

Số: /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày tháng năm 2021

QUYẾT ĐỊNH**Ban hành hướng dẫn tạm thời việc gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2****BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ**

Căn cứ Nghị định số 75/2017/NĐ-CP ngày 20/6/2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Y tế dự phòng, Bộ Y tế,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này “Hướng dẫn tạm thời việc gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2”.

Điều 2. “Hướng dẫn tạm thời việc gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2” là tài liệu hướng dẫn được áp dụng tại các cơ sở y tế dự phòng và khám, chữa bệnh trên toàn quốc.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành; thay thế Quyết định số 3486/QĐ-BYT ngày 07/8/2020 của Bộ Y tế về việc ban hành “Hướng dẫn tạm thời việc gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2” và Công văn số 871/BYT-DP ngày 05/2/2021 của Bộ Y tế hướng dẫn bổ sung gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2.

Điều 4. Các Ông, Bà: Chánh Văn phòng Bộ, Vụ trưởng, Cục trưởng, Tổng Cục trưởng các Vụ, Cục, Tổng cục thuộc Bộ Y tế; Viện trưởng Viện Vệ sinh dịch tễ, Viện Pasteur, Giám đốc các bệnh viện trực thuộc Bộ Y tế; Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương; Thủ trưởng y tế các Bộ, ngành và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- PTTg. Vũ Đức Đam (để báo cáo);
- BT. Nguyễn Thanh Long (để báo cáo);
- Các thành viên BCĐQG Phòng chống dịch COVID-19;
- Các đồng chí Thứ trưởng;
- Công TTĐT Bộ Y tế;
- Lưu: VT, DP.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG****Trần Văn Thuấn**

HƯỚNG DẪN TẠM THỜI

VIỆC GỘP MẪU XÉT NGHIỆM SARS-CoV-2

(Ban hành kèm theo Quyết định số /BYT-DP ngày /03/2021 của Bộ Y tế)

I. ĐẶC ĐIỂM CHUNG

COVID-19 là bệnh truyền nhiễm cấp tính thuộc nhóm A do vi rút SARS-CoV-2 gây ra, lây truyền từ người sang người và có thời gian ủ bệnh trong khoảng 14 ngày. Người mắc bệnh có triệu chứng viêm đường hô hấp cấp tính như: sốt, ho, đau họng, khó thở, có thể dẫn đến viêm phổi nặng, suy hô hấp cấp và tử vong, đặc biệt ở những người có bệnh lý nền, mạn tính, người cao tuổi. Có một tỷ lệ cao người nhiễm vi rút SARS-CoV-2 không có biểu hiện lâm sàng (40-50%) và có thể là nguồn lây trong cộng đồng, gây khó khăn cho việc giám sát và phòng chống dịch. Đến nay, bệnh chưa có thuốc điều trị đặc biệt và vắc xin phòng bệnh.

Tính đến ngày 25/3/2021, thế giới đã ghi nhận khoảng 120 triệu trường hợp mắc COVID-19 tại 221 quốc gia, vùng lãnh thổ với hơn 2,7 triệu trường hợp tử vong. Tại Việt Nam ghi nhận hơn 2.500 trường hợp mắc COVID-19, 35 trường hợp tử vong. Hiện nay cả nước có 157 phòng xét nghiệm có năng lực xét nghiệm phát hiện SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR với 101 phòng có thể xét nghiệm khẳng định, đã xét nghiệm được hơn 2 triệu mẫu bệnh phẩm, trong đó xác định 2.572 mẫu dương tính với vi rút SARS-CoV-2. Tỷ lệ phát hiện dương tính với vi rút khoảng 0,1%.

