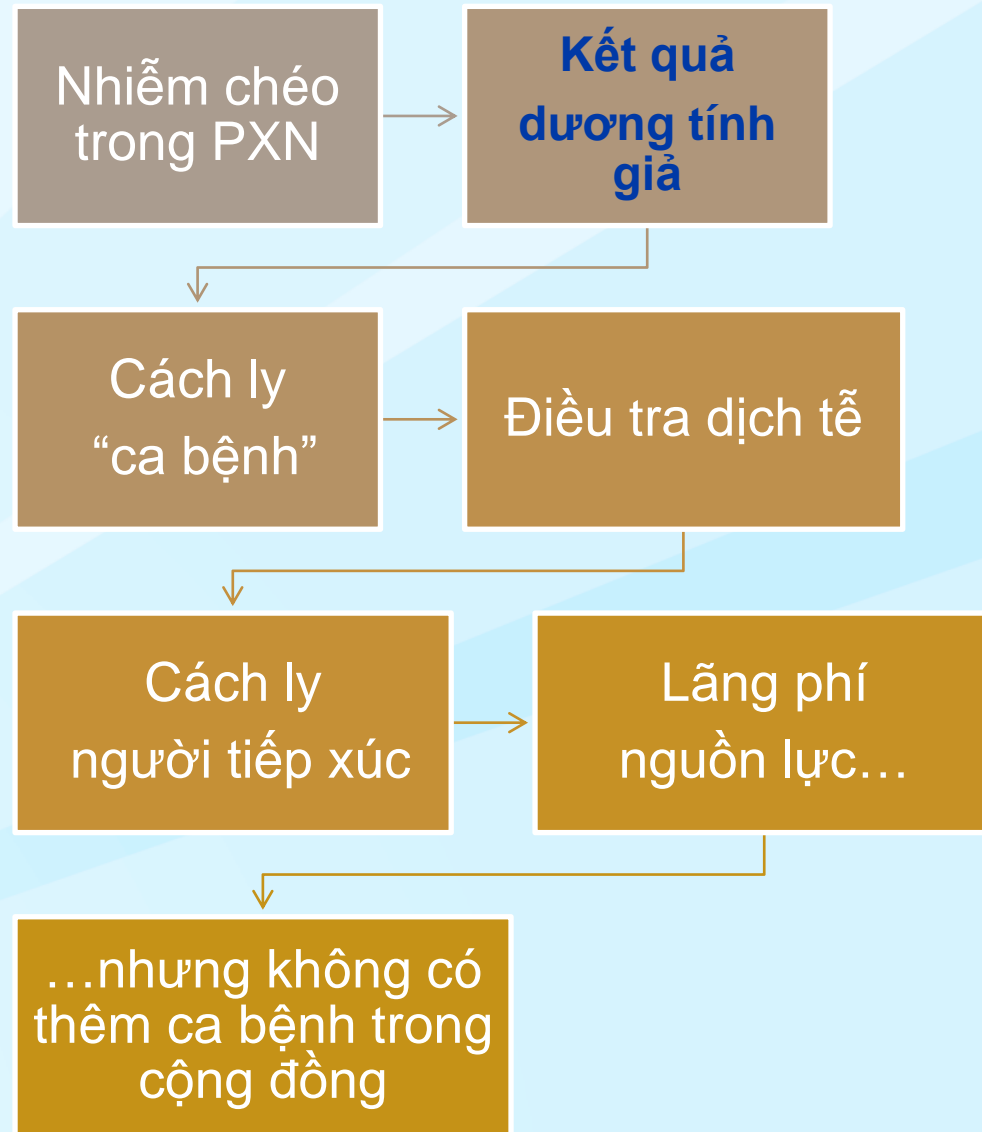
đã lấy một mẫu bệnh phẩm khác để xét nghiệm PCR theo chiến lược của WHO. Do không phát hiện thấy gene E nên mẫu được kết luận là âm tính", thông cáo của Bệnh viện FV nêu.

Theo FV, những xét nghiệm về huyết thanh học cho thấy mẫu bệnh phẩm này dương tính kháng thể lớp IgG (được hiểu là đã từng bị bệnh) và âm tính với kháng thể lớp IgM (dùng xác định đợt nhiễm trùng cấp).

