

RESEARCH FOR ENVIRONMENTAL STABILITY OF TRANSPORTING VIRUS SAMPLES USED FOR SARS-COV-2 DETECTING TEST

Trieu Thanh Hai*, Nguyen Thi Mai Huong, Nguyen Thi Van Quynh, Nguyen Hoang Tung, Tran Hong Tram, Nguyen Thi Ly, Nguyen Duy Thai

** National Institute for Control of Vaccine and Biologicals*

Received 21 October 2022

Accepted 20 December 2022

Abstract

The Viral Transport Medium produced at the National Institute for Control of Vaccines and Biologicals that is used in the test to detect SARS-CoV-2 complies with TCVN ISO 13485: 2017/ISO 13485: 2016 on medical devices. We carry out a study on the stability of the VTM in different conditions and times in order to ensure the VTM's quality. The study showed that the VTM meets the sensory, volume, pH, sterility, and viral preservation criteria when stored for 48 hours at $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ and for six months at $2-8^{\circ}\text{C}$.

Keywords: Viral Transport Medium, stabilization

* Corresponding author.

E-mail address: trieuthanhhai94@gmail.com

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i4.66>

NGHIÊN CỨU TÍNH ỔN ĐỊNH MÔI TRƯỜNG VẬN CHUYỂN MẪU BỆNH PHẨM VIRUS SỬ DỤNG CHO XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN SARS-COV-2

Triệu Thanh Hải*, Nguyễn Thị Mai Hương, Nguyễn Thị Vân Quỳnh, Nguyễn Hoàng Tùng, Trần Hồng Trâm, Nguyễn Thị Lý, Nguyễn Duy Thái

**Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế*

Nhận ngày 21 tháng 10 năm 2022

Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 12 năm 2022

Tóm tắt

Môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm virus (Viral Transport Medium - VTM) sản xuất tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế được sử dụng trong xét nghiệm phát hiện SARS-CoV-2 đạt tiêu chuẩn TCVN ISO 13485: 2017 / ISO 13485: 2016 về thiết bị y tế. Để đảm bảo minh chứng chất lượng của môi trường VTM chúng tôi tiến hành nghiên cứu tính ổn định môi trường VTM trong các điều kiện và thời gian khác nhau. Kết quả cho thấy môi trường VTM đạt các yêu cầu về chỉ tiêu cảm quan, thể tích, pH, vô trùng và khả năng bảo quản virus khi bảo quản 48h trong điều kiện nhiệt độ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ và 6 tháng trong điều kiện nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$.

Từ khoá: Môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm virus; tính ổn định

1. Đặt vấn đề

Theo số liệu thống kê của WHO tính đến tháng 9/2022, COVID-19 đã ảnh hưởng đến 603 triệu người và làm hơn 6,4 triệu người tử vong [1]. Để ngăn chặn sự lây lan nhanh của dịch bệnh trong cộng đồng, các cơ sở y tế cần tiến hành tầm soát, lấy mẫu tại các khu vực có nguy cơ cao và lưu giữ mẫu bệnh phẩm trong môi trường chuyên biệt để tiến hành xét nghiệm. Môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm virus (Viral Transport Medium - VTM) là ống chứa dung dịch được sử dụng để vận chuyển các mẫu bệnh phẩm từ nơi thu thập đến phòng xét nghiệm. VTM phù hợp sử dụng cho mục đích nghiên cứu cũng như chẩn đoán *in vitro* tương thích với nhiều phương pháp phân tích. Hiện nay có rất nhiều loại môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm virus đang lưu hành và được sử dụng để vận chuyển các loại mẫu bệnh phẩm để chẩn đoán các loại virus (coronavirus SAR-CoV-2, Herpes Simplex virus, virus cúm, các virus gây hô hấp) như: Môi trường DxTMTM sản xuất tại Canada, Môi trường VTM của ABT, Next Gene, GeneSmart; công ty Hoa Đà và các đơn vị phòng thí nghiệm khác [2].

Môi trường VTM được sản xuất tại khoa Môi trường thực nghiệm - Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế

tháng 03 năm 2021 trong điều kiện hệ thống đạt cơ sở sản xuất và cung ứng môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm virus và các điều kiện về năng lực theo tiêu chuẩn TCVN ISO 13485:2017/ISO 13485:2016 về trang thiết bị y tế. Môi trường VTM mang lại hiệu quả tối ưu, tăng khả năng bảo quản virus được lâu hơn và hạn chế sự phân hủy RNA giúp tăng độ chính xác kết quả xét nghiệm chẩn đoán.

