

GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*

PHAN TÂN DÂN

**MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, YẾU TỐ LIÊN QUAN
VÀ CĂN NGUYÊN VI RÚT CỦA VỤ DỊCH COVID-19
TẠI NHÀ MÁY POYUN, TỈNH HẢI DƯƠNG, NĂM 2021**

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*

PHAN TÂN DÂN

**MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, YẾU TỐ LIÊN QUAN
VÀ CĂN NGUYÊN VI RÚT CỦA VỤ DỊCH COVID-19
TẠI NHÀ MÁY POYUN, TỈNH HẢI DƯƠNG, NĂM 2021**

Ngành : Dịch tễ học

Mã số : 9 72 01 17

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Phạm Ngọc Hùng

2. GS.TS. Lê Thị Quỳnh Mai

HÀ NỘI - 2024

LỜI CAM ĐOAN

Tôi, Phan Tân Dân, Nghiên cứu sinh khóa 40, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, chuyên ngành Dịch tễ học, xin cam đoan:

1. Đây là công trình nghiên cứu do bản thân trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của các Thầy, Cô hướng dẫn;

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam;

3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của các cơ sở nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này./.

Hà Nội, ngày 22 tháng 02 năm 2024

Người viết cam đoan



Phan Tân Dân

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành Luận án Tiến sỹ, trước hết tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đối với GS.TS. Lê Thị Quỳnh Mai và PGS.TS. Phạm Ngọc Hùng, những người Thầy đã luôn tận tình chỉ bảo, giúp đỡ, cho tôi những lời khuyên quý báu trong thời gian thực hiện đề tài Nghiên cứu sinh, đã tiếp thêm động lực để tôi tiến bước trên con đường nghiên cứu khoa học.

Tôi xin cảm ơn các Thầy, Cô và cán bộ nhân viên Khoa Kiểm soát Bệnh truyền nhiễm, Khoa Vi rút, Phòng Đào tạo Sau đại học/Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, nhóm nghiên cứu của Đại học Nagasaki tại Việt Nam đã nhiệt tình giúp đỡ tôi trong thời gian học tập và thực hiện nghiên cứu tại Viện.

Xin được trân trọng biết ơn Thủ trưởng Cục Quân y, chỉ huy và cán bộ Phòng Y học dự phòng/Cục Quân y, chỉ huy, cán bộ và nhân viên Viện y học dự phòng Quân đội phía Nam/Cục Quân y đã tạo điều kiện về thời gian để tôi yên tâm học tập và thực hiện đề tài.

Tôi xin gửi lời cảm ơn tới cán bộ, công nhân Nhà máy POYUN (khu công nghiệp Cộng Hòa, thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương) đã tham gia nghiên cứu; xin cảm ơn các cán bộ, nhân viên y tế thuộc CDC tỉnh Hải Dương, Trung tâm Y tế thành phố Chí Linh, Đại học Y Hà Nội, Đại học kỹ thuật y tế Hải Dương đã hỗ trợ tôi kịp thời, hiệu quả trong quá trình triển khai nghiên cứu trên thực địa và trong phòng thí nghiệm.

Cuối cùng, tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn tới bố, mẹ hai bên gia đình, biết ơn vợ, các con, em trai và các anh chị - những người đã luôn bên cạnh, động viên, hỗ trợ và giúp đỡ tôi để tôi yên tâm công tác, học tập, nghiên cứu và hoàn thành Luận án!

NCS Phan Tân Dân

MỤC LỤC

| | |
|---|----|
| ĐẶT VẤN ĐỀ | 1 |
| Chương 1 - TỔNG QUAN | 3 |
| 1.1. Tổng quan về bệnh COVID-19 | 3 |
| 1.1.1. Tác nhân gây bệnh | 3 |
| 1.1.2. Phương thức lây truyền..... | 4 |
| 1.1.3. Khó thở..... | 5 |
| 1.1.4. Lâm sàng | 5 |
| 1.1.5. Điều trị và dự phòng | 8 |
| 1.1.6. Yếu tố liên quan đến lây nhiễm COVID-19 tại nơi sản xuất | 9 |
| 1.1.7. Tình hình dịch bệnh trên thế giới và Việt Nam..... | 12 |
| 1.2. Một số đặc điểm vi rút học SARS-CoV-2 | 21 |
| 1.2.1. Đặc điểm sinh học phân tử vi rút SARS-CoV-2 | 21 |
| 1.2.2. Tổng quan đặc điểm huyết thanh học của SARS-CoV-2..... | 29 |
| 1.3. Thông tin chung về nhà máy POYUN | 35 |
| Chương 2 - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 38 |
| 2.1. Mô tả đặc điểm dịch tễ và yếu tố liên quan tình trạng lây nhiễm COVID-19 tại nhà máy POYUN. | 38 |
| 2.1.1. Thiết kế nghiên cứu | 38 |
| 2.1.2. Thời gian, địa điểm nghiên cứu | 38 |
| 2.1.3. Đối tượng nghiên cứu | 38 |
| 2.1.4. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu | 39 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.5. Các chỉ số, biến số nghiên cứu | 41 |
| 2.1.6. Thu thập thông tin..... | 46 |
| 2.1.7. Nhập và phân tích số liệu..... | 46 |
| 2.2. Phân tích một số đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây vụ dịch..... | 48 |
| 2.2.1. Thiết kế nghiên cứu | 48 |
| 2.2.2. Cỡ mẫu, phương pháp chọn mẫu..... | 48 |
| 2.2.3. Đối tượng nghiên cứu | 48 |
| 2.2.4. Thời gian, địa điểm nghiên cứu | 49 |
| 2.2.5. Các chỉ số, biến số nghiên cứu | 49 |
| 2.2.6. Quy trình nghiên cứu | 50 |
| 2.2.7. Nhập và phân tích số liệu..... | 51 |
| 2.3. Các xét nghiệm sử dụng trong nghiên cứu | 52 |
| 2.3.1. Xét nghiệm SARS-CoV-2 bằng Realtime RT-PCR..... | 52 |
| 2.3.2. Xét nghiệm giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) | 53 |
| 2.3.3. Kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG | 53 |
| 2.4. Đạo đức trong nghiên cứu | 55 |
| 2.4.1. Thời điểm đáp ứng chống dịch | 55 |
| 2.4.2. Thời điểm tiến hành nghiên cứu huyết thanh học | 55 |
| Chương 3- KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU..... | 57 |
| 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu | 57 |
| 3.2. Đặc điểm dịch tễ học của vụ dịch COVID-19..... | 59 |
| 3.2.1. Phân bố ca bệnh theo yếu tố con người, không gian, thời gian..... | 59 |
| 3.2.2. Một số đặc điểm lâm sàng ở các ca bệnh COVID-19 | 64 |

| | |
|---|--------------|
| 3.2.3. Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây lan vụ dịch..... | 67 |
| 3.3. Đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây vụ dịch COVID-19..... | 72 |
| 3.3.1. Một số đặc điểm sinh học phân tử..... | 72 |
| 3.3.2. Đáp ứng kháng thể kháng SARS-CoV-2 tại nhà máy POYUN | 76 |
| Chương 4- BÀN LUẬN..... | 85 |
| 4.1. Một số đặc điểm dịch tễ học và một số yếu tố liên quan đến sự lây nhiễm SARS-CoV-2 trong vụ dịch tại nhà máy POYUN..... | 85 |
| 4.1.1. Tỷ suất tấn công, hệ số lây nhiễm | 85 |
| 4.1.2. Một số đặc điểm lâm sàng | 89 |
| 4.1.3. Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây lan vụ dịch..... | 92 |
| 4.2. Đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại nhà máy POYUN | 97 |
| 4.2.1. Đặc điểm sinh học phân tử của vi rút gây vụ dịch | 97 |
| 4.2.2. Đặc điểm đáp ứng kháng thể IgG ở công nhân POYUN | 102 |
| 4.3. Tính mới và một số hạn chế của nghiên cứu | 110 |
| 4.3.1. Tính mới của nghiên cứu | 110 |
| 4.3.2. Một số hạn chế của nghiên cứu | 113 |
| KẾT LUẬN..... | 116 |
| KHUYẾN NGHỊ..... | 118 |
| PHỤ LỤC | |

DANH MỤC VIẾT TẮT

| Chữ viết tắt | Tiếng Anh | Tiếng Việt |
|---------------------|---|--|
| ATSH | | An toàn sinh học |
| ELISA | Enzym-linked Immunosorbent Assay | Phản ứng hấp phụ liên kết gắn enzym |
| IHR | International Health Regulation | Điều lệ y tế Quốc tế |
| ICU | Intensive Care Unit | Khoa điều trị tích cực |
| MERS-CoV | Middle East Respiratory Syndrom-Coronavirus | Vi rút corona gây hội chứng viêm đường hô hấp cấp Trung Đông |
| PHEIC | Public Health Emergency International Concerns | Tình trạng Y tế khẩn cấp về sức khỏe cộng đồng toàn cầu |
| RBD | Receptor Binding Domand | Vùng liên kết thụ cảm thể |
| SARS-CoV | Severe Acute Respiratory Syndrom-Coronavirus | Vi rút corona gây hội chứng viêm đường hô hấp cấp |
| SARS-CoV-2 | Severe Acute Respiratory Syndrom-Coronavirus 2 | Vi rút corona 2 gây bệnh viêm đường hô hấp cấp tính |
| WHO | World Health Organization | Tổ chức Y tế thế giới |
| USCDC | The United States Center for The US Center for Disease Control and Prevention | Trung tâm phòng ngừa và kiểm soát bệnh tật Hoa Kỳ |
| VĐHHC | | Viêm đường hô hấp cấp tính |
| VOC | Variants of Concern | Biến thể lo ngại |
| VOHC | Variants of High Consequence | Biến thể gây hậu quả nghiêm trọng |
| VOI | Variants of Interest | Biến thể quan tâm |
| VSDTTU | | Vệ sinh dịch tễ Trung ương |
| VUM | Variants of Monitor | Biến thể cần theo dõi |

DANH MỤC BẢNG

| | Trang |
|--|-------|
| Bảng 1.1. Các protein không cấu trúc của vi rút SARS-CoV-2 | 23 |
| Bảng 2.1. Các chỉ số, biến số sử dụng trong nghiên cứu. | 41 |
| Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu | 57 |
| Bảng 3.2. Phân bố ca bệnh theo một số đặc trưng của mẫu nghiên cứu | 59 |
| Bảng 3.3. Một số đặc điểm lâm sàng ở ca bệnh COVID-19 | 64 |
| Bảng 3.4. Liên quan giữa tình trạng mắc COVID-19 với các triệu chứng lâm sàng (phân tích đơn biến) | 65 |
| Bảng 3.5. Yếu tố nhân chủng học liên quan tới nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 (phân tích đơn biến). | 67 |
| Bảng 3.6. Các yếu tố môi trường làm việc liên quan tới nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 (phân tích đơn biến). | 68 |
| Bảng 3.7. Các yếu tố liên quan đến nguy cơ lây nhiễm tại nơi sinh sống của đối tượng nghiên cứu (phân tích đơn biến). | 69 |
| Bảng 3.8. Các yếu tố liên quan đến lịch sử tiếp xúc, biểu hiện lâm sàng của đối tượng nghiên cứu (phân tích đơn biến) | 70 |
| Bảng 3.9. Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 trong phân tích hồi quy đa biến logistic. | 71 |
| Bảng 3.10. Danh sách mẫu giải trình tự gen vi rút SARS-CoV-2 | 72 |
| Bảng 3.11. Tỷ lệ đối tượng có đáp ứng kháng thể IgG ở lần xét nghiệm thứ nhất | 76 |
| Bảng 3.12. Chi tiết các trường hợp có đáp ứng kháng thể IgG | 77 |
| Bảng 3.13. Tỷ lệ có đáp ứng kháng thể IgG ở lần xét nghiệm thứ 2 | 78 |
| Bảng 3.14. Tỷ lệ phát hiện kháng thể IgG theo nhóm nguy cơ tại nhà máy POYUN | 79 |

| | |
|---|----|
| Bảng 3.15. Tỷ lệ phát hiện kháng thể IgG ở các nhóm nguy cơ tại gia đình, cộng đồng | 81 |
| Bảng 3.16. Tình trạng đáp ứng kháng thể IgG theo các nhóm nguy cơ khác | 82 |
| Bảng 3.17. Đáp ứng kháng thể IgG ở những người mắc COVID-19 | 83 |
| Bảng 3.18. Đáp ứng kháng thể IgG theo thời gian ở nhóm đối tượng có kết quả Realtime RT-PCR (+) với SARS-CoV-2 | 84 |
| Bảng 4.1. Hệ số lây nhiễm của chủng Alpha (B.1.1.7) tại một số quốc gia trên thế giới | 88 |
| Bảng 4.2. Một số chủng vi rút SARS-CoV-2 lưu hành tại Việt Nam tính đến tháng 3/2021 | 98 |

DANH MỤC HÌNH

| | Trang |
|--|-------|
| Hình 1.1. Hình ảnh 3D vi rút SARS-CoV-2. | 3 |
| Hình 1.2. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới đến ngày 27/12/2020 | 13 |
| Hình 1.3. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới đến ngày 07/3/2021 | 14 |
| Hình 1.4. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới đến ngày 06/7/2022 | 15 |
| Hình 1.5. Tình hình dịch COVID-19 tại Việt Nam tháng 6-7/2022 | 20 |
| Hình 1.6. Hình thái cấu trúc và hệ gen vi rút SARS-CoV-2 | 22 |
| Hình 1.7. Cây gia hệ của SARS-CoV-2 từ 12/2019 đến 06/2021 | 26 |
| Hình 1.8. Đáp ứng kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2 | 30 |
| Hình 1.9. Sơ đồ hệ thống các phân xưởng nhà máy POYUN | 36 |
| Hình 2.1. Sơ đồ triển khai nghiên cứu | 40 |
| Hình 3.1. Tỷ suất tấn công của SARS-CoV-2 tại các vị trí làm việc trong nhà máy Poyun, Hải Dương, tháng 01-3/2021 | 60 |
| Hình 3.2. Diễn biến của vụ dịch COVID-19 tại Nhà máy POYUN, khu công nghiệp Cộng Hòa, Chí Linh, HD từ 01-3/2021 | 61 |
| Hình 3.3. Hệ số lây nhiễm R trong vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN, Chí Linh, Hải Dương từ 01-3/2021 | 63 |
| Hình 3.4. Các triệu chứng lâm sàng liên quan đến nhiễm COVID-19 trong phân tích hồi quy logistic đa biến. | 66 |
| Hình 3.5. Cây gia hệ các vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại Nhà máy POYUN, Hải Dương (01/2021-3/2021) | 73 |
| Hình 3.6. Phân tích gia hệ các chủng Alpha (B.1.1.7) trong các ổ dịch COVID-19 tại Việt Nam tính đến cuối tháng 5/2021. | 74 |

| | |
|---|-----|
| Hình 3.7. Tình trạng đáp ứng kháng thể IgG theo các vị trí làm việc tại nhà máy POYUN. | 80 |
| Hình 4.1. Cây gia hệ các chủng SARS-CoV-2 lưu hành trên thế giới tính đến tháng 3/2021 | 97 |
| Hình 4.2. Đột biến trên protein S của các biến thể SARS-CoV-2 | 100 |
| Hình 4.3. Vai trò của nghiên cứu dịch tễ, sinh học phân tử và huyết thanh học trong vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN, 2021 | 112 |

ĐẶT VẤN ĐỀ

COVID-19, bệnh viêm đường hô hấp cấp do vi rút SARS-CoV-2, được phát hiện cuối tháng 12 năm 2019 tại Vũ Hán (Trung Quốc), đã lây lan rất nhanh và trở thành đại dịch toàn cầu. Việt Nam đã trải qua các làn sóng của đại dịch với hơn 11,6 triệu người mắc, hơn 43.000 trường hợp tử vong vì COVID-19 [3].