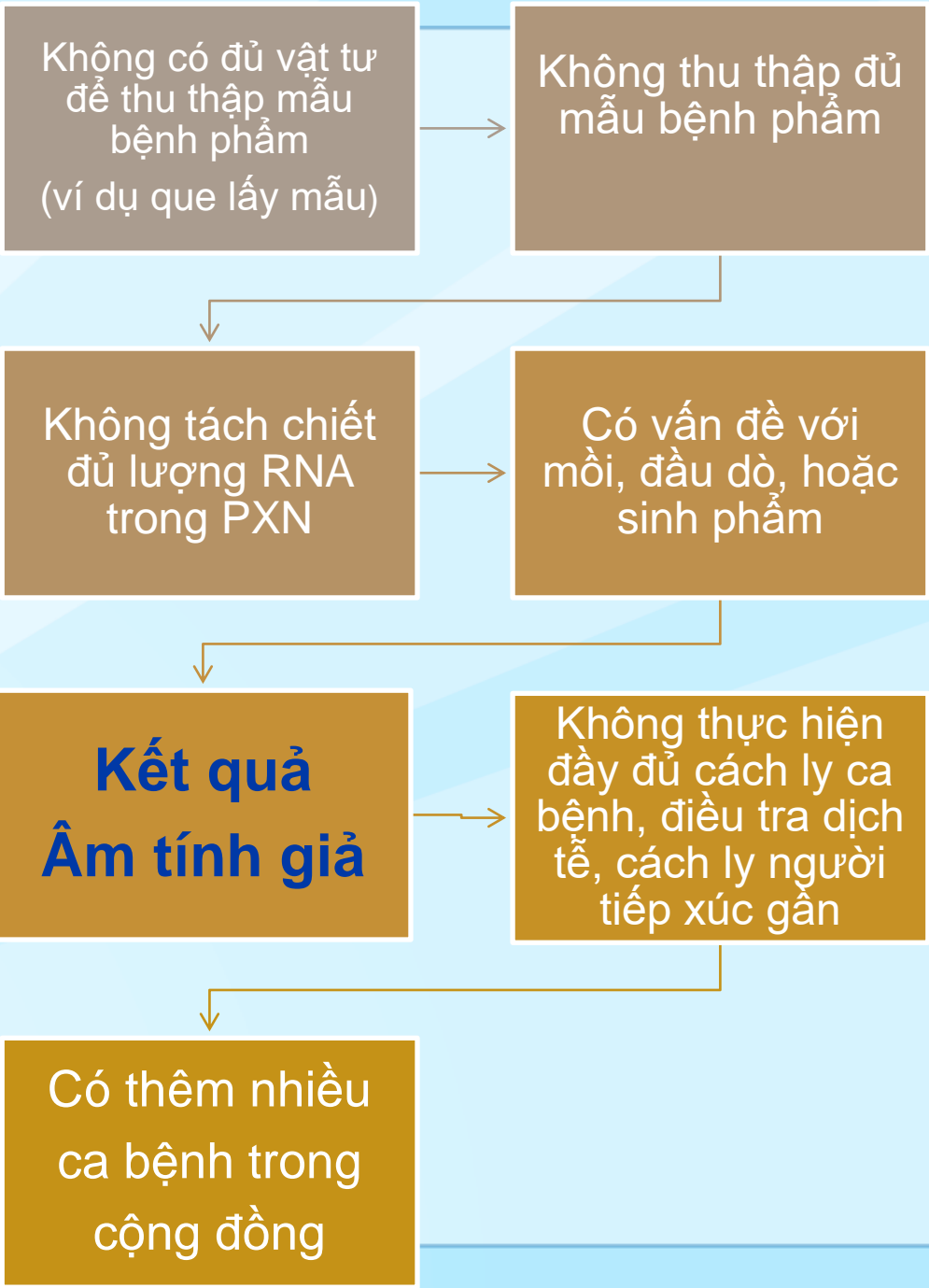
"Kết hợp với các mẫu xét nghiệm phát hiện gene N, gene RdRp và không thấy gene E, có thể kết luận đây là một ca đã bị bệnh từ trước đó và nay không còn hoạt tính của virus. Hay nói cách khác là đã khỏi bệnh", thông tin từ FV.

Chia sẻ với *VnExpress* chiều 2/7, Phó giáo sư, tiến sĩ Nguyễn Vũ Trung, Trưởng Bộ môn Vi sinh, Bộ môn Vi sinh - Ký sinh trùng lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội, giải thích xét nghiệm Realtime RT-PCR bản chất là phát hiện vật liệu di truyền (ARN) của virus, khả năng và tỷ lệ phát hiện nCoV ở từng loại bệnh phẩm, từng lần lấy bệnh phẩm khác nhau ở cùng một người và khác nhau giữa người này với người khác, thay đổi qua từng giai đoạn của bệnh.

Kết quả
dương tính giả
có thể làm lãng phí
nguồn lực...nhưng
không có thêm ca bệnh
trong cộng đồng



Kết quả
âm tính giả
có thể dẫn tới tình trạng
có thêm nhiều ca bệnh
trong cộng đồng.



Lấy mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm

Yêu cầu về loại mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm sinh học phân tử chẩn đoán COVID-19

- ❖ 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

Mẫu bệnh phẩm

Yêu cầu về loại mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm huyết thanh học

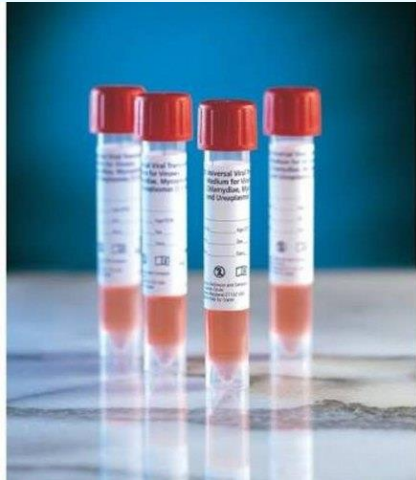
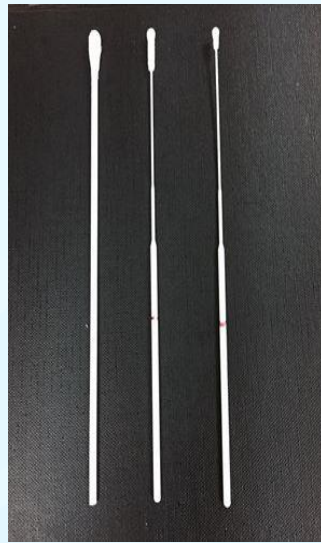
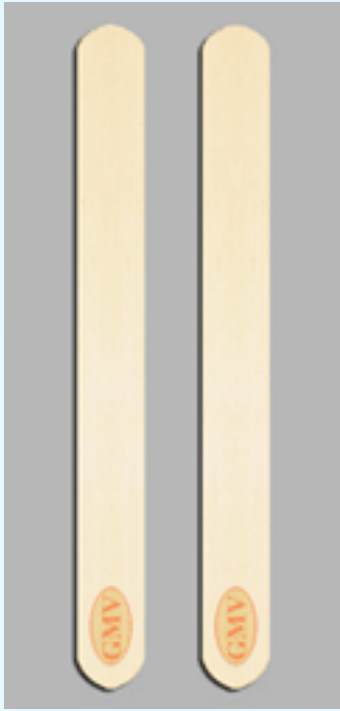
❖ Mẫu máu

- + Mẫu máu giai đoạn cấp;
- + Mẫu máu giai đoạn hồi phục (sau 14-21 ngày sau khi khởi bệnh)
- + Thể tích lấy mẫu máu: 3ml - 5ml