Để sử dụng nguồn lực, sinh phẩm, hóa chất, vật tư xét nghiệm hiệu quả, kịp thời, đáp ứng công tác giám sát, phòng chống dịch, Bộ Y tế đã ban hành Kế hoạch xét nghiệm phát hiện nhiễm SARS-CoV-2 trong giai đoạn dịch COVID-19 tại Quyết định số 4042/QĐ-BYT ngày 21/9/2020, Hướng dẫn tạm thời về việc gộp mẫu xét nghiệm SARS-CoV-2 tại Quyết định số 3486/QĐ-BYT ngày 07/8/2020 và Công văn số 871/BYT-DP ngày 05/02/2021. Trong quá trình thực hiện, căn cứ tình hình thực tế, Bộ Y tế sẽ điều chỉnh, bổ sung các hướng dẫn tạm thời việc gộp mẫu.

II. MỤC TIÊU

- Hỗ trợ thực hiện giám sát dịch tễ đối với một hoặc nhiều nhóm quần thể;
- Chẩn đoán phát hiện mắc COVID-19;
- Tiết kiệm nguồn lực; giảm thời gian xét nghiệm, tăng công suất xét nghiệm SARS-CoV-2, đảm bảo chất lượng xét nghiệm và đảm bảo an toàn sinh học.

III. HƯỚNG DẪN LẤY MẪU, GỘP MẪU VÀ XÉT NGHIỆM

1. Nguyên tắc áp dụng

- Áp dụng trong thời gian có dịch COVID-19, thực hiện tại các phòng xét nghiệm COVID-19 đủ năng lực và có thể thực hiện được kỹ thuật này.

- Căn cứ tình hình dịch bệnh, sự lưu hành, tỷ lệ xét nghiệm dương tính, cơ sở xét nghiệm xem xét, quyết định lựa chọn hình thức gộp, số lượng gộp mẫu phù hợp sau khi đã đánh giá đảm bảo các giá trị chẩn đoán (độ nhạy, độ đặc hiệu)

- Sử dụng qui trình xét nghiệm Realtime RT-PCR để phát hiện vật chất di truyền (ARN) của SARS-CoV-2.

- Khi thực hiện giám sát dịch tễ tại cộng đồng đối với nhóm nguy cơ thấp hoặc không có triệu chứng.

Không áp dụng đối với:

+ Những trường hợp có triệu chứng, người tiếp xúc trực tiếp có nguy cơ cao.

+ Các mẫu bệnh phẩm thu thập từ người đã xét nghiệm chẩn đoán SARS-CoV-2 nhưng chưa có kết quả xác định.

+ Các mẫu bệnh phẩm thu thập từ bệnh nhân COVID-19 đang điều trị.

2. An toàn sinh học và đảm bảo chất lượng xét nghiệm

- Thực hiện tại phòng xét nghiệm bảo đảm điều kiện an toàn sinh học cấp II

- Các phòng xét nghiệm tự xây dựng qui trình thực hiện xét nghiệm gộp mẫu và đánh giá chất lượng xét nghiệm mẫu gộp tại đơn vị mình trước và trong quá trình triển khai gộp mẫu.

3. Sinh phẩm sử dụng xét nghiệm

Sử dụng sinh phẩm xét nghiệm đã được Bộ Y tế cho phép hoặc Tổ chức Y tế thế giới hoặc CDC Hoa Kỳ thẩm định và khuyến cáo.

4. Mẫu bệnh phẩm

4.1. Loại mẫu bệnh phẩm

- Mẫu ngoáy dịch tỵ hầu;

- Trong trường hợp không lấy được mẫu ngoáy dịch tỵ hầu thì có thể lấy mẫu ngoáy dịch họng.

Lưu ý: Mẫu được thu thập bởi các nhân viên đã được tập huấn về lấy mẫu bệnh phẩm

4.2. Phương pháp thu thập bệnh phẩm

a. Chuẩn bị dụng cụ

- Dụng cụ lấy mẫu ngoáy dịch tỵ hầu, mẫu ngoáy dịch họng cho xét nghiệm SARS-CoV-2 có cán không phải là calcium hay gỗ, tốt nhất là sử dụng que có đầu là sợi tổng hợp, không dùng cotton.