SARS-CoV-2 thuộc họ *Coronaviridae*, chi Beta-Coronavirus có cấu trúc hình cầu, vật liệu di truyền là chuỗi ARN đơn dương, kích thước 70-120 nm [96]. Vi rút lây truyền từ người sang người qua giọt bắn hô hấp, qua tiếp xúc và qua không khí ô nhiễm mầm bệnh [17, 30, 50, 64]; đồng thời vi rút thường xuyên biến đổi thông qua các đột biến gen để tăng khả năng thích nghi và lây nhiễm. Các yếu tố làm tăng nguy cơ lây nhiễm COVID-19 gồm tiếp xúc người nghi nhiễm, thiếu khẩu trang, không có chính sách xét nghiệm SARS-CoV-2 tại nơi làm việc [46], điều kiện lao động, sinh hoạt chật hẹp [13], làm công việc thường xuyên tiếp xúc cộng đồng...[118]. Người nhiễm SARS-CoV-2 có thể không có triệu chứng hoặc có triệu chứng từ mức độ nhẹ (sốt, ho, đau tức ngực, mệt mỏi, mất vị giác...) đến mức độ nặng hoặc rất nặng (khó thở, viêm phổi, suy hô hấp, suy đa tạng) [1, 176]. Tỷ lệ tử vong do COVID-19 khoảng 1,2% tại thời điểm tiến hành nghiên cứu [175].

Trong chiến lược phòng chống dịch COVID-19, xét nghiệm đóng vai trò rất quan trọng trong phát hiện ca bệnh [115]. Kỹ thuật Realtime RT-PCR phát hiện vật liệu di truyền ARN của vi rút được coi là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán ca bệnh [115]; xét nghiệm phát hiện kháng thể IgG trong huyết thanh giúp xác định người đã từng nhiễm vi rút SARS-CoV-2, từ đó có thể ước lượng khoảng thời gian xuất hiện ca nhiễm đầu tiên; xét nghiệm giải trình tự gen vi rút gây có vai trò quan trọng trong việc hỗ trợ triển khai các biện pháp phòng chống dịch

như xác định các điểm nóng lây nhiễm, đưa ra các cảnh báo về y tế khi phát hiện vi rút đột biến và thay đổi độc lực [123].

Vụ dịch COVID-19 xảy ra tại nhà máy POYUN, khu công nghiệp Cộng Hòa, Chí Linh, Hải Dương bùng phát ngày 26/01/2021 với 01 ca bệnh (+) SARS-CoV-2, có tiếp xúc gần với ca COVID-19 phát hiện ngày 17/01/2021 khi nhập cảnh vào Nhật Bản. Xét nghiệm sàng lọc các trường hợp nghi ngờ trong ngày 27/01/2021 đã phát hiện thêm 70 ca bệnh tại nhà máy POYUN [11]; từ đây, dịch bệnh lây lan ra các huyện, thị của tỉnh Hải Dương và một số địa phương khác. Các biện pháp phong tỏa, giãn cách xã hội, truy vết, cách ly, xét nghiệm diện rộng, điều trị được triển khai đồng bộ nên đã kiểm soát được vụ dịch vào cuối tháng 3/2021.

Vụ dịch COVID-19 bùng phát tại POYUN là một vụ dịch điển hình, tuy nhiên tại thời điểm này các hiểu biết về COVID-19 còn rất hạn chế như: đặc điểm sinh học phân tử của vi rút gây dịch, yếu tố làm tăng nguy cơ lây nhiễm, tình trạng đáp ứng miễn dịch của quần thể công nhân chưa được nghiên cứu ở Việt Nam nói chung và tại nhà máy POYUN nói riêng. Vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu ***“Một số đặc điểm dịch tễ, yếu tố liên quan và căn nguyên vi rút của vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN, tỉnh Hải Dương, năm 2021”*** với 02 mục tiêu:

1. Mô tả một số đặc điểm dịch tễ và yếu tố liên quan tình trạng lây nhiễm bệnh COVID-19 tại nhà máy POYUN từ tháng 01/2021 đến tháng 5/2021.

2. Phân tích một số đặc điểm sinh học phân tử và đáp ứng kháng thể của vi rút SARS-CoV-2 gây vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN từ tháng 01/2021 đến tháng 5/2021.

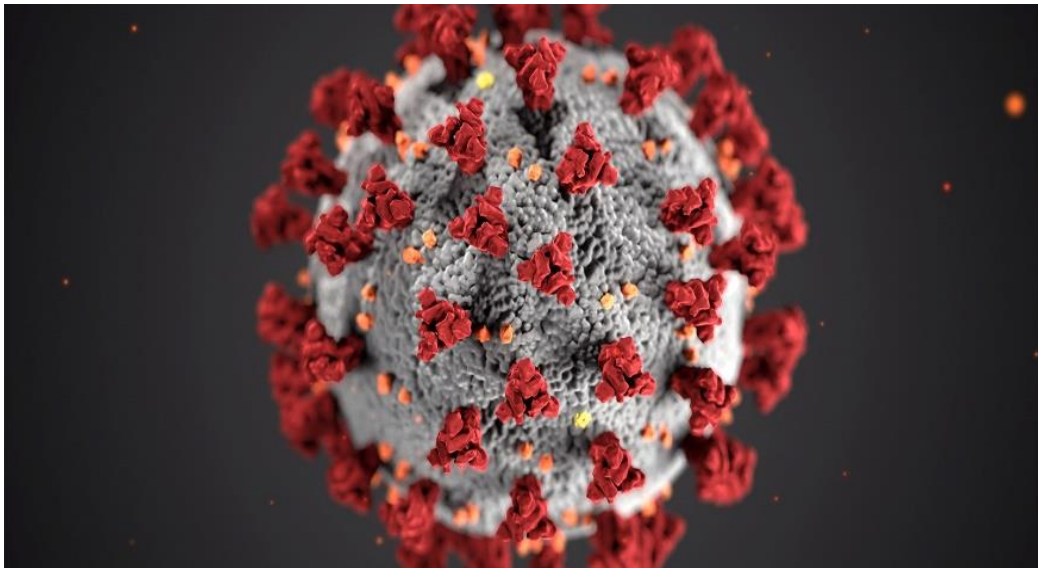
Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về bệnh COVID-19

1.1.1. Tác nhân gây bệnh

Tác nhân gây bệnh COVID-19 là vi rút SARS-CoV-2 thuộc chi Beta Coronavirus, phân họ *Coronavirinae*, họ *Coronaviridae* [159]. SARS-CoV-2 có cấu trúc hình cầu với đường kính trung bình từ 70-120 nm và vật liệu di truyền là một sợi ARN đơn dương [96].



Hình 1.1. Hình ảnh 3D vi rút SARS-CoV-2 [19]

Do không có cấu trúc bao ngoài mà chỉ có vỏ bọc (capsid) nên SARS-CoV-2 có sức đề kháng yếu trước tác nhân vật lý và hóa học thông thường. Các nghiên cứu chỉ ra vi rút này dễ bị bất hoạt trong điều kiện ngoại cảnh như nhiệt độ, độ ẩm và các tác nhân vật lý [154]. Thời gian tồn tại của vi rút có thể từ vài giờ đến vài ngày trên bề mặt các vật liệu khác nhau: dưới 3 giờ trên giấy viết và khăn giấy, từ 2 - 4 giờ trên bề mặt vật dụng bằng đồng và bạc, khoảng 2 ngày trên gỗ và vải, 4 ngày trên thủy tinh và tiền giấy, 7 ngày trên bề mặt vật

dụng bằng kim loại hoặc bằng nhựa. Tất cả vật dụng có thể là nguồn mang vi rút và trở thành nguồn lây nhiễm cho con người. Do đó việc thường xuyên vệ sinh môi trường, các bề mặt có nguy cơ ô nhiễm SARS-CoV-2 là biện pháp quan trọng để cắt đứt chuỗi lây nhiễm qua đường tiếp xúc.

SARS-CoV-2 bị bất hoạt ở nhiệt độ cao và tồn tại lâu hơn ở nhiệt độ thấp. Vi rút này bị bất hoạt ở 70 °C trong vòng 5 phút, 56 °C trong vòng 30 phút, tồn tại ở 37 °C trong vòng 2 ngày, ở nhiệt độ 4 °C vi rút có thể tồn tại ổn định trong vòng 14 ngày [31].

Các loại cồn dùng trong y tế như ethanol và isopropanol bất hoạt vi rút trong khoảng 30 giây do vi rút có màng lipid, khi tiếp xúc với cồn sẽ bị phá vỡ và vi rút nhanh chóng bị tiêu diệt. Việc sử dụng các loại dung dịch rửa tay nhanh chứa cồn hoặc dùng cồn sát trùng các dụng cụ y tế là biện pháp quan trọng trong phòng chống lây nhiễm; nồng độ cồn thích hợp để diệt nhanh vi rút trong khoảng 60%-80%. Ngoài ra, vi rút SARS-CoV-2 khá nhạy cảm và dễ bị diệt bởi các dung dịch chứa Clo, theo CDC Hoa Kỳ, dung dịch chứa Clo hoạt động nồng độ 100ppm là đủ để diệt vi rút [66].

1.1.2. Phương thức lây truyền

SARS-CoV-2 lây truyền từ người sang người qua đường hô hấp theo các phương thức chủ yếu sau:

1.1.2.1. Lây truyền qua đường giọt bắn

Con đường lây truyền này xảy ra khi niêm mạc của người lành (niêm mạc mũi, kết mạc, niêm mạc miệng) bị xâm nhập bởi các giọt bắn có kích thước >5 micromet mang vi rút SARS-CoV-2. Các giọt mang mầm bệnh này được tạo ra khi người bệnh COVID-19 ho, hắt hơi, nói chuyện hoặc khi được làm một số thủ thuật như hút đờm dãi, đặt nội khí quản, vật lý trị liệu lồng ngực, hồi sức tim phổi. Lây truyền qua giọt bắn khi có tiếp xúc gần dưới 2 mét giữa người lành và người bệnh trong tình huống cả 02 đều không mang khẩu trang, kính chắn giọt bắn [10, 17, 101, 104].

1.1.2.2. Lây truyền qua tiếp xúc

Là phương thức lây truyền khá phổ biến, bao gồm lây truyền qua tiếp xúc trực tiếp (tiếp xúc giữa da với da...) và lây truyền gián tiếp qua vật dụng. Mầm bệnh từ giọt bắn hô hấp rơi xuống các vật dụng, bề mặt, sau đó bám vào tay người lành và xâm nhập vào cơ thể qua niêm mạc mắt, mũi miệng [10, 22, 30].

1.1.2.3. Lây truyền qua đường không khí

Quá trình hô hấp của người nhiễm COVID-19 tạo ra các hạt li ti chứa mầm bệnh. Các giọt bắn rất nhỏ với kích thước dưới 5 micromet (hạt khí dung-aerosol) lơ lửng một thời gian nhất định trong không khí. Con đường lây truyền này xảy ra chủ yếu trong các không gian kín (phòng làm việc, toa xe, tàu, khoang máy bay...), ở không gian mở ngoài trời. Sự lây truyền qua đường không khí ít diễn ra hơn [101, 106, 139].

1.1.3. Khởi cảm thụ

Mọi đối tượng, không kể tuổi, giới, nghề nghiệp và chủng tộc, nếu có tiếp xúc gần với người nhiễm COVID-19 đều có nguy cơ nhiễm vi rút.

Kết quả nghiên cứu trên 44.672 bệnh nhân COVID-19 tại Trung Quốc năm 2020 cho thấy COVID-19 lây nhiễm cho cả nam và nữ giới, mọi lứa tuổi từ 0 đến trên 90 tuổi [178]. Chưa có bằng chứng cho thấy vi rút có thể lây truyền từ mẹ sang con, tuy nhiên các nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng COVID-19 có thể gây hậu quả nghiêm trọng cho cả trẻ sơ sinh và bà mẹ, có thể gây tử vong cho những đối tượng này [34, 184].

Những người có bệnh nền (tiểu đường, cao huyết áp, béo phì, suy giảm miễn dịch...) khi mắc COVID-19 có nguy cơ tiến triển nặng phải nhập viện và nguy cơ tử vong cao hơn so với người khỏe mạnh.

1.1.4. Lâm sàng

1.1.4.1. Thời gian ủ bệnh

Thời gian từ lúc vi rút xâm nhập vào cơ thể vật chủ đến khi khởi phát triệu chứng dao động từ 2-14 ngày [164], trung bình 6,0 ngày [36]; thời gian ủ

bệnh ở người Việt Nam khoảng 6,4 ngày [28]; cá biệt, có những trường hợp có thời gian ủ bệnh lên tới 24 ngày, tuy nhiên, theo đánh giá của WHO thì những trường hợp như thế này có thể phản ánh tình trạng tái nhiễm vi rút.

Khi khởi phát, triệu chứng hay gặp là sốt, ho khan, mệt mỏi và đau cơ; một số trường hợp đau họng, nghẹt mũi, chảy nước mũi, đau đầu, ho có đờm, nôn và tiêu chảy [1].