➤ *Lưu ý: Việc lấy mẫu máu là không bắt buộc, tùy theo xét nghiệm huyết thanh học các địa phương xây dựng phương án cụ thể*

Thu thập bệnh phẩm – Chuẩn bị dụng cụ

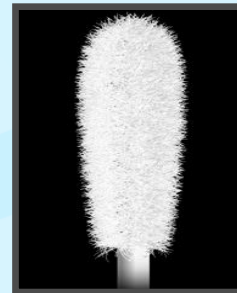
- Que lấy mẫu (đầu que bằng sợi tổng hợp, không dùng que có cán gỗ hoặc calcium)
- Que đũa lưỡi;
- Ống ly tâm hình chóp 15ml, chứa 2-3ml môi trường vận chuyển;
- Lọ nhựa (ống Falcon 50ml) hoặc túi nylon để đóng gói bệnh phẩm;
- Băng, gạc có tấm chất sát trùng;
- Cồn sát trùng, bút ghi;
- Quần áo bảo hộ;
- Kính bảo vệ mắt;
- Găng tay không bột;
- Khẩu trang y tế chuyên dụng (N95 hoặc tương đương);
- Bơm tiêm 10 ml, vô trùng;
- Tuýp vô trùng không có chất chống đông;
- Bình lạnh bảo quản mẫu.



Thu thập bệnh phẩm – Chuẩn bị dụng cụ - Lưu ý



- Đầu que lấy mẫu làm bằng sợi tổng hợp
- Cán cầm không phải là *calcium* hoặc *gỗ* vì các chất này có thể ức chế phản ứng PCR



Đầu que lấy mẫu

Thu thập bệnh phẩm

Trước khi thu thập mẫu

Ghi rõ tên, tuổi, địa chỉ, loại bệnh phẩm, ngày lấy mẫu bên ngoài dụng cụ đựng bệnh phẩm

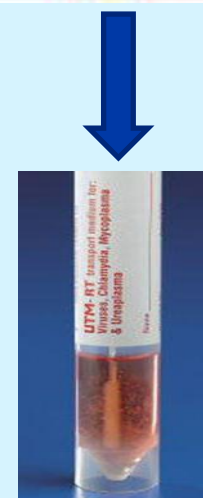
Rửa tay hoặc sát khuẩn nhanh

Mặc bộ phụng tiện phòng hộ cá nhân

Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Mẫu ngoáy dịch tỵ hầu

- Yêu cầu bệnh nhân xì nhẹ vào khăn giấy trước khi lấy mẫu
- Nghiêng đầu bệnh nhân ra sau khoảng 70 độ
- Nhẹ nhàng đưa que lấy mẫu vào mũi, vừa đẩy vừa xoay giúp que đi dễ dàng vào sâu 1 khoảng bằng $\frac{1}{2}$ độ dài từ cánh mũi đến dải tai cùng phía.
- Giữ que lấy mẫu tại chỗ lấy mẫu trong vòng 5 giây, từ từ xoay và rút que lấy mẫu ra
- Đặt que lấy mẫu vào ống có chứa môi trường vận chuyển, bẻ cán tăm bông để có độ dài phù hợp
- Đóng nắp, xiết chặt, bọc ngoài bằng giấy parafin

