

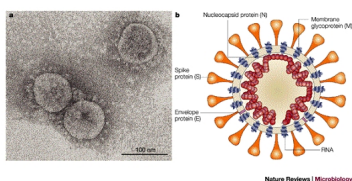
Xét nghiệm PCR chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2

Viện Vệ sinh và Biên giới

Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:10 - Lần cập nhật cuối Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:28

Bs Trần Ngọc Thanh Khoa Loạn

Nhanh chóng xác định và cách ly các cá nhân bệnh nhân mang tính sống còn trong việc kiểm soát dịch bệnh. Chẩn đoán ca nhiễm dựa trên các triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm và hình ảnh học. Vì các triệu chứng và hình ảnh học của COVID-19 là không đặc hiệu, chẩn đoán xác định nhiễm SARS-CoV-2 phải dựa trên các kỹ thuật phân tử như chuỗi phản ứng polymerase dựa trên axit nucleic (polymerase chain reaction – PCR), khuếch đại miễn dịch gen di truyền của virus. Trong bối cảnh hiện tại, không xét nghiệm nào được khuyến cáo chi phí cao. Điều quan trọng là bệnh nhân nên được xét nghiệm nếu có triệu chứng lâm sàng làm thay đổi việc quản lý. Chứng minh, việc xét nghiệm là không cần thiết trong các trường hợp sau:



Hình ảnh virus SARS-COV -2

Những người tiếp xúc gần đã tiếp xúc với những người bệnh vào một vài ngày trước, có những triệu chứng như sốt, mệt mỏi và sống một mình. Họ không cần xét nghiệm PCR, thậm chí ngay cả khi bắt đầu. Họ sẽ tiếp tục cách ly tại nhà, báo ngay nếu có triệu chứng, cách ly ít nhất trong 14 ngày sau khi các triệu chứng khởi phát. Xét nghiệm chỉ hữu ích để làm rõ liệu những người tiếp xúc này có thể làm việc trong bệnh viện hoặc tại các cơ sở chăm sóc sức khỏe khác sau thời gian cách ly. Một vài ngày yêu cầu có ít nhất 1 xét nghiệm âm tính (phát hiện mầm bệnh) trước khi quay trở lại làm việc (thêm vào đó là ít nhất 48 giờ không còn triệu chứng).

Một số triệu chứng như sốt, mệt mỏi, đau nhức cơ thể và đau họng. Vì

Xét nghiệm PCR chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2

Viết bởi Biên tập viên

Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:10 - Lần cập nhật cuối Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:28

dù sao họ vẫn phải cách ly, xét nghiệm và truy vết họ này là không cần thiết.

Một gia đình 4 người có nguy cơ nhiễm chủ yếu hình thức COVID-19. Xét nghiệm chủ yếu cho kết quả âm tính (có triệu chứng) là đủ. Nếu kết quả dương tính, không cần thiết phải xét nghiệm hết tất cả những người trong gia đình, miễn là họ ở nhà.

Những quy định như vậy không được trao đổi với bệnh nhân, đặc biệt là những người sợ hãi và lo lắng.

Tuy nhiên, trong những tình huống khác, xét nghiệm phải được thực hiện ngay lập tức và lập tức nếu cần thiết, đặc biệt là đối với nhân viên y tế có triệu chứng, cũng như cho truy vết họ tại các vị trí đông người, để phát hiện và dập tắt càng nhanh càng tốt.

Mặc dù các khuyến cáo được cập nhật liên tục bởi các cơ quan chức năng và các hình thức y tế quốc gia, với việc ai nên được xét nghiệm và thực hiện xét nghiệm bởi ai và khi nào: các khuyến cáo này liên tục thay đổi và phải liên tục cập nhật thích hợp với tình hình dịch tại địa phương. Với tất cả những biện pháp đang thực hiện khả năng xét nghiệm gia tăng, nhiều bệnh nhân chức năng sẽ có thể được xét nghiệm trong thời gian lại, và chế độ xét nghiệm sẽ được mở rộng.