1.1.4.2. Thời kỳ lây truyền

Thời kỳ lây truyền được xác định là thời gian đào thải vi rút SARS-CoV-2 có khả năng lây nhiễm ở bệnh nhân COVID-19; thời gian này chịu ảnh hưởng bởi đặc tính sinh học của vi rút, đặc tính sinh học và tình trạng miễn dịch của khối cảm thụ [181]. Các nghiên cứu chỉ ra rằng, SARS-CoV-2 lây truyền chủ yếu sau khi bệnh nhân COVID-19 có triệu chứng khởi phát [131], và cũng có thể lây lan trước khi người bệnh có triệu chứng khởi phát từ 1- 3 ngày [79].

Trong nghiên cứu hệ thống của mình, Danying Yan và cộng sự xác định khoảng thời gian lây truyền trung bình của SARS-CoV-2 là 16,8 ngày (KTC95%: 14,8 - 19,4), trong đó bệnh nhân có triệu chứng có thời gian thải mầm bệnh dài hơn (19,7 ngày) so với người nhiễm COVID-19 không triệu chứng (10,9 ngày); hay 23,2 ngày ở người lớn, dài hơn đáng kể so với người bệnh là trẻ em (9,9 ngày); dài hơn ở người có bệnh lý nền (24,2 ngày) so với bệnh nhân không có bệnh lý kèm theo (11,5 ngày). Thời gian đào thải mầm bệnh qua phân (30,3 ngày) dài hơn đào thải mầm bệnh qua đường hô hấp (17,5 ngày) với $p < 0.05$ [181]. Trong khi đó, thời gian thải vi rút SARS-CoV-2 trong dịch tị hầu của bệnh nhân COVID-19 nhẹ là $15,67 \pm 6,68$ ngày và ở bệnh nhân nặng là $22,25 \pm 3,62$ ngày [53].

1.1.4.3. Triệu chứng

Người mắc COVID-19 có thể không xuất hiện triệu chứng hoặc có triệu chứng viêm đường hô hấp cấp tính từ mức độ nhẹ (sốt, ho, đau rát họng, ớn lạnh, đau cơ/khớp, mất vị giác/khứu giác, khó thở) đến mức độ nặng (viêm

phổi, viêm phổi nặng, có thể gây suy hô hấp cấp) và nguy cơ tử vong, đặc biệt ở những người cao tuổi, người suy giảm miễn dịch và mắc các bệnh mạn tính kèm theo [77, 176]. Trong đó, những triệu chứng thường gặp khi mắc COVID-19 bao gồm: sốt, ớn lạnh, ho khan hoặc ho có đờm, hụt hơi hoặc khó thở, mệt mỏi, đau cơ hoặc đau người, đau đầu, mất vị giác hoặc khứu giác, đau rát họng, ngạt mũi, chảy nước mũi, buồn nôn hoặc nôn, tiêu chảy... [77, 100, 157, 183]

Nghiên cứu hệ thống của tác giả Long-quan Li và CS về biểu hiện lâm sàng của COVID-19 cho thấy sốt là triệu chứng phổ biến (88,5%), tiếp theo đó là ho (68,6%), đau cơ, mệt mỏi (35,8%), khó thở (21,9%); các triệu chứng ít gặp hơn bao gồm chóng mặt/đau đầu (12,1%), tiêu chảy (12,1%), buồn nôn hoặc nôn (3,9%) [97]. Những triệu chứng trên xuất hiện sau khi nhiễm vi rút SARS-CoV-2 từ 02-14 ngày. Một số người nhiễm vi rút SARS-CoV-2 có thể có biểu hiện lâm sàng nhẹ không rõ triệu chứng nên gây nhiều khó khăn cho việc phát hiện.

1.1.4.4. Tiến triển

Hầu hết người bệnh (hơn 80%) chỉ sốt nhẹ, ho, mệt mỏi và thường tự hồi phục sau khoảng 18,5 ngày (KTC95%: 13,69- 23,41) [83]. Có một số trường hợp không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng [1].

Khoảng 14% số bệnh nhân diễn biến nặng như viêm phổi, viêm phổi nặng cần nhập viện, khoảng 5% cần điều trị tại các đơn vị hồi sức tích cực với các biểu hiện hô hấp cấp (thở nhanh, khó thở, tím tái), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển, sốc nhiễm trùng, suy chức năng các cơ quan bao gồm tổn thương thận và tổn thương cơ tim, dẫn đến tử vong.

Thời gian trung bình từ khi người bệnh COVID-19 có triệu chứng ban đầu tới khi phải thăm khám lâm sàng là 4,92 ngày [83], đến khi diễn biến nặng thường khoảng 7-8 ngày [1]. Sau giai đoạn toàn phát 7-10 ngày, nếu không có hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển, bệnh nhân sẽ hết sốt, các dấu hiệu lâm sàng dần trở lại bình thường và khỏi bệnh [1].

1.1.4.5. Tử vong

Tỉ suất tử vong do COVID-19 trên toàn cầu vào khoảng 2% tại thời điểm tháng 6/2020 [83, 164]. Tỉ suất tử vong rất dao động tại các quốc gia như: tại Italia (13,9%), Anh (12,9%), Tây Ban Nha (8,0%), Indonesia (4,4%), ...do tác động của chiến lược kiểm soát bệnh dịch của từng quốc gia [175]. Kết quả thống kê tại thành phố New York, Hoa Kỳ vào tháng 5/2020 cho thấy, tử vong vì COVID-19 xảy ra nhiều hơn ở người cao tuổi, người suy giảm miễn dịch và mắc các bệnh mạn tính kèm theo (bệnh lý tim mạch, huyết áp, tiểu đường, suy giảm miễn dịch...) [175].

1.1.5. Điều trị và dự phòng

1.1.5.1. Điều trị

Đến thời điểm nghiên cứu được tiến hành, bệnh COVID-19 chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Điều trị chủ yếu là điều trị triệu chứng, bổ sung nước, điện giải, vitamin ...và điều trị các biến chứng của bệnh. Phần lớn các ca bệnh có biểu hiện nhẹ sẽ tự khỏi mà không cần điều trị [1].

Một số thuốc và liệu pháp đã được nghiên cứu có tác dụng ức chế vi rút SARS-CoV-2 như: Lopinavir/Ritonavir, Hydroxychloroquine, Remdesivir, thuốc ức chế IL6, Corticoid, kháng thể đơn dòng (Casirivimad, Imdevimad)...

Ngoài ra, thuốc Molnupiravir được nhiều nước khuyến cáo sử dụng để điều trị cho người nhiễm COVID-19 có triệu chứng từ mức độ nhẹ đến trung bình. Đối với những bệnh nhân nặng, tùy thuộc tình trạng bệnh lý, cần phải sử dụng các biện pháp điều trị tích cực [1].

1.1.5.2. Dự phòng

Ngay sau khi dịch bệnh COVID-19 xuất hiện tại Vũ Hán, các hãng dược phẩm, hãng vắc xin đã nghiên cứu các loại vắc xin phòng COVID-19 như: vắc xin bất hoạt (Sinovac, Sinopharm), vắc xin công nghệ véc tơ (Astra Zenecca), vắc xin tái tổ hợp (Novavax), vắc xin công nghệ mRNA (Pfizer-BioNtech, Moderna)...Tiêm phòng vắc xin là biện pháp hữu hiệu nhằm hạn chế sự lây lan

dịch bệnh, giảm tỉ lệ mắc, giảm tỉ lệ nhập viện, tiến triển nặng và tử vong ở người bệnh COVID-19.

Đối với cá nhân, thực hiện các biện pháp dự phòng giọt bắn (đeo khẩu trang, tấm chắn giọt bắn) để tránh lây nhiễm trực tiếp do hít phải giọt bắn có chứa vi rút phát tán trong không khí (thông qua ho, hắt hơi, nói chuyện) và các biện pháp dự phòng tiếp xúc để tránh lây nhiễm gián tiếp (do chạm tay vào các bề mặt bị nhiễm vi rút rồi chạm vào mắt, mũi, miệng) [165].

Hạn chế đến những nơi đông người khi không thực sự cần thiết; nếu phải ra khỏi nhà thì cần đeo khẩu trang, giữ khoảng cách với người khác; thường xuyên rửa tay với xà phòng và nước sạch hoặc dung dịch sát khuẩn tay; vệ sinh nhà cửa; khai báo y tế điện tử khi có triệu chứng nghi ngờ hoặc có lịch sử tiếp xúc với ca bệnh COVID-19. Việc rửa tay bằng nước sạch và xà phòng phải thực hiện ít nhất trong thời gian 30 giây hoặc làm sạch tay bằng dung dịch sát khuẩn tay.

1.1.6. Yếu tố liên quan đến lây nhiễm COVID-19 tại nơi sản xuất

1.1.6.1. Một số yếu tố làm tăng nguy cơ

Một số nghiên cứu về sự lây lan SARS-CoV-2 trong môi trường lao động cho thấy tỉ lệ nhiễm SARS-CoV-2 rất dao động, tùy theo đối tượng nghiên cứu, địa điểm, thời điểm nghiên cứu và môi trường sản xuất.

Trong bối cảnh các nước tiến hành các biện pháp giãn cách xã hội, những công nhân không thể làm việc tại nhà thì nơi làm việc (nhà máy, xí nghiệp...) là yếu tố làm tăng nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 [143]. Một nghiên cứu tại Hoa Kỳ cho thấy khoảng 10% công nhân làm việc tại các môi trường lao động mà ở đó sự phơi nhiễm mầm bệnh hoặc sự lây lan vi rút giữa người với người xảy ra ít nhất 01 lần/tuần [23]. Nguy cơ nhiễm SARS-CoV-2 phụ thuộc vào việc tiếp xúc với những người đã mang mầm bệnh, đặc tính môi trường lao động (trong phòng, bên ngoài phòng, sự thông khí...) và phụ thuộc nhiều vào

việc có hay không áp dụng các biện pháp dự phòng lây nhiễm như: bảo đảm khoảng cách giữa người với người, sử dụng phương tiện bảo hộ cá nhân. Chẳng hạn, sự lây lan nhanh chóng của SARS-CoV-2 trong những tháng đầu của đại dịch xảy ra chủ yếu ở nhóm nhân viên y tế tuyến đầu [143]. Tuy nhiên, việc áp dụng các biện pháp bảo vệ như đeo khẩu trang, đeo tấm chắn giọt bắn đã làm giảm sự lây lan mầm bệnh giữa bệnh nhân COVID-19 và nhân viên y tế [111, 141].

Ngoài nhân viên y tế, có nhiều nhóm ngành nghề khác có nguy cơ lây nhiễm cao do đặc điểm công việc của người lao động phải tiếp xúc gần với người dân trong cộng đồng như lái xe tắc xi, nhân viên bảo vệ...; tỉ lệ tử vong do COVID-19 ở những nhóm người này cao hơn hẳn những nhóm công nhân khác trong những tuần đầu đại dịch tại nước Anh [172]. Những ngành nghề có tỉ lệ lây nhiễm SARS-CoV-2 cao bao gồm những người làm tóc, lái xe công cộng tại Hà Lan [46] và nhân viên quán bar, người làm công việc vận chuyển và người làm công tác quản lý du lịch tại Na Uy [111].

Ngoài ra, nhiều vụ dịch COVID-19 xảy ra ở các môi trường làm việc trong các lĩnh vực nông nghiệp, xưởng chế biến thịt, nơi có điều kiện lao động không bảo đảm vệ sinh.... Nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 rất cao do khoảng cách gần giữa người với người, không có các biện pháp bảo vệ cũng như không được tổ chức xét nghiệm định kỳ; do điều kiện kinh tế khó khăn khiến những công nhân nhập cảnh thường đi chung phương tiện giao thông, sống đông đúc trong những căn phòng chật hẹp... [48, 54, 89]. Người lao động có công việc không ổn định thường có nguy cơ nhiễm SARS-CoV-2 cao hơn vì những lí do về tài chính cũng như không có đủ không gian cách ly [88].

Tóm lại, nhiều yếu tố có thể làm tăng nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 trong các lĩnh vực sản xuất cần được can thiệp để hạn chế sự lây lan COVID-19 tại các môi trường lao động.

1.1.6.2. Các biện pháp phòng ngừa lây nhiễm COVID-19 tại nơi sản xuất

Các biện pháp phòng, chống lây nhiễm COVID-19 tại nơi sản xuất có thể được phân loại thành các nhóm như sau:

- Các biện pháp dự phòng cá nhân:

Công nhân cần đeo khẩu trang hoặc tấm chắn giọt bắn trong khi làm việc [111]; rửa tay ít nhất 20 giây với xà phòng thường xuyên, hoặc dung dịch sát khuẩn chứa 60-70% ethanol; không đưa tay chạm mắt, mũi, miệng; hạn chế tiếp xúc gần với người có triệu chứng nghi ngờ trong vòng 15 phút; cách ly tại nhà khi có triệu chứng [38, 134].

- Các biện pháp đối với cơ sở sản xuất:

Tổ chức sàng lọc, phát hiện sớm trường hợp có triệu chứng nghi ngờ bằng giám sát thân nhiệt hoặc xét nghiệm định kỳ bằng test nhanh. Khi phát hiện ca bệnh phải tổ chức cách ly tại nhà hoặc cách ly tạm thời tại nơi sản xuất. Yêu cầu công nhân mang quần áo bảo hộ (PPE) ở những khu vực có nguy cơ lây nhiễm cao...[38]. Tổ chức truyền thông cho người lao động về mầm bệnh và các biện pháp dự phòng cá nhân. Đồng thời, cần hạn chế số lượng lớn công nhân làm cùng ca làm việc hoặc tổ chức làm việc theo từng nhóm để thuận lợi cho theo dõi [38]...Thêm vào đó, cần khuyến cáo công nhân tiêm vắc xin phòng COVID-19 càng sớm càng tốt [134].

- Các biện pháp đối với môi trường làm việc:

Tổ chức vệ sinh, khử trùng bề mặt các khu vực sản xuất, khu vực thường xuyên tập trung đông người bằng các loại hóa chất như ethanol (60-70%, oxy già (0,5%); quản lý, xử lý chất thải đúng quy định...Đảm bảo thông khí tại các khu vực sản xuất; thực hiện các biện pháp kỹ thuật để đảm bảo khoảng cách giữa người lao động. Ngoài ra, cần hạn chế việc tiếp xúc gần (trong khoảng cách 2 mét trên 15 phút) giữa người với người, đặc biệt là tại các nơi khép kín (phòng họp, phòng chờ,...) [38, 134].