Để đảm bảo minh chứng chất lượng của môi trường VTM chúng tôi tiến hành nghiên cứu tính ổn định môi trường VTM ở các điều kiện bảo quản khác nhau trong các khoảng thời gian khác nhau để đánh giá chất lượng và đề xuất hạn dùng dự kiến.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

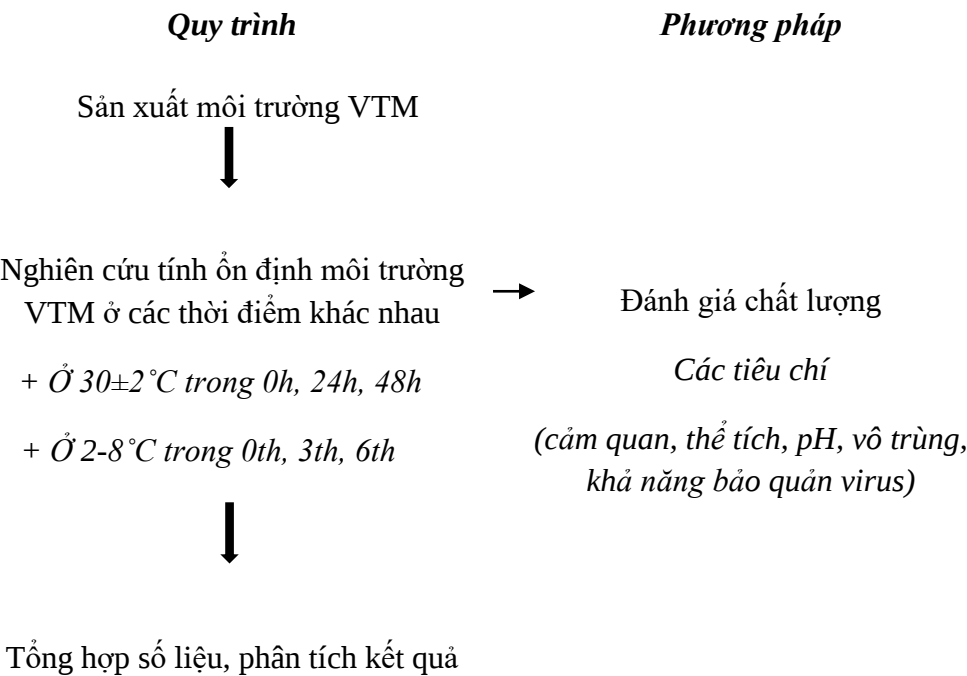
Đối tượng nghiên cứu: Môi trường VTM được sản xuất tại Khoa Môi trường thực nghiệm thuộc Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (NICVB).

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Môi trường thực nghiệm – NICVB.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2022 đến tháng 09/2022.

2.3. Thiết kế nghiên cứu



Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu tổng quát

Khoa Môi trường thực nghiệm sản xuất 03 lô môi trường VTM theo quy trình chuẩn đã được phê duyệt của NICVB [3]. Sau khi sản xuất, các lô môi trường VTM được bảo quản ở các điều kiện:

- + Ở 30±2°C trong 0h, 24h, 48h;
- + Ở 2-8°C trong 0 tháng, 3 tháng, 6 tháng;

Sau đó tiến hành đánh giá chất lượng theo các tiêu chí về: Cảm quan, pH, thể tích, vô trùng, khả năng bảo quản virus để nghiên cứu tính ổn định và đề xuất hạn dùng dự kiến.

2.4 Vật liệu và thiết bị nghiên cứu

Cỡ mẫu nghiên cứu

03 lô môi trường VTM với mã số lần lượt: 0222, 0322, 0422

Bảng 1. Cỡ mẫu và phương pháp cho từng thử nghiệm

Tên thử nghiệm	Phương pháp	Cỡ mẫu
Cảm quan	Quan sát	5 ống
Thể tích	Đo bằng pipet chuẩn	5 ống
pH	Đo bằng máy	1 ống

Vô trùng	Phương pháp màng lọc	20 ống
Khả năng bảo quản virus	Realtime RT- PCR	3 ống

Vật liệu, hóa chất, môi trường, mẫu chuẩn

Môi trường DMEM, Huyết thanh bào thai bê (FBS), Hepes, Kanamycin, NaHCO₃, Amphotericin B, Pen/Strep.