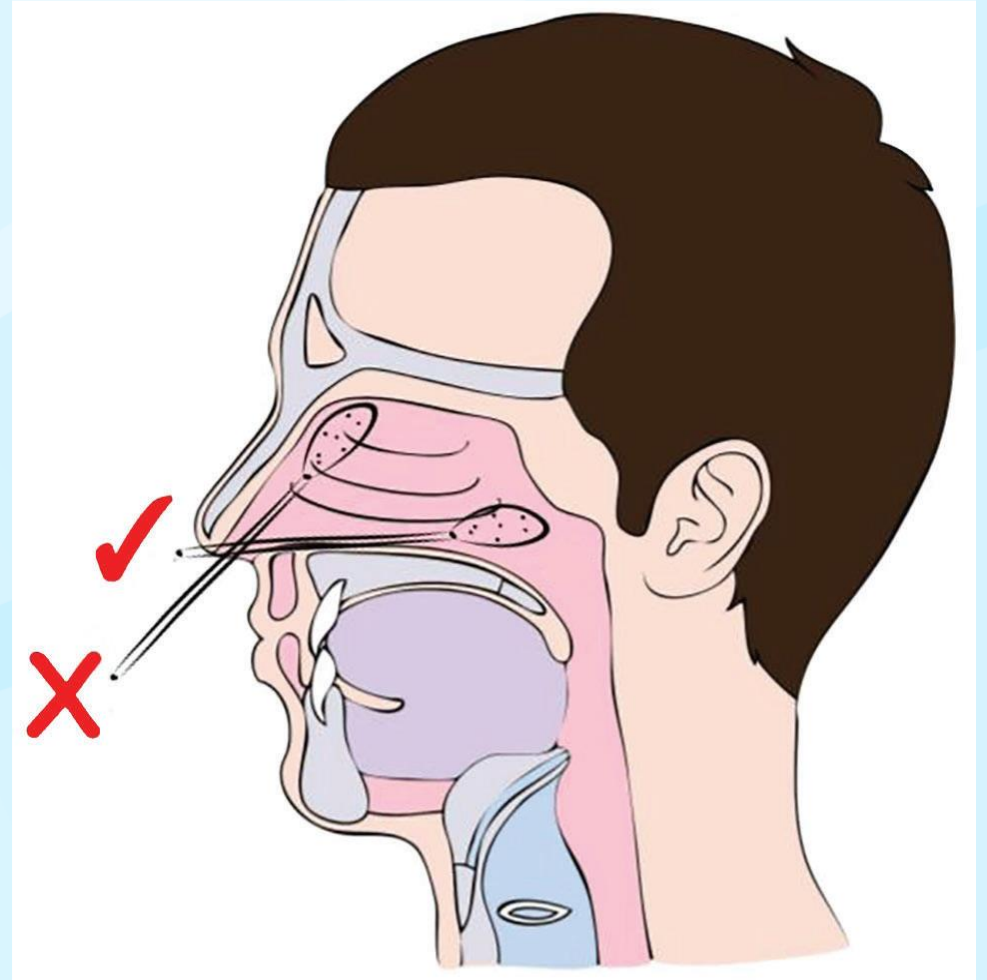


Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Mẫu ngoáy dịch tỵ hầu

VIDEO HƯỚNG DẪN LẤY MẪU DỊCH TỴ HẦU

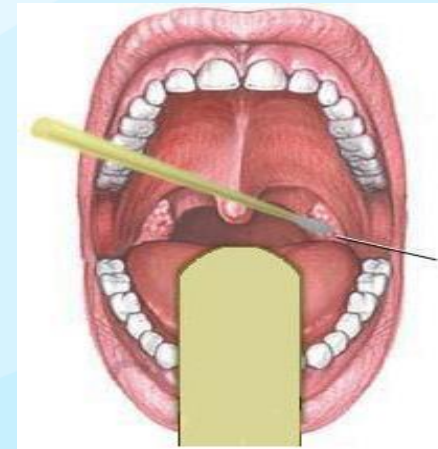
<https://www.youtube.com/watch?v=HZwXe9yiBIE&t=1s>



Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Mẫu ngoáy dịch họng

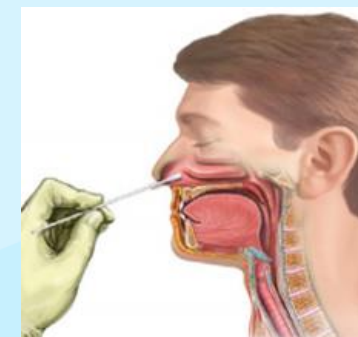
- Bệnh nhân há miệng to
- Đè nhẹ nhàng lưỡi bệnh nhân
- Dùng que lấy mẫu miết và xoay tròn nhẹ 3 đến 4 lần tại khu vực 2 bên vùng a-mi-đan và thành sau họng để lấy được dịch và tế bào vùng họng.
- Đặt que lấy mẫu vào ống chứa môi trường vận chuyển
- Bỏ cán phù hợp với độ dài của ống.
- Đóng nắp, xiết chặt, bọc ngoài bằng giấy parafin



Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Mẫu ngoáy dịch mũi

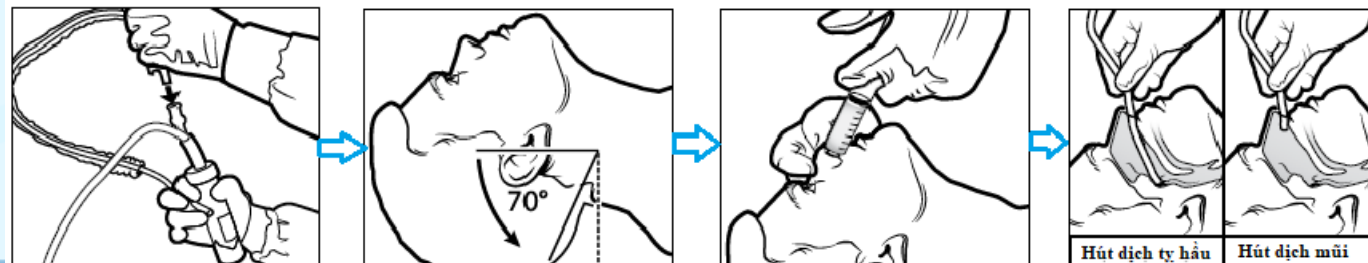
- Nghiêng đầu bệnh nhân ra sau khoảng 70 độ
- Nhẹ nhàng que lấy mẫu vào mũi sâu khoảng 2 cm, xoay que lấy mẫu vào thành mũi trong khoảng 3 giây. Xoay miết nhiều vòng vào thành mũi
- Sau khi lấy xong 1 bên mũi thì dùng đúng que lấy mẫu này để lấy mẫu với mũi còn lại.
- Đặt que lấy mẫu vào ống chứa môi trường vận chuyển
- Bỏ cán phù hợp với độ dài của ống.
- Đóng chặt nắp, xiết chặt, bọc ngoài bằng giấy paraffin.



Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Dịch rửa mũi/ty hầu

- Gắn ống catheter hút vô trùng vào dụng cụ hút
- Nghiêng đầu bệnh nhân ra sau khoảng 70 độ
- Nhỏ vài giọt muối sinh lý vô trùng vào trong mỗi bên mũi
- Đưa ống catheter vào mũi (ống nên vào sâu bằng khoảng cách từ cánh mũi đến dái tai)
- Bắt đầu hút 1 cách nhẹ nhàng.
- Từ từ lấy ống catheter ra, vừa lấy ra vừa xoay nhẹ nhàng
- Cho mẫu vào trong ống chứa môi trường vận chuyển



Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Dịch súc họng

- Bệnh nhân súc họng với 10 ml dung dịch rửa (nước muối sinh lý).
- Dịch súc họng được thu thập vào cốc hoặc đĩa petri và pha loãng theo tỷ lệ 1:2 trong môi trường bảo quản vi rút.

Dịch nội khí quản

- Bệnh nhân đặt nội khí quản.
- Dùng 1 ống hút dịch, đặt theo đường nội khí quản và dùng bơm tiêm hút dịch.
- Cho dịch nội khí quản vào tuýp chứa môi trường bảo quản vi rút.

Kỹ thuật lấy bệnh phẩm

Mẫu máu

- Sử dụng bơm kim tiêm vô trùng lấy 3-5ml máu tĩnh mạch, chuyển vào tuýp không có chất chống đông, tách huyết thanh.



Lấy mẫu máu

Tách lấy huyết thanh

Bảo quản bệnh phẩm

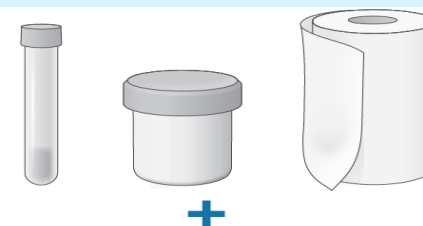
- Sau khi lấy mẫu được bảo quản bảo quản tại 2-8°C và chuyển tới phòng xét nghiệm trong vòng 48 giờ
- Vận chuyển đến PXN sau 48 giờ: bảo quản tại -70°C
- Không bảo quản tại ngăn đá của tủ lạnh hoặc -20°C.