1.1.7. Tình hình dịch bệnh trên thế giới và Việt Nam

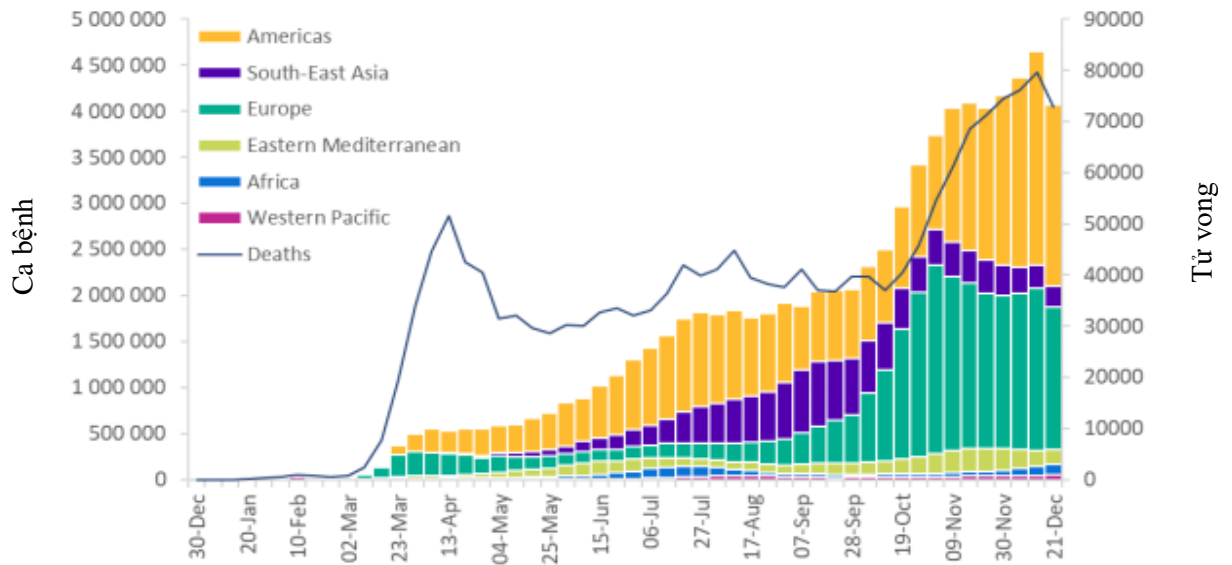
1.1.7.1. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới.

Tháng 12/2019 tại Vũ Hán (Hồ Bắc, Trung Quốc), COVID-19, dịch viêm đường hô hấp cấp do chủng mới của vi rút Corona bùng phát và lan rộng ra 31 tỉnh thành của Trung Quốc. Sau đó đã lan ra hầu hết các quốc gia trên thế giới với tốc độ lây nhiễm rất cao [76].

Đến giữa tháng 01/2020, dịch bệnh đã lan rộng và ngày 30/1/2020, Tổ chức Y tế thế giới đã công bố “Tình trạng Y tế khẩn cấp về sức khỏe cộng đồng toàn cầu” do sự lây lan của vi rút corona [151]. Ngày 11/3/2020, dịch COVID-19 xuất hiện ở 114 quốc gia với hơn 118.000 ca mắc và hơn 4.000 ca tử vong [164], WHO đã công bố dịch viêm đường hô hấp cấp do vi rút nCoV trở thành “Đại dịch viêm đường hô hấp cấp - COVID-19” . .

** Tình hình dịch khi xuất hiện biến thể Alpha (B.1.1.7) và Delta (B.1.617.2).*

Tháng 12/2020 biến thể Alpha (B.1.1.7) xuất hiện ở Anh, đến tháng 3/2021, biến thể này đã lan tới 111 quốc gia và vùng lãnh thổ. Chỉ trong vòng 4 tuần, Alpha trở thành biến thể phổ biến, chiếm 92% các trình tự được báo cáo [42]. Đặc trưng của Alpha có 17 đột biến trên protein [20, 59], trong đó có 1 số đột biến tại protein gai (N501Y, P681H, D614G, N439K...) làm cho vi rút có khả năng bám dính, xâm nhập vào tế bào vật chủ dễ dàng hơn và tăng khả năng lây nhiễm [69]. Cùng thời gian đó, biến thể Delta (B.1.617.2) xuất hiện tại Ấn Độ từ tháng 10/2020 và lây lan đến ít nhất 185 quốc gia và vùng lãnh thổ. Biến thể này có tới 23 đột biến, trong đó có 12 đột biến trên protein S, đáng chú ý các đột biến T19R, L452R, T478K, D614G, P681R và D960N làm tăng ái lực của vi rút với thụ thể ACE2. So với các biến thể trước đó, người nhiễm Delta có tải lượng vi rút ở hầu họng cao hơn và thời gian phát tán vi rút cũng lâu hơn [152].



Hình 1.2. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới đến ngày 27/12/2020
(Nguồn: WHO [165])

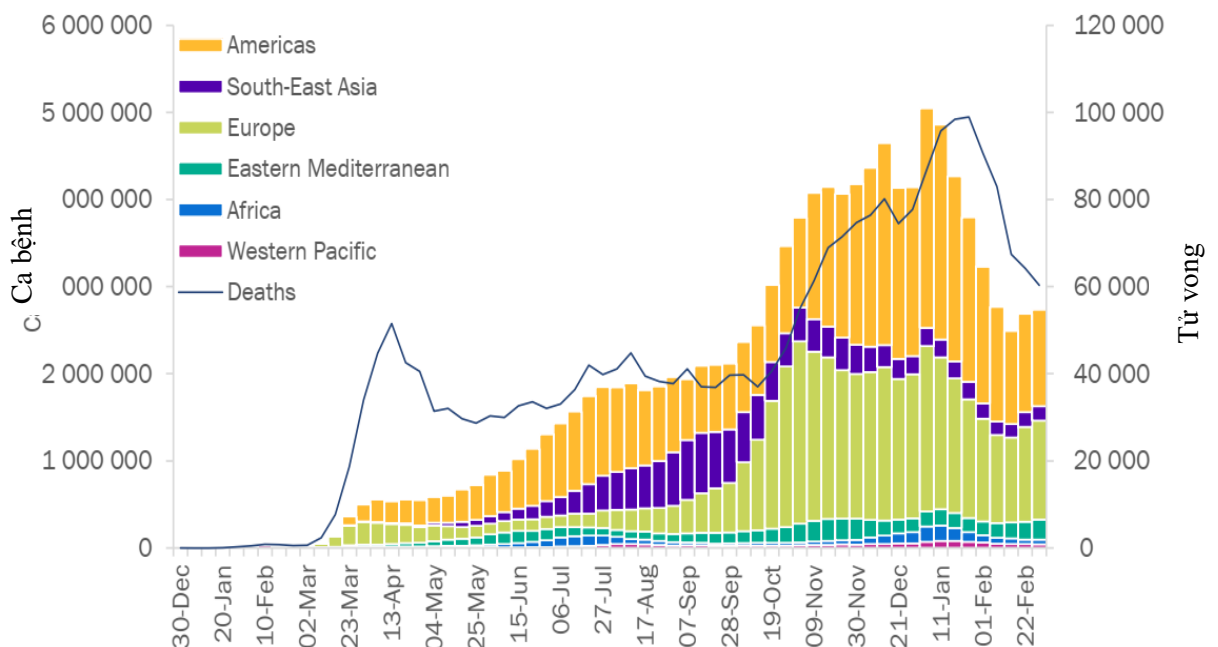
Sự xuất hiện của các biến thể mới như Alpha và Delta đã làm cho tình hình dịch bệnh toàn cầu trở nên phức tạp hơn. Trong giai đoạn này, dịch COVID-19 đã lây lan ở hầu hết các quốc gia và vùng lãnh thổ với trên 4 triệu ca mắc mới và khoảng 72.000 ca tử vong được ghi nhận mỗi tuần, nâng tổng số mắc lên mức trên 79 triệu ca và trên 1,7 triệu trường hợp tử vong trên toàn cầu [165].

Trong số đó, Châu Mỹ bị ảnh hưởng nặng nhất với trên 34,4 triệu ca mắc (chiếm tỉ lệ 43%) và hơn 840 nghìn ca tử vong (47%); tiếp đến là Châu Âu với trên 25,2 triệu ca mắc (31%) và trên 554 nghìn ca tử vong (31%). Tại khu vực Đông Nam Á, gần 12 triệu ca (14%) và hơn 180 nghìn ca tử vong (10%) được báo cáo, trong khi tại khu vực Đông Địa Trung Hải có trên 4,8 triệu ca mắc (6%) và trên 119 nghìn ca tử vong (6%). Ít bị ảnh hưởng hơn cả là tại khu vực Châu Phi với hơn 1,8 triệu ca mắc (trương đương 2%), hơn 40 nghìn ca tử vong (2%) và khu vực Tây Thái Bình Dương với hơn 1 triệu ca (1%) và hơn 19 nghìn ca tử vong (khoảng 1%) [165].

** Tình hình dịch khi xuất hiện biến thể Beta (B.1.351)*

Biến thể Beta (B.1.351) được xác định là VOC vào tháng 02/2021 tại Nam Phi, đến 09/3/2021 đã có mặt ở 58 quốc gia và vùng lãnh thổ thuộc 06 khu vực WHO; biến thể này có nhiều đột biến gen, trong đó có đột biến N501Y trên protein gai, có liên quan đến sự lây lan nhanh hơn của vi rút.

Trong tuần đầu tháng 3/2021, hơn 2,7 triệu ca mắc mới (tăng 2% so với tuần trước đó) được báo cáo trên toàn cầu. Trong các khu vực của WHO, khu vực Địa Trung Hải tăng 10% số ca, Châu Phi tăng 10% và Châu Âu tăng 4% số ca. Trong khi Châu Mỹ, khu vực Đông Nam Á giảm 2% và khu vực Tây Thái Bình Dương giảm 6% số ca. Nhìn chung, tình hình dịch trên toàn cầu có xu thế giảm nhưng 50% số khu vực lại có dấu hiệu tăng. Số ca tử vong vì COVID-19 cũng có xu hướng giảm, nhưng riêng Địa Trung Hải lại có số tử vong tăng 9% so với tuần trước đó; Châu Mỹ và Châu Âu chiếm tới 80% số ca mắc và số ca tử vong vì COVID-19 trên toàn cầu.

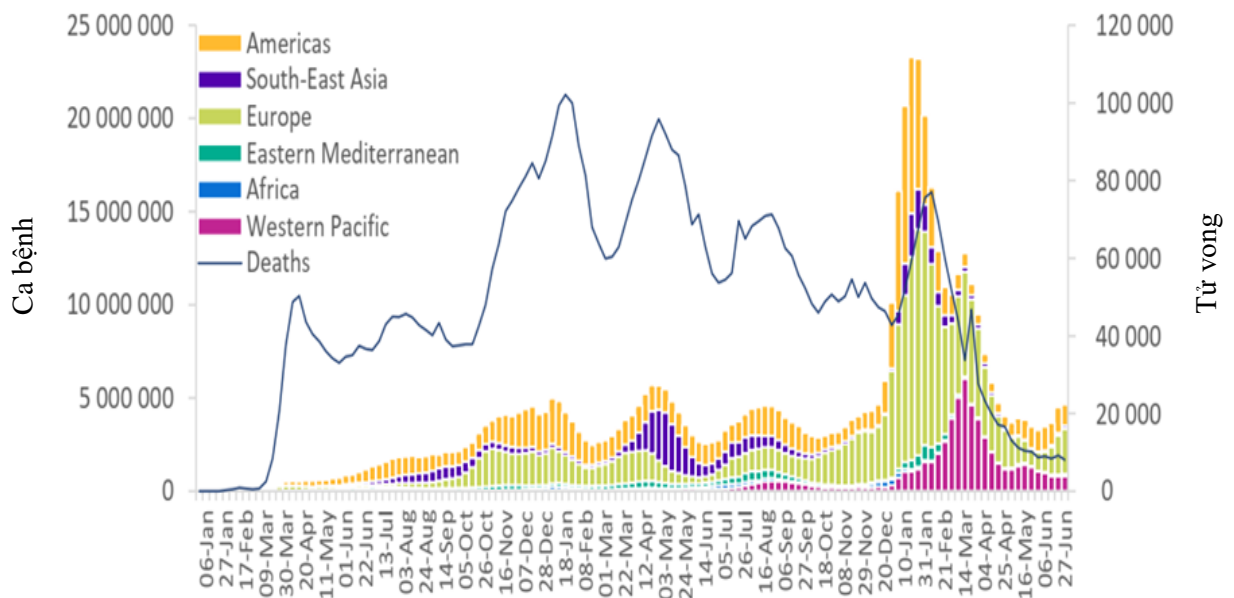


Hình 1.3. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới đến ngày 07/3/2021 (Nguồn WHO).

** Tình hình dịch khi xuất hiện biến thể Omicron*

Biến thể Omicron (B.1.1.529) được báo cáo lần đầu tiên tại Nam Phi vào tháng 11/2021 đã lan nhanh sang quốc gia Châu Âu và hầu hết các quốc gia trên thế giới [80]. Biến thể này gây bệnh nhẹ hơn so với Delta, nhưng tốc độ lây lan nhanh và dễ dàng hơn. Omicron có một số đột biến trên protein S làm cho vi rút có ái lực cao hơn với thụ thể ACE2. Một số nghiên cứu chỉ ra R_t của Omicron cao hơn 4,2 lần so với Delta. Ngoài ra, giảm hiệu quả trung hòa vi rút của vắc xin phòng COVID-19 góp phần làm tăng khả năng lây lan của Omicron [84].

Đến ngày 03/7/2022, thế giới ghi nhận trên 546 triệu ca mắc và hơn 6,3 triệu người tử vong vì COVID-19; dịch bệnh có xu thế giảm mạnh. Trong đó, khu vực Châu Âu có trên 230 triệu ca, tiếp đến là khu vực Châu Mỹ với gần 164 triệu ca, khu vực Tây Thái Bình Dương với khoảng 65 triệu ca; khu vực Đông Nam Á với 58,6 triệu ca, khu vực Đông Địa Trung Hải với hơn 22 triệu ca và hơn 9,0 triệu ca ghi nhận tại Châu Phi [167].



