

QUYẾT ĐỊNH

Ban hành Hướng dẫn tạm thời chuẩn bị môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm đường hô hấp dùng trong xét nghiệm phát hiện SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12, năm 2009;
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;
Xét đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này “Hướng dẫn tạm thời chuẩn bị môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm đường hô hấp dùng trong xét nghiệm phát hiện SARS-COV-2 bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR”.

Điều 2. “Hướng dẫn tạm thời chuẩn bị môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm đường hô hấp dùng trong xét nghiệm phát hiện SARS-COV-2 bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR được áp dụng tại các bệnh viện, cơ sở y tế trên toàn quốc.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Chánh Thanh tra Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý khám, chữa bệnh, Vụ trưởng, Cục trưởng, Tổng Cục thuộc Bộ Y tế, Thủ trưởng các đơn vị trực thuộc Bộ Y tế, Y tế các Bộ, ngành, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều 4;
- Phó thủ tướng CP Vũ Đức Đam (để b/c);
- Q. Bộ trưởng (để b/c);
- Các Thứ trưởng (để phối hợp);
- Lưu: VT, KCB.

**KT. BỘ TRƯỞNG
Y THỨ TRƯỞNG**



**Nguyễn Trường Sơn
Phó Trưởng Ban Chỉ đạo
Quốc gia phòng, chống dịch
Covid-19**

HƯỚNG DẪN TẠM THỜI CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG VẬN CHUYỂN MẪU BỆNH PHẨM ĐƯỜNG HÔ HẤP DÙNG TRONG XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN SARS-COV-2 BẰNG KỸ THUẬT REALTIME RT-PCR

(Ban hành kèm theo Quyết định số 4055 /QĐ-BYT ngày 23 tháng 9 năm 2020
của Bộ trưởng Bộ Y tế)

1. Mục đích

Hướng dẫn cách chuẩn bị các ống chứa môi trường bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm để xét nghiệm phát hiện SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật Real-Time RT-PCR.

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng tại các bệnh viện, cơ sở y tế có phòng xét nghiệm thực hiện xét nghiệm sàng lọc, khẳng định SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật Real-time RT-PCR. Căn cứ diễn biến của dịch bệnh COVID-19 hoặc khi không có đủ ống môi trường thương mại, lãnh đạo đơn vị xem xét áp dụng việc tự chuẩn bị ống chứa môi trường phục vụ xét nghiệm SARS-CoV-2.

3. Trách nhiệm

- Các nhân viên khoa/ phòng xét nghiệm, chuẩn bị ống môi trường vận chuyển vô trùng tại phòng xét nghiệm tuân thủ hướng dẫn này.
- Trưởng/phụ trách khoa/phòng xét nghiệm chịu trách nhiệm thực hiện và giám sát thực hiện.

4. Giải thích từ ngữ và chữ viết tắt

- Môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm (vi rút) là ống chứa dung dịch có tác dụng bảo quản vi rút trong quá trình vận chuyển.
- Trong Hướng dẫn này môi trường vận chuyển bao gồm các loại sau và được gọi chung là môi trường vận chuyển:
 - + Nước muối sinh lý là hỗn hợp giữa nước và natri clorua được pha chế với tỷ lệ 0,9% (NaCl 0,9%)
 - + Nước muối sinh lý có chứa dung dịch đệm phosphate;
 - + Môi trường vận chuyển là các sản phẩm thương mại đã được pha chế thành bán thành phẩm hoặc thành phẩm (tham khảo thành phần của môi trường tại Phụ lục 2).

5. Thiết bị, dụng cụ và nguyên vật liệu

- Tủ an toàn sinh học cấp 2 hoặc tủ sạch (bảo vệ cho các thao tác trong tủ)
- Pipette vô trùng có thể tích 10 mL -25 mL

- Pipette aid hoặc quả bóp
- Ống nhựa hình chóp vô trùng có nắp đậy kín, có thể tích 15 mL (ví dụ: ống Falcon)
- Nhãn dán thông tin trên ống nhựa
- Nước muối sinh lý vô trùng (natri clorua 0,9%) đã được pha sẵn dùng trong tiêm, truyền và đạt tiêu chuẩn chất lượng (không dùng nước muối sinh lý tự pha bởi các phòng xét nghiệm).
- Môi trường vận chuyển loại khác (nếu sử dụng môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm (vi rút) là các sản phẩm thương mại nếu có).

6. An toàn

- Tuân thủ theo quy định, quy trình an toàn của phòng xét nghiệm.