- Que đẽ lưỡi;

- Ống ly tâm hình chóp 15 ml (chứa 2-3 ml môi trường vận chuyển vi rút) để sử dụng trong trường hợp gộp dung dịch hoặc gộp 5 que mẫu bệnh phẩm;
- Ống Falcon 50 ml (chứa 5ml môi trường vận chuyển) để sử dụng trong trường hợp gộp 6-10 que mẫu vào một ống.
- Ống 15 ml sạch, vô trùng, không chứa môi trường;
- 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);
- Bình lạnh bảo quản mẫu.

b. Sử dụng phương tiện bảo hộ cá nhân

Tuân thủ nghiêm ngặt thao tác an toàn khi thực hành mặc, cởi phương tiện bảo hộ cá nhân theo quy định.

c. Thu thập mẫu bệnh phẩm: Theo hướng dẫn tại Quyết định số 3468/QĐ-BYT ngày 07/8/2020 của Bộ Y tế và các hướng dẫn liên quan.

5. Gộp mẫu bệnh phẩm

5.1 Các hình thức gộp mẫu

- Gộp dung dịch mẫu bệnh phẩm từ các ống môi trường chứa mẫu bệnh phẩm đơn: Lấy một thể tích mẫu nhất định từ các ống môi trường có chứa mẫu bệnh phẩm đơn vào chung một ống.

- Gộp que:

+ Gộp ngay các que mẫu bệnh phẩm khi lấy mẫu vào chung một ống môi trường vận chuyển.

+ Xem xét hình thức gộp này trong trường hợp các đối tượng lấy mẫu được đánh giá có cùng đặc điểm dịch tễ, nguy cơ thấp, ở cùng một địa điểm (ở cùng nhà, ở cùng trường học, ở cùng khu công nghiệp, ở cùng khu dân cư...).

5.2. Gộp dung dịch mẫu bệnh phẩm từ các ống môi trường chứa mẫu bệnh phẩm đơn (gộp dung dịch)

a. Gộp 5 mẫu bệnh phẩm

- Bước 1: Que mẫu bệnh phẩm được thu thập riêng biệt cho vào mỗi ống chứa 2-3 ml môi trường vận chuyển, lập danh sách mẫu để gộp 5 mẫu riêng biệt thành 1 nhóm (nhóm mẫu gộp), mỗi nhóm mẫu gộp được mã hoá riêng.

- Bước 2: Xếp từng nhóm mẫu theo thứ tự đã mã hoá.

- Bước 3: Trộn đều từng mẫu đơn đã được thu thập bằng máy votex (máy trộn mẫu).

- **Bước 4:**
 - + Chuyển 200 µl dung dịch của mỗi mẫu đơn trong nhóm 05 mẫu vào ống mẫu gộp (ống sạch vô trùng);
 - + Trộn đều mẫu gộp đã được thu thập bằng máy votex (máy trộn mẫu) trong khoảng 30 giây.
 - + Đóng chặt nắp ống mẫu gộp;
 - + Bảo quản các mẫu đơn trong nhóm (mẫu gốc) tại nhiệt độ 2 – 8⁰C trong vòng 72 giờ, sau 72 giờ bảo quản tại nhiệt độ -70⁰C.
- **Bước 5:** Tiến hành tách chiết vật liệu di truyền từ mẫu gộp và xét nghiệm mẫu gộp bằng phương pháp Realtime RT-PCR theo qui trình của phòng xét nghiệm.

b. Gộp từ 6-10 mẫu bệnh phẩm

- **Bước 1:** Mẫu bệnh phẩm sau khi đã được thu thập riêng biệt được cho vào ống chứa 2-3 ml môi trường vận chuyển và lập danh sách mẫu để gộp 6-10 mẫu thành 1 nhóm (nhóm mẫu gộp), mỗi nhóm mẫu gộp được mã hoá riêng.
- **Bước 2:** Xếp từng nhóm mẫu theo thứ tự đã mã hoá.
- **Bước 3:** Trộn đều từng mẫu đơn đã được thu thập bằng máy votex (máy trộn mẫu).
- **Bước 4:**
 - + Chuyển 100 µl dung dịch của mỗi mẫu đơn trong nhóm mẫu gộp vào ống mẫu gộp (ống sạch vô trùng);
 - + Trộn đều mẫu gộp đã được thu thập bằng máy votex (máy trộn mẫu) trong khoảng 2 phút;
 - + Đóng chặt nắp ống mẫu gộp.
 - + Bảo quản mẫu gộp tại phòng xét nghiệm tại nhiệt độ 2 – 8⁰C trong vòng 72 giờ, sau 72 giờ bảo quản tại nhiệt độ -70⁰C.
- **Bước 5:** Tiến hành tách chiết vật liệu di truyền từ mẫu gộp và xét nghiệm mẫu gộp bằng phương pháp Realtime RT- PCR theo qui trình của phòng xét nghiệm.