Hình 1.4. Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới đến ngày 06/7/2022

(Nguồn: WHO [167])

Để ứng phó với dịch bệnh, các quốc gia có các chiến lược và chính sách kiểm soát dịch bệnh khác nhau. Một số nước châu Âu và Hoa Kỳ chủ trương tạo “miễn dịch trong cộng đồng” trong giai đoạn đầu của đại dịch, xác định mọi người đều sẽ phơi nhiễm nên không áp dụng các biện pháp cách ly, phong tỏa. Tuy nhiên, trước tình trạng số ca mắc, ca tử vong tăng cao và quá tải của hệ thống y tế, các nước Châu Âu, Mỹ đã phải thay đổi chiến lược kiểm soát dịch COVID-19 bằng biện pháp chặt chẽ hơn như: kiểm soát các ca bệnh, cách ly các trường hợp tiếp xúc gần, thực hiện các biện pháp giãn cách xã hội (đóng cửa trường học, các lĩnh vực sản xuất không thiết yếu) và đẩy mạnh việc nghiên cứu phát triển vắc xin. Trong khi đó một số quốc gia Châu Á như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, và các nước Đông Nam Á áp dụng các biện pháp kiểm soát dịch chặt chẽ hơn như đóng biên, phong tỏa khu vực có ca bệnh, tiến hành các biện pháp truy vết, cách ly, xét nghiệm, điều trị tích cực ca bệnh, do đó đã kiểm soát dịch bệnh hiệu quả.

Từ 13/3/2023 đến 09/4/2023, thế giới ghi nhận thêm 3 triệu ca mắc mới và trên 23.000 ca tử vong, giảm 28% số ca mắc và 30% số ca tử vong so với tháng trước đó (từ 12/2 - 12/3/2023). Châu Âu là khu vực ghi nhận số ca mắc mới cao nhất với gần 1,3 triệu ca (khoảng 42% ca mắc toàn cầu), tiếp đến là khu vực Châu Mỹ với gần 900.000 ca (29%), khu vực Tây Thái Bình Dương với gần 720.000 ca (24%). Riêng khu vực Đông Nam Á, số mắc khoảng 80.000 ca (chiếm 3% số mắc toàn cầu), số chết 309 ca (1%); so với tháng trước đó, tỉ lệ mắc mới tăng 4,8 lần, tỉ lệ tử vong tăng 1,09 lần [168].

Đến ngày 08/4/2023, tổng số 762.201.169 ca nhiễm COVID-19, 6.893.190 trường hợp tử vong vì COVID-19 được báo cáo trên toàn cầu. Tuy nhiên số liệu này thấp hơn con số thực tế do giảm xét nghiệm tầm soát và việc báo cáo dịch bệnh không kịp thời của nhiều quốc gia. Ngày 05/5/2023, WHO

công bố dịch COVID-19 không còn là tình trạng khẩn cấp về y tế công cộng gây quan ngại toàn cầu nhưng đại dịch vẫn chưa kết thúc [3].

Tính đến cuối tháng 8/2023, thế giới có hơn 769 triệu trường hợp mắc và hơn 6,9 triệu trường hợp tử vong vì COVID-19. Gần 1,5 triệu ca mắc mới (tăng 63%) và gần 2.000 ca tử vong (giảm 48%) được ghi nhận từ 24/7 - 20/8/2023. [169].

Vi rút SARS-CoV-2 tiếp tục biến đổi, WHO hiện đang theo dõi sự biến đổi của một số biến thể SARS-CoV-2 như: XBB.1.5, XBB.1.16, EG.5 và một số biến thể cần được giám sát (VUMs) như BA.2.75, BA.2.86, CH.1.1, XBB, XBB.1.9.1, XBB.1.9.2 và XBB.2.3.

1.1.7.2. Tình hình dịch COVID-19 tại Việt Nam

Ngày 23/01/2020, Việt Nam ghi nhận 2 bệnh nhân COVID-19 đầu tiên tại Bệnh viện Chợ Rẫy (TP HCM) là hai cha con người Vũ Hán - Trung Quốc, đây là những ca bệnh nhập cảnh từ Trung Quốc vào Việt Nam [129].

Đến ngày 03/6/2023, Việt Nam ghi nhận hơn 11 triệu ca nhiễm, hơn 43.000 ca tử vong [5] và đã trải qua 04 giai đoạn của dịch:

Giai đoạn 1: Từ ngày 23/01/2020 đến ngày 24/7/2020, với tổng số 415 ca nhiễm, trong đó 106 ca trong nước và 309 ca nhập cảnh.

Giai đoạn 2: Từ ngày 25/7/2020 đến 27/01/2021 với tổng số 1.136 ca nhiễm (trong đó có 554 ca bệnh trong nước và 582 ca nhập cảnh) và 35 trường hợp tử vong liên quan đến COVID-19 (chủ yếu là các ca có bệnh lý nền, tuổi cao)

Giai đoạn 3: Từ ngày 28/01/2021 (ngày phát hiện ca bệnh đầu tiên là công nhân nhà máy POYUN, tỉnh Hải Dương) đến ngày 26/4/2021 với tổng số 1.301 ca, trong đó 910 ca lây nhiễm trong nước và 391 ca nhập cảnh; không có trường hợp nào tử vong vì dịch bệnh.

Giai đoạn 4: Từ ngày 27/04/2021 là giai đoạn dịch bùng phát đột ngột, tâm điểm là tại thành phố Hồ Chí Minh, cả nước ghi nhận hơn 10 triệu ca mắc (phần lớn là các ca lây nhiễm trong nước) và trên 43.000 trường hợp tử vong.

Giai đoạn 4, thời kỳ từ ngày 27/4/2021-11/10/2021:

Từ ngày 27/4/2021 đến ngày 11/10/2021 cả nước ghi nhận 998.045 ca mắc (995.962 ca trong nước và 2.083 ca nhập cảnh) [12]. Nguồn lây xuất phát từ nhóm chuyên gia nước ngoài cách ly sau nhập cảnh tại Yên Bái rồi lan ra một số địa phương như Vĩnh Phúc, TP. Hồ Chí Minh, Bình Dương, Hà Nội; sau đó dịch lan ra cộng đồng ở 63 tỉnh, thành phố. Với tính chất đa nguồn lây, đa chủng, đa ổ bệnh và đã xâm nhập sâu trong cộng đồng, xuất hiện ở mọi lứa tuổi, dịch bệnh tấn công vào các khu công nghiệp, nhà máy, cơ sở y tế, trường học, cơ quan hành chính, nhóm sinh hoạt tôn giáo... làm số mắc tăng nhanh.

Đến cuối tháng 5/2021, dịch đã lây lan ra hơn 30 tỉnh, thành phố và bùng phát mạnh tại tỉnh Bắc Ninh, Bắc Giang; tấn công vào các khu công nghiệp, nhà máy, xí nghiệp, nơi ở và sinh hoạt tập trung đông công nhân, cộng đồng dân cư nơi có công nhân lưu trú [6].

Cuối tháng 6/2021, Bắc Ninh, Bắc Giang đã cơ bản kiểm soát được dịch bệnh nhưng tại Đà Nẵng, Hà Nội, Thành phố Hồ Chí Minh và một số địa phương khác ghi nhận các ca bệnh không rõ nguồn lây. Thành phố Hồ Chí Minh ghi nhận rải rác các ca mắc mới từ cuối tháng 4/2021. Dịch bắt đầu bùng phát từ ngày 26/5/2021 với các ca bệnh được phát hiện từ nhóm truyền giáo Phục Hưng, sau đó số mắc tăng nhanh với hơn 20 chuỗi lây nhiễm trên toàn địa bàn Thành phố. Đến 31/5/2021, Thành phố Hồ Chí Minh đã ghi nhận 260 ca mắc và quyết định áp dụng giãn cách xã hội theo Chỉ thị 15/CT-TTg trên toàn địa bàn và một số khu vực theo Chỉ thị 16/CT-TTg. Trong hơn 1 tháng thực hiện giãn cách xã hội, dịch bệnh vẫn tiếp tục gia tăng và lan rộng, số mắc hàng ngày tăng liên tục, đến ngày 05/7/2021 đã vượt 1.000 ca mắc mới mỗi ngày.

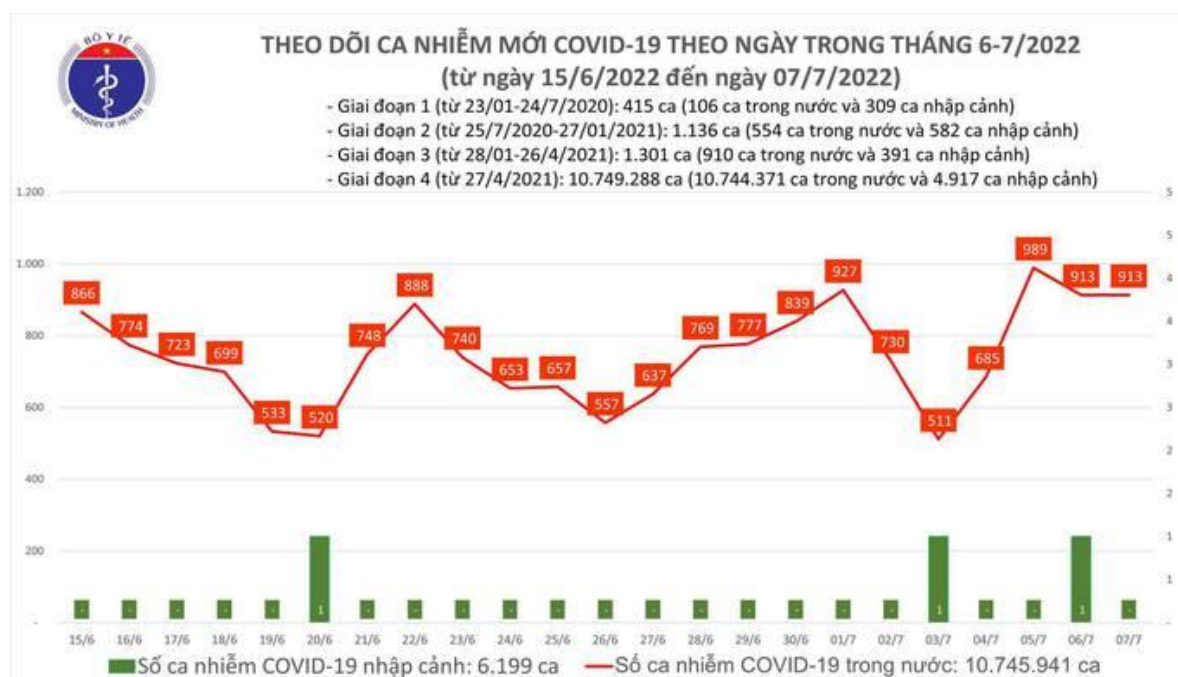
Đến ngày 09/7/2021, Thành phố quyết định áp dụng Chỉ thị số 16/CT-TTg trên toàn địa bàn. Ngoài ra tại các tỉnh trọng điểm kinh tế trong khu vực phía Nam như Bình Dương, Đồng Nai, Long An và các tỉnh Trung Bộ, Tây Nam Bộ dịch bắt đầu có xu hướng lan rộng. Chính phủ, Bộ Y tế, Bộ Quốc phòng đã huy động hàng trăm ngàn lượt cán bộ nhân viên y tế, cán bộ, chiến sỹ vào các điểm nóng của dịch để thiết lập các bệnh viện dã chiến truyền nhiễm để thu dung, điều trị bệnh nhân; tổ chức chiến dịch tiêm vắc xin diện rộng, xét nghiệm sàng lọc tại các điểm nóng; đồng thời đảm bảo an sinh xã hội tại các khu vực bị phong tỏa. Sau hơn 5 tháng xảy ra đợt dịch thứ 4, đến hết ngày 10/10/2021 dịch đã cơ bản được kiểm soát trên phạm vi toàn quốc với 835.036 ca mắc tại cộng đồng ở 62 tỉnh, thành phố, trong đó có 20.520 ca tử vong (tỷ lệ chết/mắc là 2,4%) [12].

Tổng số ca tử vong do COVID-19 tại Việt Nam tính đến tháng 7/2022 là 43.089 ca, chiếm tỷ lệ 0,4% so với tổng số ca nhiễm, xếp thứ 24/227 vùng lãnh thổ; số ca tử vong trên 1 triệu dân xếp thứ 134/227 quốc gia, vùng lãnh thổ trên thế giới [5].

Giai đoạn 4, thời kỳ từ ngày 12/10/2021 đến nay:

Từ ngày 12/10/2021, Việt Nam chuyển sang giai đoạn “*thích ứng linh hoạt, an toàn, kiểm soát hiệu quả dịch COVID-19*” trong phòng chống dịch (khi Nghị quyết 128/NQ-CP ngày 11/10/2021 của Chính phủ được ban hành). Giãn cách xã hội được nới lỏng; chiến lược chăm sóc, điều trị COVID-19 được điều chỉnh để phù hợp với tình hình dịch bệnh. Ca bệnh COVID-19 nhẹ hoặc không triệu chứng được cách ly, điều trị tại nhà giúp giảm tải cho hệ thống các cơ sở điều trị COVID-19. Số ngày cách ly đối với các trường hợp tiếp xúc gần với ca bệnh cũng được điều chỉnh theo hướng rút ngắn. Ngoài ra, chiến dịch tiêm chủng Quốc gia vắc xin phòng COVID-19 được đẩy nhanh cùng với các nỗ lực ngoại giao vắc xin nên đã sớm phủ được vắc xin cho hầu hết người dân; điều này góp phần to lớn vào việc kiểm soát tình hình dịch bệnh, giảm số ca

tiến triển nặng và tử vong vì COVID-19; các bệnh viện đã chiến tuyến nhiễm giải thể, các bệnh viện điều trị COVID-19 chuyển về hoạt động chuyên môn bình thường, duy trì một số lượng nhất định giường bệnh cho các trường hợp nặng và tử vong; người mắc COVID-19 nhẹ hoặc không triệu chứng có thể tự cách ly, điều trị tại nhà.



Hình 1.5. Tình hình dịch COVID-19 tại Việt Nam tháng 6-7/2022

(Nguồn: Bộ Y tế [5])

Sáu tháng cuối năm 2022, số ca mắc COVID-19 giảm mạnh, ghi nhận dưới 1.000 ca mắc mới mỗi ngày, tỉ lệ bệnh nhân chuyển nặng, phải nhập viện điều trị rất thấp [5]. Từ tháng 01/2023 đến tháng 3/2023, dịch bệnh trong nước được kiểm soát tốt, có thời điểm không ghi nhận ca mắc mới trong ngày. Trong khoảng thời gian từ 15/3 - 13/4/2023, số ca mắc trung bình khoảng 20 ca/ngày. Tuy nhiên từ đầu tháng 4, cả nước đã ghi nhận 639 ca mắc mới, trung bình có 90 ca mắc mới mỗi ngày; trong đó nhóm từ 50 tuổi trở lên ghi nhận 193 ca (chiếm 30,2% số mắc mới). Số ca nhập viện cũng có xu hướng gia tăng; số bệnh nhân nặng ghi nhận trong tuần là 10 ca, trung bình ghi nhận 1-2 ca nặng

mỗi ngày [4]. Dịch bệnh sau đó chuyển sang xu thế giảm mạnh về số ca mắc mới, ca tiến triển nặng.