Đóng gói bệnh phẩm

Theo Tổ chức Y tế thế giới và thông tư 40/2018/TT BYT
về quản lý mẫu bệnh phẩm

Theo nguyên
tắc 3 lớp

Lớp thứ 1



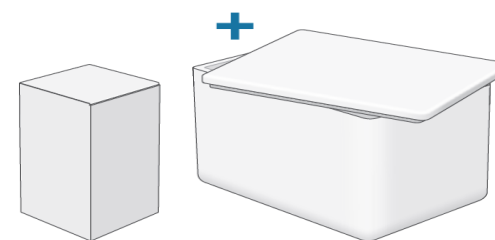
+

Lớp thứ 2



+

Lớp thứ 3

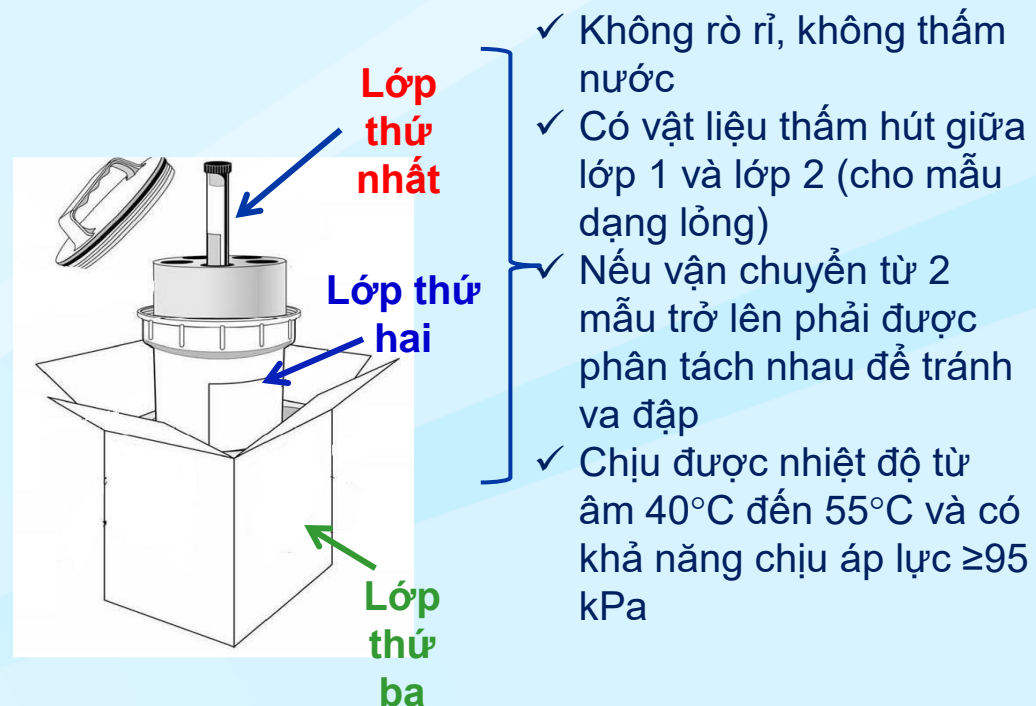


Tham khảo đóng gói chất **lây nhiễm loại B** theo thông tư 40/2018/TT BYT
về quản lý mẫu bệnh phẩm

Đóng gói bệnh phẩm

Theo nguyên tắc đóng gói 3 lớp:

- **Lớp thứ nhất:** là vật chứa mẫu như tuýp, chai, lọ đựng mẫu
- **Lớp thứ hai:** dùng để bảo vệ lớp thứ nhất
- **Lớp thứ ba (ngoài cùng):** Bao quanh lớp thứ hai, bảo vệ các lớp và các vật liệu khác (chất làm lạnh) bên trong khỏi bị ảnh hưởng của điều kiện bên ngoài trong quá trình vận chuyển



Các dụng cụ cần thiết đóng gói mẫu

- Giấy thấm
- Túi ni lông có khóa zip hoặc hộp nhựa tròn
- Gel tích lạnh
- Thùng xốp hoặc thùng nhựa



Ví dụ: Đóng gói mẫu bệnh phẩm



Vận chuyển bệnh phẩm

- Thông báo cho PXN ngày gửi và thời gian dự định bệnh phẩm sẽ tới PXN.
- Bệnh phẩm được vận chuyển tới PXN bằng đường bộ hoặc đường không càng sớm càng tốt.
- Tránh để ống bệnh phẩm bị đổ, vỡ trong quá trình vận chuyển.
- Nếu mẫu đang bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C thì khi vận chuyển tới PXN cũng bảo quản 2-8°C
- Nếu mẫu đang bảo quản ở -70 °C thì khi vận chuyển tới PXN cũng phải giữ đông băng, tránh quá trình đông tan băng nhiều lần, làm giảm chất lượng của bệnh phẩm.

Lưu ý khi đóng gói và vận chuyển mẫu

- Tuân thủ đúng hướng dẫn, thời gian, nhiệt độ quy định.
- Tránh làm hỏng mẫu, mất mẫu, và tránh làm mẫu bị nhiễm trùng.
- Tránh nhiễm giữa các mẫu với nhau, tránh phơi nhiễm người với mẫu và tránh gây nhiễm môi trường.
- Các giấy tờ về mẫu (phiếu yêu cầu xét nghiệm, thông tin về mẫu bệnh phẩm, danh sách mẫu bệnh phẩm...) phải được cho vào túi nylon riêng và tránh tiếp xúc với bệnh phẩm.