5.3. Gộp que mẫu bệnh phẩm ngay sau khi lấy mẫu (gộp que)

- a. Gộp 5 mẫu bệnh phẩm
 - **Bước 1:** Que lấy mẫu bệnh phẩm của từng đối tượng được cho vào cùng một ống có chứa 3 ml môi trường vận chuyển ngay sau khi lấy (05 que mẫu bệnh phẩm vào 1 ống môi trường vận chuyển), đảm bảo tất cả đầu que lấy mẫu ngập trong môi trường (mẫu gộp), lập danh sách từng đối tượng trong mẫu gộp, mỗi mẫu gộp được mã hóa riêng.
 - **Bước 2:** Đóng gói, bảo quản, vận chuyển mẫu gộp theo quy định.
 - **Bước 3:** Bảo quản nhóm mẫu gộp trong phòng xét nghiệm tại nhiệt độ 2 – 8⁰C trong vòng 72 giờ, sau 72 giờ bảo quản tại nhiệt độ -70⁰C.

- **Bước 4:** Tiến hành tách chiết vật liệu di truyền từ mẫu gộp và xét nghiệm mẫu gộp bằng phương pháp Realtime RT-PCR theo qui trình của phòng xét nghiệm.

b. Gộp từ 6-10 mẫu bệnh phẩm

- **Bước 1:** Que lấy mẫu bệnh phẩm của từng đối tượng được cho vào cùng một ống có chứa 5 ml môi trường vận chuyển (ống Falcon) ngay sau khi lấy (6-10 que mẫu bệnh phẩm vào 1 ống môi trường vận chuyển), đảm bảo tất cả đầu que lấy mẫu ngập trong môi trường (mẫu gộp), lập danh sách từng đối tượng trong mẫu gộp, mỗi mẫu gộp được mã hóa riêng.

Lưu ý: Ống chứa 5 ml môi trường vận chuyển chỉ áp dụng đối với mẫu bệnh phẩm là dịch ty hầu, trong trường hợp sử dụng mẫu ngoáy họng, phòng xét nghiệm tự đánh giá thể tích môi trường để đảm bảo chất lượng xét nghiệm.

- **Bước 2:** Đóng gói, bảo quản, vận chuyển mẫu gộp theo quy định.

- **Bước 3:** Tại phòng xét nghiệm, chuyển toàn bộ dung dịch môi trường của mẫu gốc sang ống mẫu riêng biệt sử dụng trang thiết bị (như Pipet Pasteur...) và phương pháp phù hợp (chuyển mẫu trong tủ an toàn sinh học cấp II) vào 01 ống riêng (mẫu gộp).

- **Bước 4:** Bảo quản nhóm mẫu gộp trong phòng xét nghiệm tại nhiệt độ 2 – 8°C trong vòng 72 giờ, sau 72 giờ bảo quản tại nhiệt độ -70°C.

- **Bước 5:** Tiến hành tách chiết vật liệu di truyền từ mẫu gộp và xét nghiệm mẫu gộp bằng phương pháp Realtime RT-PCR theo qui trình của phòng xét nghiệm.

6. Nhận định kết quả xét nghiệm

6.1. Gộp dung dịch

- Kết quả xét nghiệm mẫu gộp âm tính tức là tất cả các mẫu đơn trong nhóm gộp là âm tính và không cần thực hiện xét nghiệm tiếp.