Xét nghiệm PCR (polymerase chain reaction), phản ứng chuỗi polymerase dựa trên axit nucleic

Hiện nay đã có nhiều bộ kit xét nghiệm khác nhau dựa trên kỹ thuật qPCR, cho việc phát hiện virus, các phòng thí nghiệm trên toàn thế giới đã đi đầu chủ yếu các xét nghiệm PCRs cho SARS-CoV-2 dựa qua việc sử dụng các đơn vị khác nhau nhúng vào các phần khác nhau của trình tự gen virus. Một bài đánh giá (review) về các xét nghiệm và thiết bị chẩn đoán khác nhau đã được công bố gần đây ([Loeffelholz 2020](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-SARS-CoV-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2)). Một quy trình thực hiện real-time PCR để phát hiện SARS-CoV-2 cho hai mục tiêu RdRp (IP2 và IP4) được mô tả tại https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-SARS-CoV-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2

Các xét nghiệm RT-PCR dựa vào RNA polymerase phụ thuộc RNA (RdRp)/helicase,

Xét nghiệm PCR chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2

Viết bởi Biên tập viên

Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:10 - Lần cập nhật cuối Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:28

protein gai (spike) và nucleocapsid của SARS-CoV-2 có thể giúp chẩn đoán COVID-19 trong phòng xét nghiệm. So với xét nghiệm RdRp-P2 được báo cáo đã được sử dụng ở hầu hết các phòng thí nghiệm ở Châu Âu, các xét nghiệm này không phân biệt chéo với SARS-CoV trong nuôi cấy tế bào, có thể nhạy và được hiệu chỉnh ([Chan JF 2020](#)).

Nguy cơ phát hiện của sáu bộ xét nghiệm PCR thông minh khác nhau đáng kể (chênh lệch có thể lên tới 16 lần), với nguy cơ phát hiện kém nhất có thể dẫn đến kết quả âm tính giả khi RT-PCR được sử dụng để phát hiện nhiễm SARS-CoV-2 ([Wang X 2020](#)). Theo các tác giả, các nhà sản xuất nên phân tích các vấn đề hiện có theo đúng hướng trên lâm sàng và chẩn đoán hiện nay của sản phẩm của họ.

PCR định tính

Một xét nghiệm PCR định tính (cho kết quả “định tính” hoặc “âm tính”) thông thường là được trong chẩn đoán thông thường. Kết quả định tính giả là rất hiếm. Tuy nhiên, vẫn có thể xảy ra. Mặc dù đã chuyên biệt của các xét nghiệm này khi được phân tích thông thường là 100%, đã chuyên biệt trên lâm sàng thông thường thấp hơn, do có sự nhiễm bẩn (một vấn đề đáng kể đối với các quy trình NAT) và/hoặc lỗi của con người trong quá trình xử lý mẫu hoặc do lỗi (rất khó để loại bỏ hoàn toàn). Thông thường, xét nghiệm huyết thanh (xem bên dưới), các kết quả định tính giả này sẽ không đáng kể khi tiến hành nhiễm của bệnh thông thường (Andrew Cohen, ý kiến cá nhân).

Một vấn đề khác của bất kỳ phương pháp PCR định tính là việc âm tính giả với rất nhiều nguyên nhân khác nhau. Lỗi lấy mẫu từ thời gian sớm, nhiễm chéo trong phòng thí nghiệm cũng xảy ra. Khi xem xét 7 nghiên cứu với tổng số 1330 mẫu từ phòng hộ hộ, các tác giả đã ước tính tỷ lệ RT-PCR âm tính giả theo ngày kể từ khi nhiễm bệnh. Trong 4 ngày trước khi phát triển bệnh, tỷ lệ giảm từ 100% xuống 67%. Vào ngày khởi phát bệnh (ngày 5), tỷ lệ này là 38%, giảm xuống 20% (ngày 8) và sau đó bắt đầu tăng trở lại, từ 21% (ngày 9) lên 66% (ngày 21). Nếu lâm sàng gợi ý nghi ngờ, không nên loại trừ nhiễm bệnh chỉ dựa vào kết quả RT-PCR đơn lẻ. Tỷ lệ âm tính giả thấp nhất trong vòng 3 ngày sau khi xuất hiện triệu chứng, hoặc khoảng 8 ngày sau khi khởi phát nhiễm ([Kucirka 2020](#)).

Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng những bệnh nhân không có triệu chứng cũng có kết quả PCR định tính và có thể lây truyền virus ([Bai 2020](#), [Cereda 2020](#), [Rothe 2020](#)). Số phát tán virus có thể bắt đầu từ 2 đến 3 ngày trước khi xuất hiện các triệu chứng đầu tiên. Phân tích tổng cộng 414 mẫu bệnh phẩm vùng họng ở 94 bệnh nhân, tỷ lệ nhiễm virus cao nhất được tìm thấy từ thời điểm khởi phát triệu chứng. Lây nhiễm bắt đầu từ 2.3 ngày (KTC 95%, 0.8-3.0 ngày) trước

Xét nghiệm PCR chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2

Viết bởi Biên tập viên

Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:10 - Lần cập nhật cuối Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:28

khi khởi phát triệu chứng và đợt bùng phát ở 0.7 ngày trước khi khởi phát triệu chứng ([He 2020](#))

). Số lây nhiễm được tính số ngày nhanh chóng trong vòng 7 ngày.

Trong một nghiên cứu đoàn hệ gồm 113 bệnh nhân có triệu chứng, thời gian phát hiện trung bình của SARS-CoV-2 RNA là 17 ngày (dao động từ 13-22 ngày), được đo từ khi bắt đầu bệnh. Một số bệnh nhân, PCR còn dương tính lâu hơn: nam giới và bệnh nhân (thể máy xâm lấn) là các yếu tố nguy cơ để tiếp tục phát tán virus kéo dài ([Xu K 2020](#)).

Hiện đây các báo cáo ca bệnh về việc các bệnh nhân có kết quả dương tính sau khi nhiễm PCR âm tính và phác họa về lâm sàng, đã liên tục được chú ý của truy cập thông, ([an 2020](#))

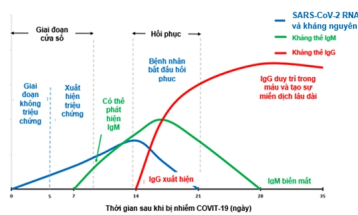
[Xiao AT 2020](#)

[Yuan 2020](#)

). Nghiên cứu này đưa ra câu hỏi về việc tái kích hoạt hoặc tái nhiễm COVID-19 (xem bên dưới, chương lâm sàng). Hiện tại, kết quả có nhiễm khuẩn do các vấn đề về phương pháp ([Li 2020](#))

). Nguyên do virus tái phát, được biết là trong những ngày cuối của đợt nhiễm trùng, thời gian virus có thể dao động và đôi khi có thể phát hiện được, đôi khi không ([Wolfel 2020](#))

). Việc tái kích hoạt, hay tái nhiễm nhanh chóng (sau khi khởi bệnh) số rất bất thường đối với coronavirus.



Hình 1: Mô hình thời gian của các dấu hiệu giúp chẩn đoán SARS-CoV-2

Đánh giá kỹ thuật chẩn đoán virus, RT-qPCR (Real-time quantitative polymerase chain reaction)

Xét nghiệm PCR chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2

Viết bởi Biên tập viên

Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:10 - Lần cập nhật cuối Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:28

Nhiều nghiên cứu đã đánh giá tải lượng virus SARS-CoV-2 trong các mẫu bệnh phẩm khác nhau. Trong một nghiên cứu trên cộng đồng, tải lượng virus trong mẫu phát hiện từ mũi và họng thu được từ 17 bệnh nhân có triệu chứng được phân tích và mức độ liên quan đến ngày khởi phát của bệnh từ triệu chứng ([Zou 2020](#)). Đáng lưu ý, tải lượng virus được phát hiện ở bệnh nhân không có triệu chứng từ bệnh nhân có triệu chứng, điều này gợi ý khả năng truyền bệnh của bệnh nhân không hoặc có ít triệu chứng.