Xử lý rác thải sau khi lấy mẫu

- Toàn bộ trang phục bảo hộ: cho vào túi ny lông chuyên dụng dùng cho rác thải y tế có khả năng chịu được nhiệt độ cao, cùng với các dụng cụ bẩn (sử dụng găng tay và khẩu trang mới).
- Buộc chặt và sấy ướt tại nhiệt độ 120°C/30 phút trước khi loại bỏ cùng với rác thải y tế khác hoặc có thể đốt tại lò rác bệnh viện tuyến huyện.
- Rửa tay xà phòng và tẩy trùng bằng chloramin 0,1% toàn bộ các dụng cụ và khu vực lấy mẫu; phích lạnh dùng cho vận chuyển bệnh phẩm đến phòng xét nghiệm.

Các phương thức gộp mẫu (pool)

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

1

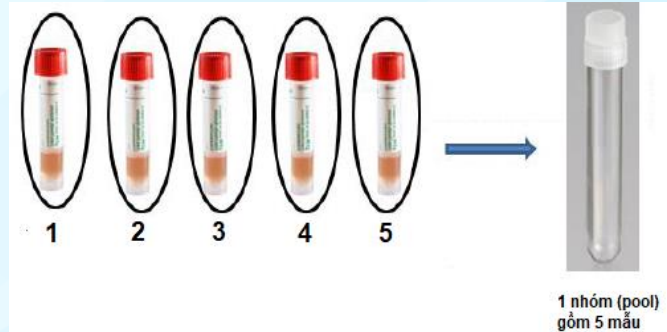
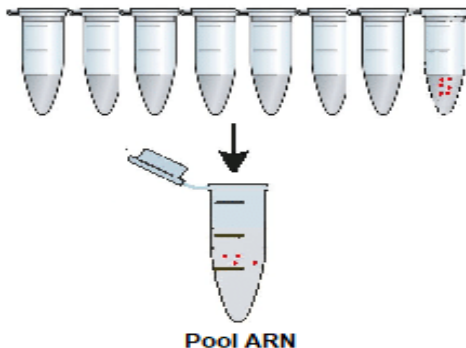
Gộp mẫu từ việc hút một lượng mẫu nhất định từ ống môi trường có chứa que lấy mẫu riêng lẻ của các đối tượng khác nhau cho vào một ống.

2



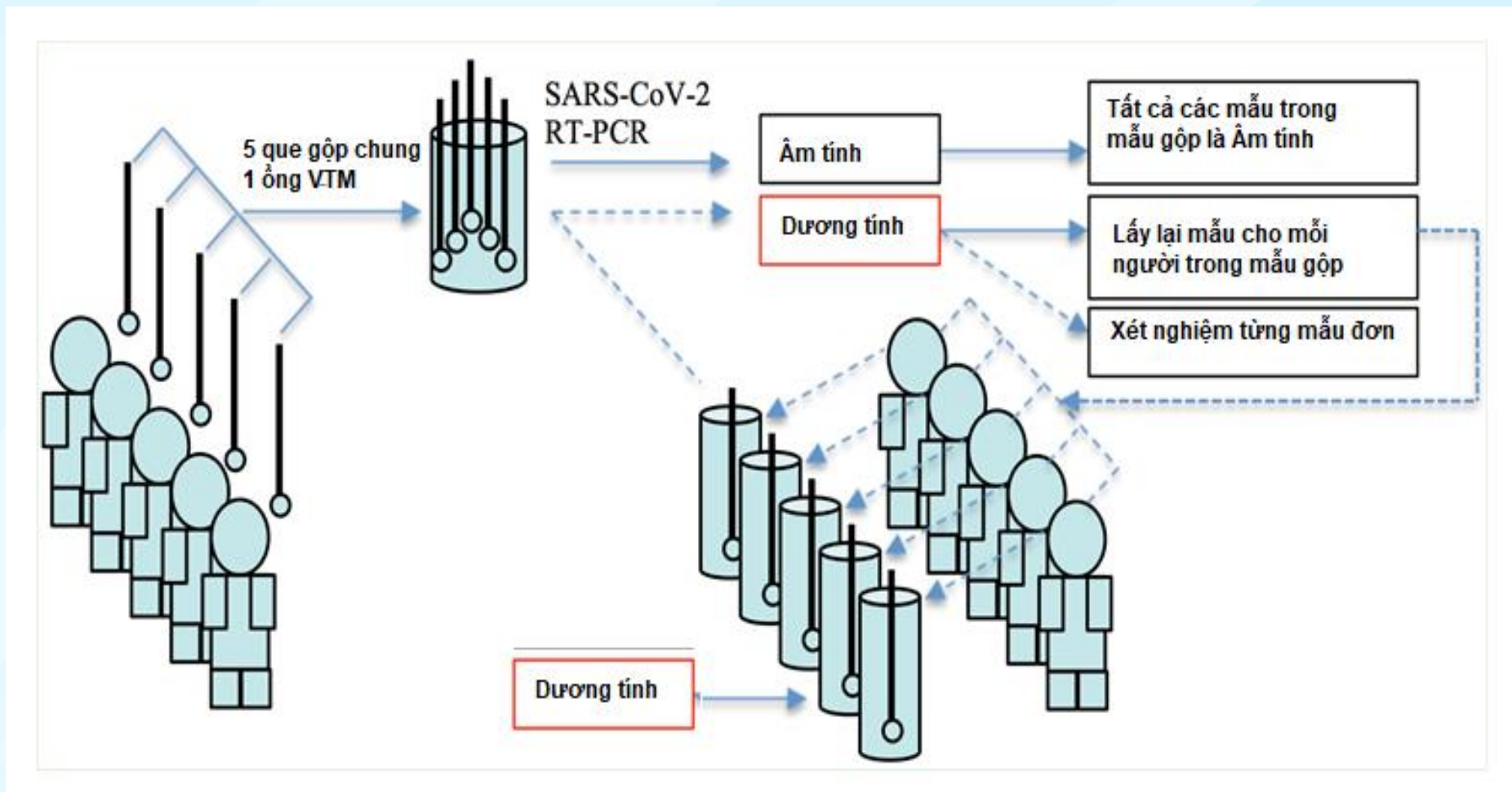
3

Gộp ARN của từng đối tượng đơn lẻ vào một ống



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

Ví dụ gộp que (pool 5)



Chuẩn bị trước khi gộp

- Ghi vào bên ngoài của ống bệnh phẩm gộp mã số mẫu bệnh phẩm
- Lập sơ đồ danh sách mẫu gộp, ghi lại những mẫu nào được gộp lại với nhau để tạo thành 1 pool

Thực hiện gộp mẫu khi nào?