Kit Realtime PCR (Abbott Realtime SARS-CoV-2 Amplification Reagent Kit của hãng Abbott Molecular Inc., Hoa Kỳ (LOT: 524783, REF: 09N77-090).

Trang thiết bị, dụng cụ

Tủ cấy vô trùng, BiO II A Advance 4, Telstar; Máy Realtime RT – PCR; Hệ thống kiểm tra vô trùng màng lọc Steritest™ Symbio LFH Pump Kit (Merck- Millipore); Máy đo pH Thermo (Các trang thiết bị đều được thẩm định và hiệu chuẩn hàng năm).

Chứng dương

Chứng dương dùng để spike vào môi trường: Abbott Realtime SARS-CoV-2 Control Kit (LOT: 522891, REF: 09N77-080) của hãng Abbott Molecular Inc., Hoa Kỳ. Thành phần: 1000 copies /ml virus Sindbis tái tổ hợp chứa trình tự RNA của SARS-CoV-2, 1% ammonium sulfaate, 7.9% chất tẩy rửa trong dung dịch đậm.

2.5 Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mô tả thực nghiệm.

3. Kết quả

Các lô môi trường bảo quản vận chuyển sau khi sản xuất được nghiên cứu tính ổn định tại nhiệt độ 30±2°C và 2-8°C trong các khoảng thời gian khác nhau thu được kết quả như sau:

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu tính ổn định khi bảo quản ở 30±2°C

Lô	Tiêu chí đánh giá	Tiêu chuẩn chấp thuận	Thời điểm		
			0h	24h	48h
0222	Cảm quan	Dung dịch trong, màu hồng nhạt, không có cặn	Đạt	Đạt	Đạt
	pH	7,2 – 7,4	7,22	7,30	7,35
	Thể tích (ml)	≥ 3ml	3,1	-	3,1
	Vô trùng	Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy	Đạt	-	Đạt

	Khả năng bảo quản virus	<i>Có mặt của virus nhận diện</i>	-	-	Có nhận diện virus
0322	Cảm quan	<i>Dung dịch trong, màu hồng nhạt, không có cặn</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	pH	7,2 – 7,4	7,27	7,30	7,35
	Thể tích (ml)	$\geq 3ml$	3,1	-	3,1
	Vô trùng	<i>Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy</i>	Đạt	-	Đạt
	Khả năng bảo quản virus	<i>Có mặt của virus nhận diện</i>	-	-	Có nhận diện virus
0422	Cảm quan	<i>Dung dịch trong, màu hồng nhạt, không có cặn</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	pH	7,2 – 7,4	7,24	7,30	7,35
	Thể tích (ml)	$\geq 3ml$	3,2		3,2
	Vô trùng	<i>Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy</i>	Đạt	-	Đạt
	Khả năng bảo quản virus	<i>Có mặt của virus nhận diện</i>	-	-	Có nhận diện virus

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu tính ổn định khi bảo quản ở 2-8°C

Lô	Tiêu chí đánh giá	Tiêu chuẩn chấp thuận	Thời điểm		
			0th	3th	6th
0222	Cảm quan	<i>Dung dịch trong, màu hồng nhạt, không có cặn</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	pH	7,2 – 7,4	7,23	7,28	7,35
	Thể tích (ml)	$\geq 3ml$	3,2	-	3,1
	Vô trùng	<i>Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	Khả năng bảo quản virus	<i>Có mặt của virus nhận diện</i>	-	Có nhận diện virus	Có nhận diện virus
0322	Cảm quan	<i>Dung dịch trong, màu hồng</i>	Đạt	Đạt	Đạt