Trong một nghiên cứu khác trên 82 người nhiễm bệnh, tải lượng virus trong mẫu phát hiện và đàm cao nhất vào khoảng 5 – 6 ngày sau khi xuất hiện triệu chứng, từ khoảng 79,900 bản sao/ml ở họng đến 752,000 bản sao/ml trong đàm ([Pan 2020](#)). Trong một nghiên cứu trên các mẫu nước bọt họng, không giống như SARS, bệnh nhân mắc COVID-19 có tải lượng virus cao nhất lúc khởi phát triệu chứng, điều này có thể gợi ý thích cho tính chất lây lan nhanh của dịch này ([To 2020](#)). Trong nghiên cứu này, giá trị trung bình của tải lượng virus trong nước bọt vùng họng họng sau hoc bệnh phẩm hô hấp khác tại thời điểm xuất hiện triệu chứng là 5.2 log₁₀ bản sao/ml (IQR 4.1-7.0). Trong tổng số 323 mẫu từ 76 bệnh nhân, tải lượng virus trung bình trong đàm (17,429 bản sao/xét nghiệm) cao hơn đáng kể so với mẫu bệnh phẩm họng (2,552 bản sao) và mẫu bệnh phẩm mũi (651 bản sao). Tải lượng virus ở giai đoạn đầu và giai đoạn tiến triển cao hơn so với giai đoạn phục hồi ([Yu 2020](#)).

) Theo một nghiên cứu được công bố gần đây, việc phát tán virus có thể đã bắt đầu từ 2-3 ngày trước khi xuất hiện các triệu chứng đầu tiên và cách thức lây nhiễm có thể gần giống với bệnh cúm hơn so với SARS.

Tải lượng virus cao hơn có thể liên quan đến tiến độ bệnh nặng trên lâm sàng. Trong một nghiên cứu đánh giá các mức độ của các mẫu từ 21 trường hợp bệnh nhẹ và 10 trường hợp bệnh nặng ([Liu 2020](#)), các trường hợp nhẹ được phát hiện có thể thanh thoi virus sớm, với 90% bệnh nhân này liên tục cho kết quả âm tính với RT-PCR từ ngày thứ 10 kể từ khi khởi phát triệu chứng. Ngược lại, tất cả các trường hợp bệnh nặng vẫn còn dương tính tại hoc sau ngày thứ 10 kể từ khi khởi phát triệu chứng hoc sau đó. Tuy nhiên, cần thêm các thử nghiệm lâm sàng, tiến cứu để đánh giá vai trò của tải lượng virus SARS-CoV-2 như một dấu hiệu để đánh giá mức độ nghiêm trọng và tiên lượng bệnh.

Chúng ta có nên đo tải lượng virus? Đúng hay không là có. Đo tải lượng virus có thể hữu ích trong thực hành lâm sàng. Kết quả RT-qPCR (Real-time quantitative polymerase chain reaction) dương tính có thể không nhất thiết có nghĩa là người đó vẫn đang nhiễm bệnh hay có khả năng lây bệnh. RNA có thể là xác virus và/hoc lượng virus sớm có thể quá thấp để truy cập

Xét nghiệm PCR chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2

Viết bởi Biên tập viên

Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:10 - Lần cập nhật cuối Thứ sáu, 07 Tháng 1 2022 10:28

bệnh. RT-qPCR được thông qua cách: đưa tiền phiên mã ngược RNA sang DNA, sau đó thực hiện qPCR trong đó tín hiệu huỳnh quang tăng theo số lượng axit nucleic được khuếch đại. Kết quả được tính dựa trên huỳnh quang để tìm kiếm xác định trong một số chu kỳ PCR (giá trị Ct, tương quan nghịch với tải lượng virus). Nhiễm nghiệm qPCR số dựa trên giá trị Ct là 40, cho phép phát hiện nhiễm rất nhỏ phân tử RNA. Một số chuyên gia (Tom 2020) đề nghị số dựa trên giá trị Ct này hoặc để tính tải lượng virus có thể giúp tinh chỉnh quá trình ra quyết định (cách ly người nhiễm, v.v.). Thật không may, vẫn có sự khác biệt lớn cũng như chất lượng quản lý các dữ liệu công chúng để tính toán từ các nghiên cứu cung cấp các giá trị Ct từ các mẫu pha loãng nhiễm tiếp và tải lượng virus được tính. Theo các chuyên gia khác, cần thận trọng trước khi diễn giải các giá trị Ct của kết quả RT-PCR SARS-CoV-2 được thực hiện trong các báo cáo về COVID-19 để tránh hiểu sai về đáng lo ngại hoặc có virus khi so sánh giữa các nghiên cứu khác nhau (Han 2020).

Tài liệu tham khảo

1. Dịch từ https://covidreference.com/diagnosis_vn