- Phương pháp gộp mẫu sẽ không hiệu quả cho tất cả tình huống và **chỉ nên áp dụng tại các khu vực có tỷ lệ nhiễm COVID-19 thấp hoặc trong những nhóm người có tỷ lệ dương tính thấp**

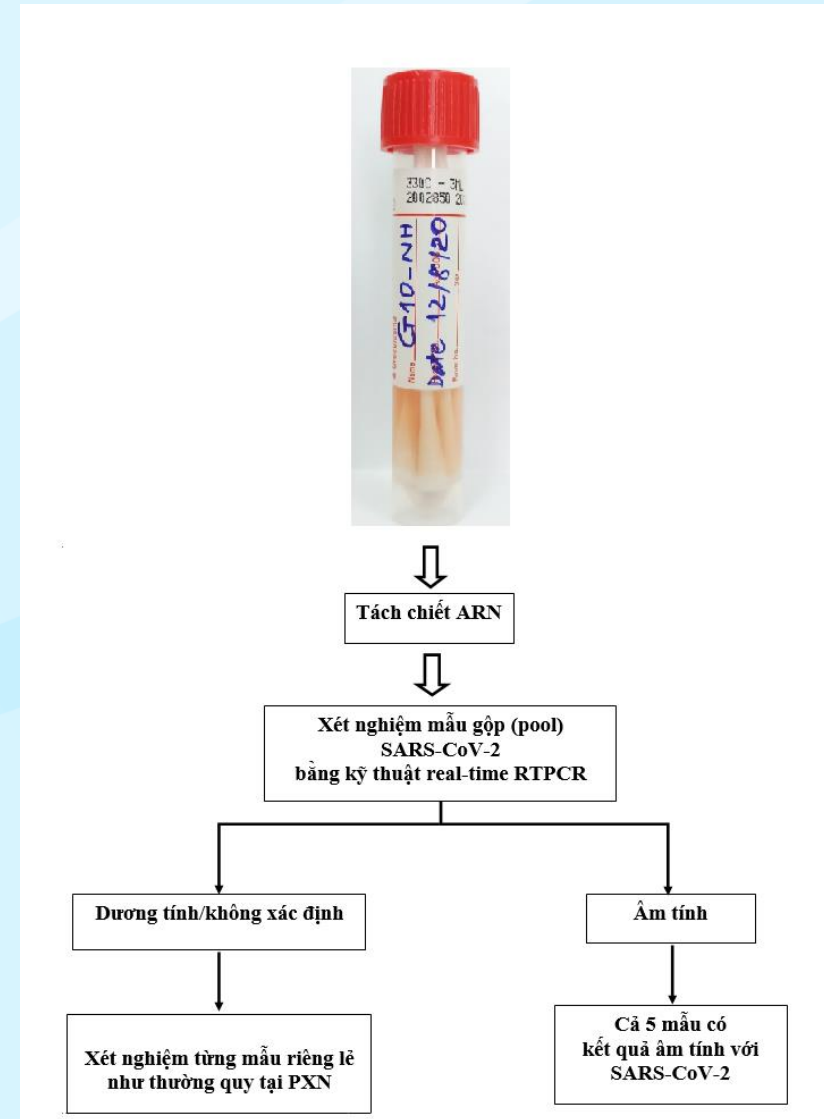
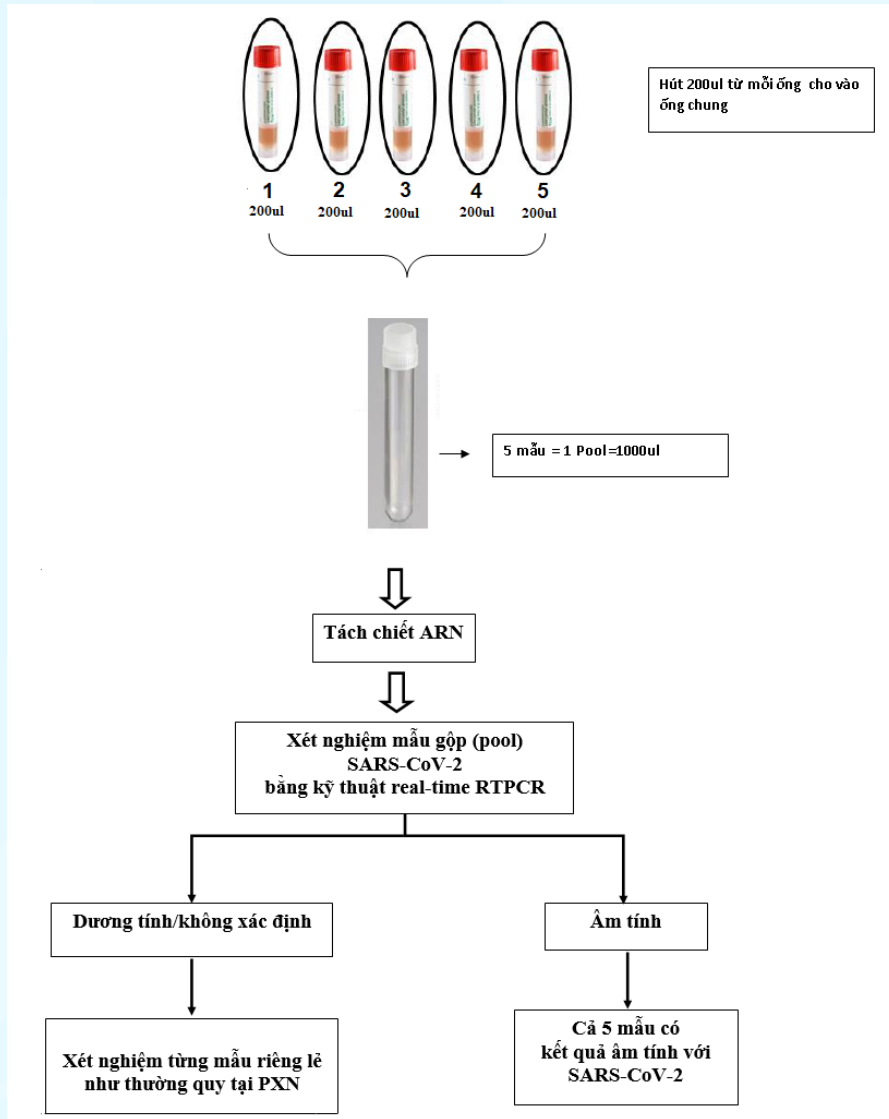
Phân loại nguy cơ	Cân nhắc Phương pháp gộp mẫu *
Phơi nhiễm	Những người không phơi nhiễm hoặc tiếp xúc với ca xác định COVID-19
Triệu chứng	Những người KHÔNG có triệu chứng liên quan đến SARS-CoV-2
Tuổi hoặc có các bệnh nền	Những người KHÔNG có các yếu tố nguy cơ mắc các bệnh nặng (các yếu tố nguy cơ như ≥ 65 tuổi hoặc HOẶC đang có bệnh nền HOẶC suy giảm miễn dịch)
Tình hình dịch tễ ở các nơi đã được xác định	Những người có các triệu chứng hoặc phơi nhiễm với ca xác định COVID-19 tại các khu vực có tỷ lệ nhiễm thấp