Năm 2023, dịch COVID-19 được kiểm soát trên phạm vi cả nước với số mắc và tử vong giảm sâu. Từ tháng 01/2023 đến tháng 10/2023, cả nước ghi nhận hơn 98.000 ca mắc, 20 trường hợp tử vong (không có trường hợp nào tử vong trong 5 tháng vừa qua). Trung bình hàng tháng ghi nhận khoảng 10.000 ca mắc, số mắc trung bình tháng giảm 14 lần so với năm 2022 và giảm 82 lần so với năm 2021. Tỷ lệ tử vong do COVID-19 giảm từ 1.86% năm 2021 xuống 0,11% năm 2022 và hiện còn 0,02% trong năm 2023. Trước tình hình đó, Ban Chỉ đạo quốc gia phòng, chống dịch COVID-19 đã thống nhất chuyển COVID-19 từ bệnh truyền nhiễm nhóm A sang bệnh truyền nhiễm nhóm B [3].

1.2. Một số đặc điểm vi rút học SARS-CoV-2

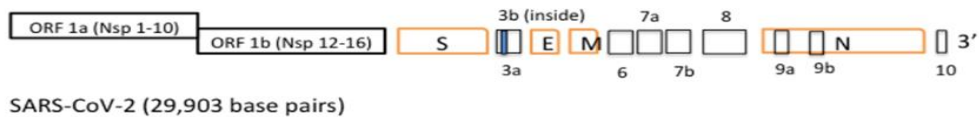
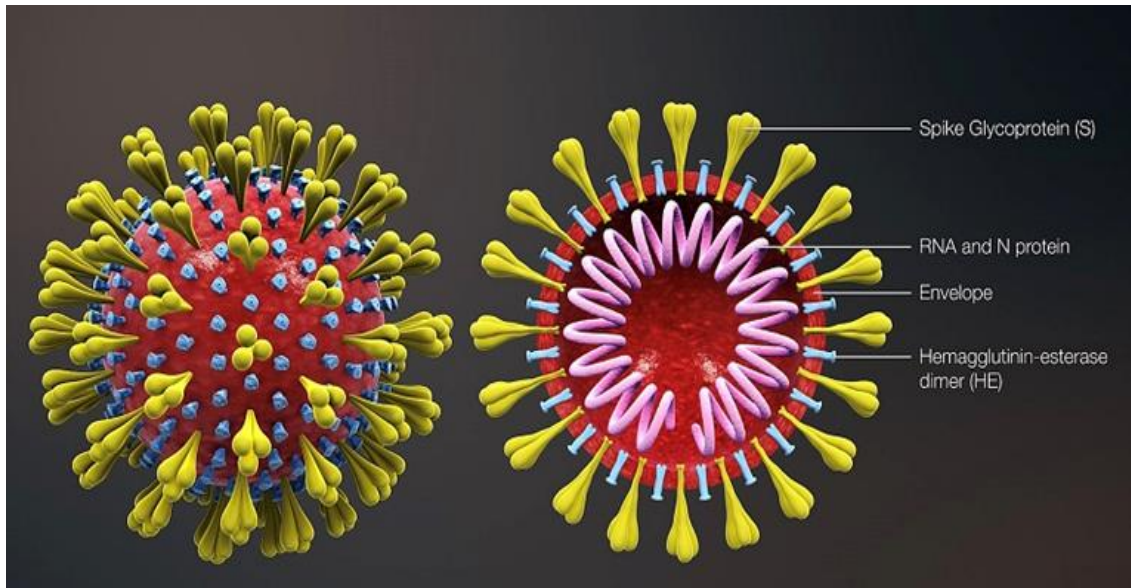
1.2.1. Đặc điểm sinh học phân tử vi rút SARS-CoV-2

1.2.1.1. Hình thái cấu trúc, hệ gen của vi rút SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 thuộc chi Beta Coronavirus, phân họ *Coronavirinae*, họ *Coronaviridae* [3].

SARS-CoV-2 có bộ gen tương đồng 79,5% với gen của chủng vi rút SARS-CoV gây dịch SARS năm 2003, tương đồng 50% với gen của chủng vi rút MERS-CoV gây dịch MERS-CoV năm 2012 và có sự tương đồng tới 96% gen của vi rút corona trên loài dơi móng ngựa có ở Vũ Hán (Trung Quốc) [91],[107].

SARS-CoV-2 có cấu trúc hình cầu, đường kính trung bình từ 70-120 nm. Bộ gen của vi rút là một sợi ARN đơn dương có độ dài khoảng 26-32 kilobase, lớn nhất đối với các vi rút RNA. Vi rút corona gồm các protein S tạo các gai trên bề mặt vi rút, protein E (Envelope), M (Membrane), và N (Nucleocapsid) [14, 177].



Hình 1.6. Hình thái cấu trúc và hệ gen vi rút SARS-CoV-2

(Nguồn: Akram, A và CS [14])

Hệ gen của vi rút SARS-CoV-2 có 29.903 nucleotid mã hoá cho 16 protein không cấu trúc được nhóm vào 2 khung đọc mở ORF1a (Nsp 1-10) và ORF1b (Nsp11-16) và 4 protein cấu trúc S, E, M và N.

Giám sát sự tiến hoá của SARS-CoV-2 là rất cần thiết để kiểm soát sự lây lan vi rút. Sự tiến hoá thích nghi của vi rút này chủ yếu ảnh hưởng đến các vị trí trên protein gai (S) và nucleocapit (N), dựa vào sự kết hợp các đột biến trên các đoạn gen và giữa các gen khác nhau của vi rút SARS-CoV-2. Sự đa dạng thích ứng này sẽ tạo ra các biến thể và là yếu tố quan trọng kéo dài đại dịch; đồng thời thúc đẩy việc nghiên cứu, phát triển các vắc xin đặc hiệu cho các biến thể mới xuất hiện.

Bảng 1.1. Các protein không cấu trúc của vi rút SARS-CoV-2 [119]

| Protein | Số acid amin | Vai trò / chức năng |
|----------------|---------------------|---|
| Nsp1 | 180 | Hỗ trợ vi rút trốn tránh hệ miễn dịch |
| Nsp2 | 638 | Yếu tố cần thiết cho sự nhân lên của vi rút. |
| Nsp3 | 1945 | Tạo thành phức hợp protein sao chép-phiên mã |
| Nsp4 | 500 | Có vai trò đối với quá trình sao chép RNA |
| Nsp5 | 306 | Là một protease 3-chymotrypsin-like (3CLpro), ảnh hưởng đến sự nhân lên của vi rút |
| Nsp6 | 290 | |
| Nsp7 | 83 | Góp phần hình thành gen RdRp (ARN phụ thuộc ARN polymerase). |
| Nsp8 | 198 | |
| Nsp9 | 113 | Tham gia vào quá trình sao chép RNA vi rút, liên quan đến cơn bão cytokine và làm tăng tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân. |
| Nsp10 | 139 | Làm tăng sản xuất cả IL-8 và IL-6, gây phản ứng viêm tương tự như nsp9 |
| Nsp11 | 13 | Chưa rõ |
| Nsp12 | 932 | Vai trò trong hoạt động của polymerase |
| Nsp13 | 601 | Vai trò trong quá trình sao chép và phiên mã |
| Nsp14 | 527 | Vai trò của Exoribonuclease |
| Nsp15 | 346 | Vai trò của Endoribonuclease |
| Nsp16 | 298 | Vai trò trong quá trình phiên mã |

1.2.1.2. Phân loại các biến thể vi rút SARS-CoV-2

Vi rút biến đổi liên tục thông qua các đột biến trên hệ gen, khi vi rút có một hoặc nhiều đột biến mới làm thay đổi đặc tính của vi rút so với vi rút gốc được gọi là biến thể. Từ khi đại dịch COVID-19 bắt đầu, vi rút SARS-CoV-2 - đã biến đổi liên tục, kết quả đã tạo ra nhiều biến thể của vi rút; những biến thể này được giám sát và phân loại theo các số liệu điều tra dịch tễ, trình tự hệ gen của vi rút và các nghiên cứu tại phòng thí nghiệm. Các biến thể của vi rút SARS-CoV-2 được phân loại thành: biến thể cần được giám sát, biến thể quan tâm, biến thể quan ngại, và biến thể gây hậu quả nghiêm trọng [153]:

* *Biến thể cần được giám sát (Variants under Monitoring - VUMs)*

Biến thể với những thay đổi về di truyền được nghi ngờ có thể ảnh hưởng đến các đặc tính của vi rút với một số dấu hiệu cho thấy nó có thể là nguy cơ trong tương lai, nhưng chưa có bằng chứng về tác động của kiểu hình hoặc đặc điểm dịch tễ học chưa rõ ràng, cần tiếp tục theo dõi và đánh giá.

Một số biến thể của SARS-CoV-2 từng được xếp vào nhóm VUMs bao gồm: BA.2.86 (tháng 9/2023), XBB.1.16 (9/2023), XBB.1.5, CH.1.1 và BA.2.74 (9/2023), B.1.1.7 và dòng Q (21/9/2021), B.1.351 (21/9/2021), P.1 (21/9/2021), B.1.617.2 (14/4/2022), B.1.427, B.1.429...[153]

Cuối tháng 11/2023, WHO tiếp tục giám sát một số VUMs của SARS-CoV-2 như DV.7, XBB*, XBB.1.9.1, XBB.1.9.2 (23D) và XBB.2.3 [170]

* *Biến thể quan tâm (Variants of Interest - VOIs)*

Những biến thể đáng quan tâm có một số đặc điểm sau đây: Những thay đổi di truyền được dự đoán hoặc biết là có ảnh hưởng đến các đặc điểm của vi rút như: khả năng lây truyền, mức độ nghiêm trọng của bệnh, trốn thoát miễn dịch, giảm hiệu quả chẩn đoán hoặc điều trị; và:

Được xác định là nguyên nhân gây ra lây truyền cộng đồng hoặc nhiều chùm ca bệnh COVID-19, ở nhiều quốc gia với số trường hợp gia tăng theo thời gian, hoặc các tác động dịch tễ học rõ ràng khác cho thấy một nguy cơ mới đối với sức khỏe cộng đồng toàn cầu.

Một số biến thể của SARS-CoV-2 từng được xếp vào nhóm biến thể quan tâm bao gồm: Biến thể Eta (B.1.525) được ghi nhận vào cuối tháng 12/2020 ở nhiều nước trên thế giới; biến thể Iota (B.1.526) được ghi nhận lần đầu tiên tại Hoa Kỳ vào cuối tháng 11/2020; biến thể Kappa (B.1.617.1) ghi nhận tại Ấn Độ vào khoảng tháng 10/2020, trong khi biến thể Lamda (C.37) được ghi nhận tại Peru vào tháng 12/2020. Đến cuối 12/2023, một số VOIs được WHO giám sát bao gồm: XBB.1.5, XBB.1.16, EG.5, BA.2.86, JN.1 [170]

** Biến thể quan ngại (Variants of Concern -VOCs)*

Biến thể SARS-CoV-2 đáp ứng định nghĩa của biến thể quan tâm, thông qua đánh giá so sánh đã được chứng minh là có liên quan đến một hoặc nhiều thay đổi sau đây ở mức độ có ý nghĩa đối với sức khỏe cộng đồng toàn cầu:

Tăng khả năng lây truyền hoặc thay đổi bất lợi trong dịch tễ học COVID-19; hoặc tăng độc lực hoặc thay đổi biểu hiện bệnh lâm sàng; hoặc giảm hiệu quả của các biện pháp xã hội và sức khỏe cộng đồng hoặc trong phương pháp chẩn đoán, điều trị, vắc xin sẵn có.

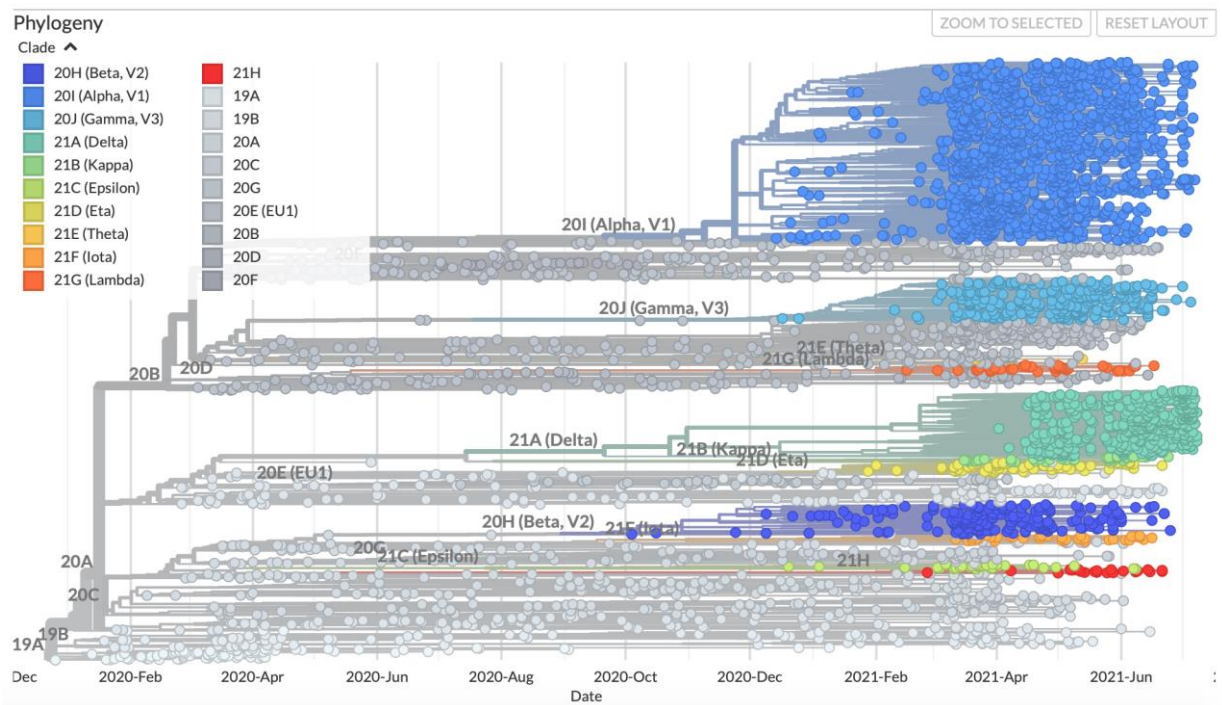
Một số biến thể từng được WHO coi là VOCs bao gồm: Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351, B.1.351.2, B.1.351.3), Gamma (P.1, P.1.1, P.1.2), Delta (B.1.617.2), và Omicron (B.1.1.529, BA.1, BA.1.1 BA.2;4; 5...) [153]. Đến cuối tháng 12/2023, không một biến thể nào của SARS-CoV-2 được xếp vào nhóm VOCs [170].