- Kết quả xét nghiệm mẫu gộp dương tính tức là có ít nhất 01 mẫu trong nhóm gộp dương tính. Trong trường hợp này Phòng xét nghiệm cần thực hiện:

+ Báo cáo với đơn vị quản lý về kết quả xét nghiệm mẫu gộp dương tính để đánh giá nguy cơ và triển khai các biện pháp phòng chống dịch theo qui định.

+ Thực hiện xét nghiệm đối với từng mẫu bệnh phẩm đơn trong nhóm. Nếu có mẫu dương tính thì gửi mẫu đến phòng xét nghiệm khẳng định (nếu phòng xét nghiệm đó chưa được phép khẳng định) để xác nhận kết quả. Nếu không có mẫu dương tính thì lấy lại mẫu, thực hiện xét nghiệm lại theo quy trình thông thường đối với từng trường hợp, phiên giải kết quả và thực hiện các hoạt động báo cáo, phòng chống dịch theo qui định.

- Kết quả xét nghiệm mẫu gộp không rõ: thực hiện lại qui trình gộp mẫu và xét nghiệm mẫu gộp theo hướng dẫn tại điểm 5.2 tại khoản 5, Mục III của Hướng dẫn này.

6.2. Gộp que

- Kết quả xét nghiệm mẫu gộp âm tính tức là tất cả các mẫu đơn trong nhóm gộp là âm tính và không cần thực hiện lại xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm mẫu gộp dương tính tức là có ít nhất 01 mẫu trong nhóm gộp dương tính. Trong trường hợp này Phòng xét nghiệm cần thực hiện:

+ Báo cáo với đơn vị quản lý về kết quả xét nghiệm mẫu gộp dương tính để đánh giá nguy cơ và triển khai các biện pháp phòng chống dịch theo qui định.

+ Thực hiện lấy lại mẫu bệnh phẩm cho từng người trong nhóm và xét nghiệm từng mẫu bệnh phẩm đơn, phân giải kết quả như sau:

- Nếu mẫu đơn có kết quả dương tính thì kết luận dương tính hoặc gửi mẫu đến phòng xét nghiệm khẳng định (nếu phòng xét nghiệm đó chưa được phép khẳng định) để xác nhận kết quả.

- Nếu toàn bộ các mẫu đơn đều có kết quả âm tính hoặc không xác định thì tiếp tục thực hiện lấy lại mẫu bệnh phẩm cho từng người trong nhóm và xét nghiệm cho từng mẫu bệnh phẩm đơn.

7. Thông tin, báo cáo

Thực hiện việc thông tin báo cáo theo Hướng dẫn tạm thời giám sát và phòng, chống COVID-19 ban hành kèm theo Quyết định số 3468/QĐ-BYT ngày 07/8/2020 của Bộ Y tế và Thông tư số 54/2015/TT-BYT ngày 28 tháng 12 năm 2015 của Bộ Y tế hướng dẫn chế độ khai báo, thông tin, báo cáo bệnh truyền nhiễm.

IV. TỔ CHỨC THỰC HIỆN

- Các Viện Vệ sinh dịch tễ, Viện Pasteur chịu trách nhiệm hướng dẫn, tập huấn cho các đơn vị địa phương triển khai lấy mẫu, gộp mẫu và xét nghiệm mẫu gộp bảo đảm chất lượng và hiệu quả; báo cáo kết quả thực hiện cho Bộ Y tế.

- Ban chỉ đạo phòng chống dịch COVID-19 tỉnh, thành phố căn cứ tình hình dịch tễ, khả năng đáp ứng về cơ sở vật chất, trang thiết bị và nhân lực tại địa phương để chỉ đạo về việc gộp mẫu xét nghiệm.

- Các Trung tâm kiểm soát bệnh tật, các phòng xét nghiệm có đủ năng lực xét nghiệm COVID-19 chịu trách nhiệm lấy mẫu hoặc nhận mẫu, tiến hành gộp mẫu, thực hiện xét nghiệm và báo cáo theo qui định.

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG**

Trần Văn Thuấn