- Phương pháp gộp mẫu nên được cân nhắc cùng với nguồn lực sẵn có*

1. U.S. Food and Drug Administration. Molecular Diagnostic Template for Commercial Manufacturers. Version July 28, 2020.

2. CDC. Interim Guidance for Use of Pooling Procedures in SARS-CoV-2 Diagnostic, Screening, and Surveillance Testing <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/pooling-procedures.html> (accessed Aug 11, 2020).

Tóm tắt: Sơ đồ gộp mẫu



Tài liệu tham khảo

❖ Tiếng Việt

1. Quyết định 486/QĐ- BYT ngày 19/2/2020, Hướng dẫn dự phòng và kiểm soát lây nhiễm bệnh viêm đường hô hấp cấp do vi rút corona 2019 trong các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh
2. Quyết định 3468/QĐ-BYT ngày 7/8/2020, Hướng dẫn tạm thời giám sát và phòng, chống COVID-19

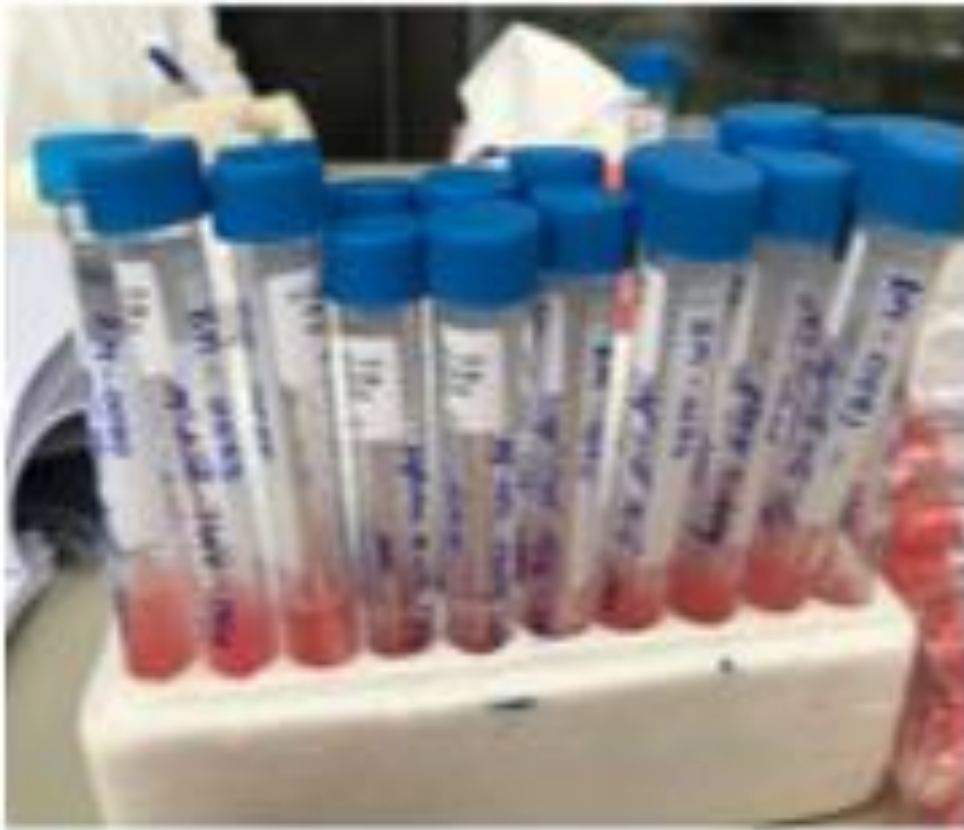
❖ Tiếng Anh

1. U.S CDC, Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>
2. WHO, Laboratory testing interim guidance Diagnostic testing for SARS-CoV-2 has been updated (as of 11 September 2020).
<https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>.

Không dùng que lấy mẫu có cán gỗ và đầu que bằng bông



Một số hình ảnh thực tế



Các mẫu xét nghiệm.



Quy trình sản xuất thu công tác bông cần mềm và thuyên

Một số hình ảnh thực tế



Một số hình ảnh thực tế chưa phù hợp



Một số hình ảnh thực tế chư phù hợp



Một số hình ảnh thực tế chư phù hợp