** Biến thể gây hậu quả nghiêm trọng (Variants of High Consequences)*

Biến thể gây hậu quả nghiêm trọng (VOHC) là biến thể gây giảm rõ rệt hiệu quả của các biện pháp phòng ngừa hoặc biện pháp ứng phó về y tế. Ngoài

các thuộc tính có thể có của một biến thể cần quan tâm (VOI), các thuộc tính có thể có của một biến thể gây hậu quả nghiêm trọng bao gồm:

Gây ảnh hưởng đến các biện pháp can thiệp về y tế; giảm khả năng phát hiện mầm bệnh của các biện pháp chẩn đoán; gây giảm đáng kể hiệu quả của vắc xin, biểu hiện ở việc tăng số lượng bệnh nhân COVID-19 những người được tiêm chủng vắc xin hoặc giảm khả năng bảo vệ người bệnh tiến triển nặng; giảm đáng kể tính nhạy cảm với các liệu pháp điều trị, và tăng số lượng bệnh nhân nhập viện, tăng số bệnh nhân tiến triển nặng. Tuy nhiên, chưa một biến thể VOHC nào được báo cáo hoặc ghi nhận.



Hình 1.7. Cây gia hệ của SARS-CoV-2 từ 12/2019 đến 02/2021 [31])

Tại Việt Nam, trước thời điểm phát hiện ca bệnh đầu tiên của đợt dịch thứ 3 (ngày 27/01/2021), tình hình dịch COVID-19 được kiểm soát tốt, không có ca mắc COVID-19 trong cộng đồng mà chỉ ghi nhận một số ca bệnh nhập cảnh (cách ly tại các cơ sở cách ly tập trung, được phát hiện và điều trị kịp thời); các biến thể của vi rút SARS-CoV-2 được theo dõi, giám sát chặt chẽ. Tuy nhiên, tình hình dịch trên thế giới và trong khu vực tại thời điểm đó đang diễn

biến rất phức tạp với sự lưu hành của biến thể Alpha (bắt nguồn từ Anh vào khoảng tháng 9/2020), do đó việc nghiên cứu, xác định nguồn gốc của vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại nhà máy POYUN tỉnh Hải Dương cũng như xác định các đặc tính lây nhiễm, đặc tính sinh học của mầm bệnh, để từ đó đề xuất điều chỉnh các biện pháp phòng, chống dịch là hết sức cần thiết.

1.2.1.3. Một số đột biến của SARS-CoV-2

Trong thành phần cấu trúc của SARS-CoV-2, protein gai (S) đóng vai trò quyết định trong việc xâm nhập của vi rút vào tế bào vật chủ. Do đó, các đột biến hay sự thay đổi các acid amin trên protein gai có vai trò chủ yếu trong việc thay đổi độc lực vi rút. Một số đột biến gen quan trọng được phát hiện trên protein gai gồm: D614G, E484K, N501Y, L452R, Q677, P681H, E484Q, S943P, V483a [40].

Đột biến D614G (thay thế Asp ở vị trí 614 bằng Gly) làm tăng khả năng xâm nhập của vi rút vào nhiều loại tế bào như tế bào phổi, gan, và ruột kết; đồng thời tăng khả năng kháng sự phân giải protein, do đó tăng khả năng lây nhiễm từ 4 - 9 lần [44].

Đột biến E484K làm tăng khả năng lây lan của vi rút, phát hiện ở chủng B.1.351 tại Nam Phi và chủng B.1.1.28 tại Brazil [68]. Đột biến này cho thấy vi rút SARS-CoV-2 tiếp tục biến đổi và có thể làm giảm hiệu quả của một số vắc xin phòng bệnh [173].

Đột biến N501Y trên RBD là đột biến gây lo ngại vì nó làm tăng ái lực của vi rút với thụ thể ACE2 và có thể làm giảm hiệu quả của kháng thể trung hòa vi rút [147].

Đột biến L452R được phát hiện lần đầu vào tháng 3/2020 tại Đan Mạch, có liên quan đến giảm hiệu quả trung hòa của kháng thể kháng vi rút và tăng khả năng lây nhiễm của vi rút [186].

Đột biến P681H được tạo ra khi mất một Proline và thay thế bằng một Histidin chứa imidazole ở vị trí acid amin thứ 681. Đột biến này có khả năng gây

ra sự phá vỡ các cầu nối disulfide bên trong và xung quanh RBD [113]. Tuy nhiên, không có bằng chứng đột biến này làm tăng khả năng lây nhiễm của vi rút [185].

Đột biến E484Q là kết quả của việc thay thế Glutamic acid (E) ở vị trí 484 bằng Glutamine (Q). Đột biến này làm tăng ái lực của vi rút với ACE2 và ghi nhận ở biến thể Delta gây các đợt bùng phát dịch tại Ấn Độ [37, 132].

** Đột biến gen trên một số chủng SARS-CoV-2*

Chủng Alpha (B.1.1.7)

Được phát hiện lần đầu tiên tại Anh vào cuối tháng 9/2020, biến chủng Alpha có tổng cộng có 23 đột biến được phát hiện ở chủng B.1.1.7 trong đó: 14 đột biến làm thay đổi protein, 3 đột biến mất đoạn và 6 đột biến câm (không thay đổi protein) [16]. Trong số các đột biến gen, có 10 đột biến trên protein gai (S), gồm: HV69-70del, Y144del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H liên quan đến việc bám dính và xâm nhập của vi rút vào tế bào vật chủ [45].

Ít nhất 3 đột biến ảnh hưởng đến chức năng của vi rút, bao gồm N501Y, P681H, và Δ H69/ Δ V70: Đột biến N501Y trên RBD làm tăng ái lực của vi rút với thụ thể ACE2 của người [147], trong khi P681H làm tăng khả năng xâm nhập, lây lan của vi rút B.1.1.7 [108]. Mất đoạn acid amin Δ H69/ Δ V70 trên protein gai liên quan đến khả năng lẩn tránh miễn dịch của vi rút và ảnh hưởng đến khả năng phát hiện protein gai vi rút của một số test kit thương mại [121].

Chủng Beta (B.1.351)

Được phát hiện ở Nam Phi vào đầu tháng 10 năm 2020, biến chủng Beta có chung một số đột biến giống với biến chủng Alpha.

Biến chủng Belta (501.V2 hay B.1.351) mang 3 đột biến (E484K, K417N và N501Y) tại các vùng quan trọng của gene, bao gồm cả N501Y, biến thể này không có đứt đoạn 69/70. Đây là nơi tạo ra protein gai mà vi rút dùng để gắn vào tế bào cơ thể người. Trong đó, E484K có khả năng làm giảm độ nhận biết

của kháng thể người với virus giúp vi rút vượt hàng rào miễn dịch do vắc xin COVID-19 sinh ra dễ dàng hơn [188]

Chủng Gamma (P.1)

Biến chủng P.1 lần đầu tiên được xác định ở Brazil với 4 đột biến trên hệ gen, trong đó ba đột biến đáng lo ngại K417T, E484K và N501Y. Đột biến E484K, cũng được tìm thấy trên biến chủng B.1.351 ở Nam Phi, giúp P.1 có thể gây tái nhiễm cho cả những người đã khỏi bệnh. Lí do E484K xuất hiện trên protein gai khiến P.1 thay đổi hình dáng, giúp vi rút tránh bị phát hiện bởi các kháng thể sản sinh sau khi tiêm vắc xin COVID-19, hoặc sau khi người bệnh mắc COVID-19 do các chủng vi rút khác [61].

Các đột biến N501Y và K417T cũng chính là nguyên nhân khiến biến chủng P.1 lây lan mạnh hơn các chủng vi rút khác [110].

Chủng Delta (B.1.617)

B.1.617 được phát hiện lần đầu tại Ấn Độ vào tháng 10 năm 2020, mang các đặc điểm từ các dòng ở California (B.1.427 và B.1.429), dòng ở Nam Phi (B.1.351) và Brazil (P.1).

Hai đột biến đáng chú ý của biến thể Delta bao gồm: đột biến ở vị trí 452 của protein và đột biến ở vị trí 484. Đây có thể là nguyên nhân gây tăng tỷ lệ nhập viện với bệnh nhân nhiễm biến thể Delta, cao hơn 85% so với biến thể Alpha, đặc biệt là với các bệnh nhân có bệnh lý nền như đái tháo đường, béo phì, tim mạch,...[180, 187].

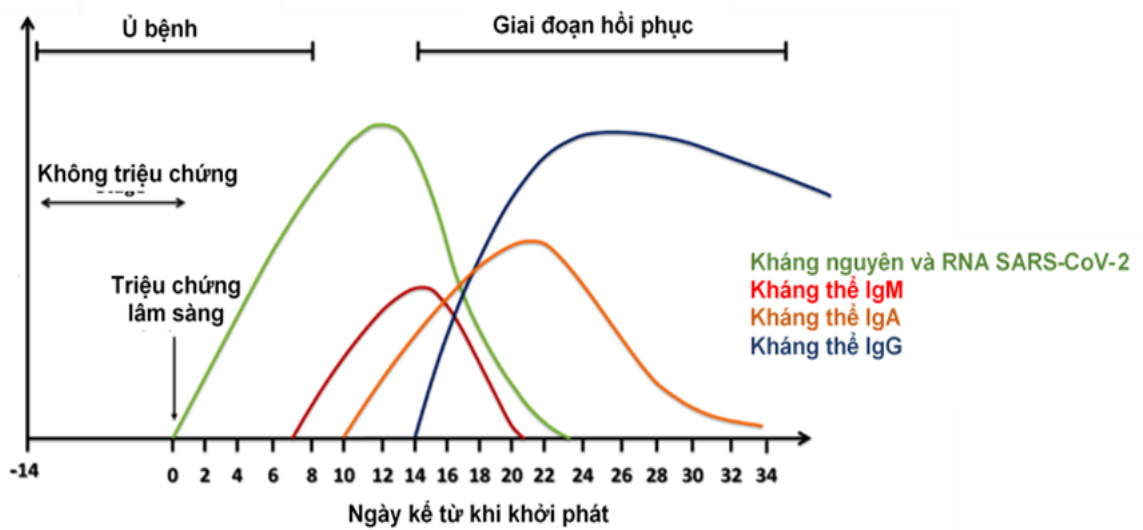
1.2.2. Tổng quan đặc điểm huyết thanh học của SARS-CoV-2

1.2.2.1. Đáp ứng miễn dịch kháng vi rút SARS-CoV-2

Khi vi rút SARS-CoV-2 xâm nhập vào cơ thể, hệ thống miễn dịch của cơ thể sẽ có đáp ứng chống lại quá trình nhiễm vi rút bằng cách sản xuất kháng thể đặc hiệu chống lại kháng nguyên protein N và protein S của vi rút. Trong đó, protein S gồm hai tiểu đơn vị là S1 và S2. Tiểu đơn vị S1 gồm vùng liên kết thụ

cảm thể (RBD) - là vùng liên kết vi rút - tế bào chủ và là đích chủ yếu của kháng thể trung hoà vi rút.

Kháng thể kháng vi rút bao gồm IgA, IgM, IgG có thể được phát hiện trong huyết thanh/huyết tương trong vòng 1 - 3 tuần sau nhiễm vi rút. Trong khi IgA và IgM giảm nhanh, kháng thể IgG (kháng protein S và N) tồn tại ít nhất vài tháng, tuy nhiên, tùy vào loại biến thể của SARS-CoV-2 mà thời gian tồn lưu kháng thể là khác nhau.



Hình 1.8. Đáp ứng kháng thể kháng vi rút SARS-CoV-2

(Nguồn: AK Azkur và CS [21])

Nghiên cứu trên 58 bệnh nhân nhiễm SARS-CoV-2 tại Trung Quốc năm 2020 cho thấy 28/58 (48,3%) bệnh nhân có đáp ứng kháng thể IgM sau 7 ngày, và đạt nồng độ KT cao nhất vào ngày 28, thời gian trung bình là 18 ngày; 45/58 (83,3%) bệnh nhân có kháng thể IgG từ ngày thứ 10 và đạt đỉnh vào ngày thứ 49, thời gian trung bình là 21 ngày [57].

Nghiên cứu khác trên 285 bệnh nhân nhiễm SARS-CoV-2 cho kết quả 100% bệnh nhân xuất hiện đáp ứng kháng thể IgG sau 19 ngày nhiễm bệnh, trong khi đó đáp ứng kháng thể IgM đạt ngưỡng cao nhất sau 20-22 ngày với tỷ lệ 94,1% [105].

Giám sát huyết thanh học SARS-CoV-2 được thực hiện tại Vũ Hán, Trung Quốc với cỡ mẫu hơn 26.473 người trên 4 nhóm đối tượng: bệnh nhân COVID-19 (1.470 người); nhân viên y tế trực tiếp điều trị bệnh nhân (3.832 người), người dân trong cộng đồng (19.555 người) và bệnh nhân khác điều trị tại nội trú (1.616 người). Kết quả: 89,8% bệnh nhân COVID-19 có kháng thể IgG, trong đó ở những nhân viên y tế chưa được xét nghiệm SARS-CoV-2 thì tỉ lệ (+) IgG là 4,0%; nhóm cộng đồng 4,6% và nhóm bệnh nhân khác 1,0%. Khoảng 10% bệnh nhân nhiễm SARS-CoV-2 không phát hiện được kháng thể IgG trong huyết thanh; chỉ 4,0% nhân viên y tế có kháng thể IgG trong khi đây là nhóm có nguy cơ cao, điều trị trực tiếp bệnh nhân dương tính COVID-19 ngay từ đầu vụ dịch khi các trang bị bảo hộ cá nhân chưa phù hợp hoặc còn thiếu, không có khả năng tạo ra các kháng thể bảo vệ lâu dài với SARS-CoV-2 [103].