		<i>nhạt, không có cặn</i>			
	pH	7,2 – 7,4	7,25	7,30	7,38
	Thể tích (ml)	$\geq 3ml$	3,1		3,1
	Vô trùng	<i>Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	Khả năng bảo quản virus	<i>Có mặt của virus nhận diện</i>	-	Có nhận diện virus	Có nhận diện virus
0422	Cảm quan	<i>Dung dịch trong, màu hồng nhạt, không có cặn</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	pH	7,2 – 7,4	7,25	7,28	7,35
	Thể tích (ml)	$\geq 3ml$	3,1		3,0
	Vô trùng	<i>Không có sự phát triển của vi khuẩn và nấm sau 14 ngày nuôi cấy</i>	Đạt	Đạt	Đạt
	Khả năng bảo quản virus	<i>Có mặt của virus nhận diện</i>	-	Có nhận diện virus	Có nhận diện virus

Kết quả cho thấy 03 lô môi trường đều đảm bảo chất lượng và có tính ổn định khi bảo quản ở nhiệt độ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 48h và $2-8^{\circ}\text{C}$ trong 6 tháng.

4. Bàn luận

Các lô môi trường VTM do khoa Môi trường thực nghiệm sản xuất các điều kiện nghiêm ngặt về hệ thống hồ sơ chất lượng như hồ sơ lô sản; hồ sơ vật tư, hoá chất, trang thiết bị phục vụ cho việc sản xuất môi trường; hồ sơ về nhân sự; các quy trình chuẩn liên quan đến sản xuất môi trường như: tiêu chuẩn cơ sở, hướng dẫn sử dụng, quản lý kho bảo quản môi trường, thu hồi sản phẩm, sản xuất, kiểm tra, nhãn, bao bì sản phẩm...và các điều kiện về năng lực

theo tiêu chuẩn TCVN ISO 13485:2017/ISO 13485:2016 về trang thiết bị y tế.

Tính ổn định của môi trường bảo quản vận chuyển virus thông qua việc nghiên cứu đánh giá các chỉ tiêu qua thời gian bảo quản khác nhau ở những điều kiện khác nhau. SARS-CoV-2 là loại virus RNA do đó không ổn định và dễ bị phân hủy. Việc lưu trữ mẫu trong điều kiện môi trường không phù hợp có thể dẫn đến kết quả không chính xác cũng như mẫu có thể bị tạp nhiễm bởi các enzyme hoặc vi sinh

vật khác phá vỡ RNA [4]. Kết quả nghiên cứu tính ổn định môi trường VTM cho thấy 03 lô môi trường VTM đảm bảo tính ổn định trong 48h ở điều kiện nhiệt độ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ và $2-8^{\circ}\text{C}$ trong 6 tháng. Điều này hoàn toàn phù hợp và tương đồng với hướng dẫn của Bộ Y Tế trong quyết định 4055/QĐ-BYT về 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 PCR cũng như các nghiên cứu khác khi sử dụng môi

trường VTM để xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm virus [5], [6].

5. Kết luận

Qua nghiên cứu cho thấy môi trường VTM đạt các tiêu chuẩn TCVN ISO 13485: 2017 / ISO 13485: 2016 về thiết bị y tế. Kết quả thu được môi trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm virus (VTM) do khoa Môi trường thực nghiệm – NICVB sản xuất có tính ổn định ở nhiệt độ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 48h và $2-8^{\circ}\text{C}$ trong 6 tháng, qua đó đề xuất hạn dùng dự kiến cho môi trường VTM là 06 tháng.

trường vận chuyển mẫu bệnh phẩm đường hô hấp dùng trong xét nghiệm phát hiện SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật realtime PCR.

[6] Matthew J. Mears, Michael J. Wallace, [...], and Loren E. Wold, Viral transport media for COVID-19 testing. *MethodsX* 8 (2021) 101433

Tài liệu tham khảo

[1] Coronavirus disease (COVID-19) – World Health Organization, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.

[2] F.Brent Johnson, Transport of Viral Specimens. *Clinical Microbiology reviews*. Arp.1900, p121-130.

[3] Quy trình chuẩn SOP MT 08-01 “ Quy trình sản xuất môi trường bảo quản vận chuyển virus” Tài liệu nội bộ Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế.

[4] McAuley J., Fraser C., Paraskeva E ,Optimal preparation of SARS-CoV-2 viral transport medium for culture. *Virology*. 2021;18(1):1–6. doi: 10.1186/s12985-021-01525-z.

[5] Quyết định số 4055/BYT ngày 23 tháng 9 năm 2020 về Hướng dẫn tạm thời chuẩn bị môi