7. Nội dung thực hiện (đối với môi trường vận chuyển là natri clorua 0,9% vô trùng).

7.1. Chuẩn bị dụng cụ:

- Lấy một số lượng ống nhựa vô trùng (loại ống Falcon 15 ml hoặc tương đương) đã được tính toán và ghi nhãn trên ống các thông tin sau:
 - + Tên dung dịch bảo quản mẫu;
 - + Số lô;
 - + Ngày pha;
 - + Ngày hết hạn;
 - + Nhiệt độ bảo quản.
- Chuẩn bị các chai natri clorua 0,9% vô trùng
- Chuẩn bị pipette vô trùng, pipette aid/quả bóp

7.2. Vệ sinh tủ an toàn sinh học cấp 2 hoặc tủ sạch theo quy trình tại phòng xét nghiệm

7.3. Các bước tiến hành

- Làm lỏng nắp chai natri clorua 0,9% (không mở hẳn nắp chai cho đến khi hút hết và phân chia đều vào các ống nhựa vô trùng)
- Sử dụng pipett vô trùng hút dung dịch natri clorua 0,9% và cho vào mỗi ống nhựa vô trùng 2-3 mL natri clorua 0,9% .
- Đậy nắp ống nhựa vô trùng
- Tiếp tục thao tác cho đến khi hết số ống đã chuẩn bị
- Ghi các thông tin vào Biểu mẫu chuẩn bị môi trường vận chuyển mẫu của phòng xét nghiệm.

- Bảo quản ở nhiệt độ phòng, sử dụng trong vòng 48 giờ hoặc 2-8 độ C dùng trong vòng 6 tháng.

7.4. Thực hiện kiểm tra vô trùng

- Lấy số lượng ống đã chứa dung dịch bảo quản và vận chuyển mẫu (số lượng được tính theo hướng dẫn tại Phụ lục 1) ủ ấm ở nhiệt độ $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

- Sau 18-24 giờ lấy các ống ra khỏi tủ ấm để kiểm tra vô trùng

- Ghi chép lại kết quả vào sổ/Biểu mẫu

+ Nếu không thấy vi sinh vật mọc trong ống thì đạt về vô trùng.

+ Nếu có vi sinh vật mọc trên trong ống môi trường (ống đục) thì bỏ toàn bộ lô ống môi trường đó, kiểm tra nguyên nhân và khắc phục cho các lần sau.

(Lưu ý: đối với môi trường vận chuyển loại khác, phòng xét nghiệm áp dụng theo quy trình tương tự và theo hướng dẫn của nhà sản xuất).

8. Tài liệu tham khảo

- Cục Thực phẩm Hoa Kỳ (FDA), 2020, Phần trả lời các câu hỏi liên quan đến môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm SARS-CoV-2

<https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/faqs-viral-transport-media-during-covid-19#procodes>

- Tổ chức Y tế thế giới (WHO), 3/2020, hướng dẫn tạm thời về xét nghiệm COVID-19, tr. 5. <https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>

- Trung tâm Dự phòng và Kiểm soát Dịch Bệnh Hoa Kỳ (CDC), 2020, Hướng dẫn tạm thời của về lấy mẫu, xử lý và xét nghiệm SARS-CoV-2; <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>

- Viện tiêu chuẩn phòng xét nghiệm lâm sàng (CLSI Standard), M40-A2. Quality Control of Microbiological Transport Systems; Approved Standard, second edition.

- Evaluation of saline, phosphate buffered saline and minimum 1 essential medium as potential 2 alternatives to viral transport media for SARS-CoV-2 testing; <http://jcm.asm.org>.

PHỤ LỤC 1**Bảng bảng tính số lượng ống môi trường cần kiểm tra vô trùng sau mỗi lô/mẻ pha**

Số ống môi trường /mẻ, lô	Số lượng ống tối thiểu cần kiểm tra cho mỗi mẻ
≤ 100 ống	10% hoặc 4 ống (nếu số lượng ống tính từ 10% lớn 4 thì chọn số lượng đó)
$101 < 500$ ống	10 ống
≥ 500 ống	2% hoặc 20 ống (nếu số lượng ống tính từ 20% nhỏ hơn 20 ống thì chọn số lượng đó)

PHỤ LỤC 2

Tham khảo về thành phần của môi trường vận chuyển vi rút

Ví dụ 1: Môi trường vận chuyển vi rút (Viral Transport Medium (VTM))

1. Dung dịch Hanks Balanced Salt Solution (HBSS) 1X với ion calcium và magnesium, không có chứa phenol đỏ, 500mL/chai (hoặc HBSS có chứa phenol đỏ như là chất chỉ thị pH)
2. Fetal bovine serum (FBS) vô trùng, mất hoạt bằng nhiệt
3. Gentamicin sulfate (50mg/mL) (hoặc chất kháng sinh tương tự với nồng độ thích hợp để ngăn ngừa sự tạp nhiễm và sự phát triển của vi khuẩn)
4. Amphotericin B (250µg/mL) (Fungizone) (hoặc kháng nấm tương tự với với nồng độ thích hợp để ngăn ngừa sự tạp nhiễm và sự phát triển của nấm)

Ví dụ 2: Môi trường vận chuyển vi rút (Viral Transport Medium (VTM))

1. DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)
 2. BSA (Bovine albumin fraction 7.5%)
 3. Kanamycine sulphate
 4. Ciprofloxacin hydrochloric
 5. NaHCO₃
 6. HEPES
 7. Ampiciline B hoặc Penicilin-Streptomycin
- pH: 7,2

Ví dụ 3: Môi trường Amies lỏng không có chứa charcoal

1. Sodium chloride
 2. Calcium chloride
 3. Potassium chloride
 4. Magnesium chloride
 5. Monopotassium phosphate
 6. Disodium phosphate
 7. Sodium thioglycollate
 8. Demineralized Water
- pH (tại 25°C 7.3 + 0.2