1.2.2.2. Một số nghiên cứu về huyết thanh học SARS-CoV-2

Xét nghiệm huyết thanh học phát hiện kháng thể đặc hiệu IgG kháng SARS-CoV-2 có vai trò rất quan trọng trong phòng chống dịch COVID-19, được sử dụng để hỗ trợ xét nghiệm sàng lọc bệnh nhân, theo dõi điều trị và đề xuất chiến lược sử dụng vắc xin phòng bệnh [55, 174]. Nhiều nghiên cứu huyết thanh học được tiến hành trên thế giới cho thấy tỷ lệ người có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 rất khác nhau tùy theo các khu vực, cộng đồng dân cư, nghề nghiệp, thời điểm triển khai nghiên cứu...

** Nghiên cứu tại Châu Âu*

Tại Châu Âu, kết quả các nghiên cứu cho thấy tỉ lệ IgG (+) cao nhất ở những nhân viên phục vụ tại các trại dưỡng lão (81,2%) ở Luân Đôn, Anh, trong giai đoạn từ 10/4-13/4/2020 [93], thấp nhất ở những người hiến máu tình nguyện tại Đức (0,91%) trong giai đoạn từ 3/2020-6/2020 [57]. Tỉ lệ IgG (+) ở người hiến máu tình nguyện tại Hà Lan, trong nghiên cứu từ 01/4-15/4/2020, là 2,6% [145]; trong khi tỉ lệ học sinh và người sống cùng nhà có kháng thể

IgG trong nghiên cứu từ tháng 3/2020-4/2020 ở Pháp là 25,9%, đáng chú ý trong số người được xác nhận nhiễm SARS-CoV-2 thì có tới 17,0% không có triệu chứng lâm sàng [58].

Nghiên cứu trên đối tượng nhân viên y tế, kết quả nghiên cứu tại Anh cho tỷ lệ IgG (+) lên tới 75,0% [92]; nghiên cứu tại Tây Ban Nha cho kết quả 9,3%. Trong số những người có IgG (+), có khoảng 15% đối tượng đã được chẩn đoán nhiễm vi rút SARS-CoV-2 trước đó bằng RT-PCR [60].

Kết quả một nghiên cứu khác tại Bồ Đào Nha trên nhóm bệnh nhân COVID-19 cho thấy kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 tăng cao trong vòng 03 tuần đầu sau khi có triệu chứng, sau đó giảm dần; tuy nhiên kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 vẫn được phát hiện đến 6 tháng từ ngày có triệu chứng [56].

** Nghiên cứu tại Châu Mỹ*

Nghiên cứu tại Mỹ cho thấy tỷ lệ IgG dương tính dao động từ 1,2% [24] đến 1,79% [27]; trong khi tại Brazil, tỷ lệ huyết thanh dương tính với kháng thể IgG ở cộng đồng ở mức 1,39%. Tỷ lệ này thay đổi rõ rệt ở các thành phố và khu vực dân cư, từ dưới 1,0% ở hầu hết các thành phố ở miền Nam và miền Trung Tây tăng lên đến 25% ở thành phố ở vùng Amazon (phía Bắc) [67]. Nghiên cứu của Mariangela và cộng sự tại những gia đình người mắc COVID-19 cho kết quả 35% người tiếp xúc gần trong gia đình sau đó cũng có xét nghiệm dương tính với kháng thể IgG [142].

Nghiên cứu của tác giả Pritesh Lalwani và cộng sự tiến hành trên 3.046 người trưởng thành từ 19/8/2020-02/10/2020 cho thấy 29,1% đối tượng có IgG dương tính trong huyết thanh, tỉ lệ này có thể lên tới 44,82% sau khi đã hiệu chỉnh. Một số yếu tố liên quan bao gồm: giới tính nam, tuổi (từ 50-59), sống cùng nhà với người mắc COVID-19, gia đình có nhiều thành viên, kinh tế gia đình khó khăn [94].

Với đối tượng là bệnh nhân COVID-19 thì tỷ lệ có huyết thanh dương tính với IgG lên tới 93,7% [128]. Trong một nghiên cứu khác tại Mỹ cho thấy có 45,7% và 25,0% bệnh nhân COVID-19 dương tính với kháng thể IgA và IgG kháng SARS-CoV-2 [26].

** Nghiên cứu tại Châu Á*

Nghiên cứu tại Vũ Hán và các thành phố lân cận (Trung Quốc) năm 2020 cho thấy tỷ lệ huyết thanh dương tính với IgG khác nhau giữa các khu vực và giữa các nhóm đối tượng. Tại Vũ Hán tỷ lệ dương tính là 3,8% ở nhân viên y tế; 3,8% ở nhân viên khách sạn (nơi nhân viên y tế ở) và 3,2% ở các thành viên gia đình của nhân viên y tế. Tại Cẩm Châu và Hồng Hồ nghiên cứu ước tính tỷ lệ lưu hành huyết thanh thấp hơn vào khoảng 1,3% ở nhân viên y tế và khoảng 3,6% ở bệnh nhân chạy thận nhân tạo không có các triệu chứng của COVID-19. Tại Trùng Khánh có thấy tỷ lệ huyết thanh có IgG dương tính khá cao lần lượt là 3,1% và 3,8% ở nhân viên y tế và bệnh nhân ngoại trú, trong khi đó, tỉ lệ này trong cộng đồng là 0,58% [179].

Tại một số quốc gia khác, các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào nhóm đối tượng là người dân trong cộng đồng, nhân viên y tế và bệnh nhân COVID-19. Tỷ lệ huyết thanh dương tính trong cộng đồng ở Ấn Độ với tỷ lệ ước tính là 51,3% (KTC95%: 39,9-62,4), dao động từ 35,8% đến 66,4% tùy theo địa phương [62], trong khi ở Iran tỷ lệ này là 22% (KTC95%:19-26%) [137]. Tại Nhật Bản tỷ lệ huyết thanh dương tính ở nhóm bệnh nhân điều trị ngoại trú rất thấp chỉ khoảng 3,3% (KTC95%: 2,3%-4,6%) [47]. Điều này có thể do tỷ lệ hiện mắc ở Nhật Bản thấp hơn Ấn Độ và Iran cùng với đó là điều kiện sống, chất lượng y tế ở Nhật Bản cao hơn làm giảm nguy cơ phơi nhiễm với vi rút.

Với nhân viên y tế, nghiên cứu ở Ấn Độ chỉ ra tỷ lệ huyết thanh dương tính khoảng 11,1%. Trong những người trước đó được xét nghiệm (+) SARS-CoV-2 bằng RT-PCR, có tới 71% trường hợp có kết quả âm tính với IgG. Đến

ngày thứ 28 sau mắc bệnh, 90% có kết quả xét nghiệm huyết thanh dương tính; con số này giảm xuống còn 38,5% trong khoảng thời gian từ ngày 29 - 42 và tiếp tục giảm xuống dưới 15% sau 43 - 49 ngày. Không có nhân viên y tế nào mắc COVID-19 > 50 ngày cho kết quả dương tính với IgG [90].

Với ca bệnh COVID-19, kết quả nghiên cứu tại Israel cho thấy tỷ lệ huyết thanh dương tính IgG dao động từ 47,1% đến 93,8% trong khoảng từ tuần 1-tuần 4, tỉ lệ dương tính cao nhất ở tuần thứ 2 và thứ 3 sau chẩn đoán [82].

** Nghiên cứu tại Việt Nam.*

Tại Hà Nội, Nghiêm Xuân Hoàn và cộng sự tiến hành nghiên cứu từ tháng 3/2020 đến tháng 2/2021, trên đối tượng nhân viên y tế (1.519 đối tượng) và bệnh nhân điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 (838 bệnh nhân nội trú vì bệnh lý phổi, 491 bệnh nhân ngoại trú có bệnh lý phổi và 8.897 bệnh nhân đến khám tại phòng khám bệnh); sử dụng kỹ thuật ELISA để phát hiện kháng thể IgM và kháng thể toàn bộ; kết quả cho thấy, không trường hợp nào được phát hiện dương tính với IgM [73].

Tại Đà Nẵng, tác giả Phạm Ngọc Thạch và cộng sự tiến hành nghiên cứu từ tháng 9/2020-11/2020 trên 3.049 đối tượng là người dân sống ở những khu vực có nguy cơ lây nhiễm cao và 149 nhân viên y tế một số bệnh viện tại Đà Nẵng, nhằm xác định tỉ lệ người có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2. Kết quả nghiên cứu cho thấy, có tổng cộng 13 đối tượng (+) với IgG chiếm 0,4%, không có nhân viên y tế nào có kháng thể kháng SARS-CoV-2; thời điểm được xét nghiệm là 15,1 tuần tính từ thời điểm tiếp xúc ca bệnh [70].

Một nghiên cứu tại Thành phố Hồ Chí Minh tiến hành trên 885 người hiến máu tình nguyện từ ngày 27/8-07/11/2020 - là thời điểm sau 5 tháng kể từ khi làn sóng dịch COVID-19 đầu tiên xuất hiện tại Thành phố. Kết quả cho

thấy, tỉ lệ người có kháng thể trung hòa được phát hiện rất thấp, ở mức 0,2% (KTC 95%: 0,05-0,81) [120].

Tác giả Nguyễn Văn Vĩnh Châu và cộng sự tiến hành xét nghiệm huyết thanh của 408 nhân viên y tế làm việc tại một số bệnh viện tại Thành phố Hồ Chí Minh vào thời điểm tháng 11/2020, là thời điểm địa phương này ghi nhận tổng số 82 ca bệnh COVID-19 để xác định nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 tại các cơ sở y tế; tuy nhiên, các tác giả không phát hiện được trường hợp nào có kháng thể kháng SARS-CoV-2 [33].

Tại Hải Dương và Quảng Ninh, một nghiên cứu huyết thanh học SARS-CoV-2 trên 2.069 đối tượng nghiên cứu là người dân ở 02 địa phương có ca mắc ngoài cộng đồng, người cách ly tại các cơ sở cách ly tập trung, nhân viên y tế, nhân viên hậu cần tại các cơ sở này từ 01/01/2021-28/02/2021 tại 02 xã thuộc 2 tỉnh, kết quả cho thấy chỉ có 6/2.069 người (0,3%) có kháng thể kháng SARS-CoV-2 nhưng không có tiền sử mắc COVID-19. Đối với nhóm đối tượng nhân viên y tế phục vụ cách ly tập trung, chỉ có 01/15 người có kháng thể kháng SARS-CoV-2, chiếm tỉ lệ 2,0% [71].

Trong bối cảnh dịch bệnh bùng phát mạnh trong cộng đồng, tỉ lệ người mang kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 tăng lên đáng kể. Tác giả Hoàng Văn Thuận và CS tiến hành nghiên cứu trên 483 đối tượng-là những trường hợp tiếp xúc gần với ca bệnh COVID-19, từ tháng 9-11/2021, nhằm xác định tỉ lệ người có kháng thể IgG. Kết quả có 206/483 người có kháng thể IgG/IgM trong huyết thanh chiếm tỉ lệ 42,6%, trong số đó có 129 người (26,7%) chưa được tiêm vắc xin phòng COVID-19 dương tính với kháng thể IgG [74].

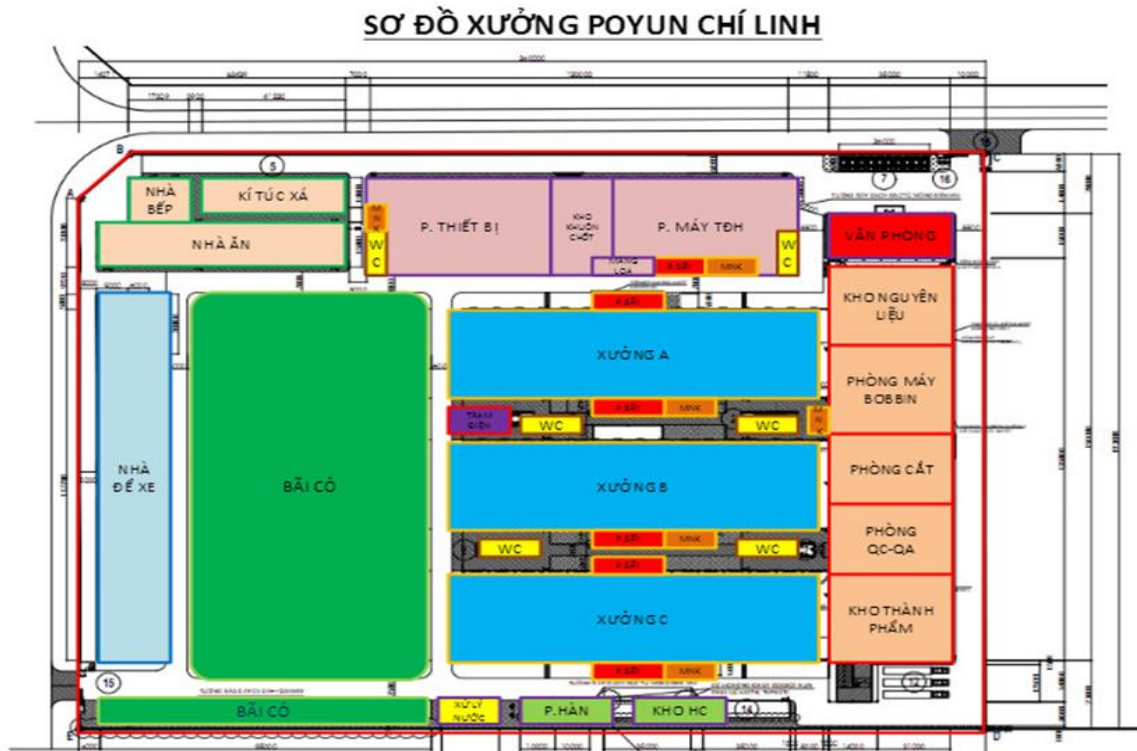
1.3. Thông tin chung về nhà máy POYUN

POYUN Việt Nam là công ty sản xuất linh kiện của loa (cuộn âm và các thiết bị âm thanh), có trụ sở tại Khu công nghiệp Cộng Hòa, Phường Cộng Hòa, Thành phố Chí Linh, Hải Dương, với diện tích nhà xưởng gần 20.000 m². Tổng

số công nhân, nhân viên của Công ty hơn 2.000 công nhân và 18 chuyên gia Đài Loan và Trung Quốc.

Công ty có 50 dây chuyền sản xuất và các xưởng A, B, C với khoảng 400 công nhân/xưởng; một số phòng chức năng như phòng Thiết bị, phòng máy TĐH, phòng máy BOB BIN, phòng cắt, phòng QC-QA, kho thành phẩm, mỗi phòng có từ 20 đến 100 công nhân.

Nhà máy hoạt động theo giờ hành chính từ 7h30 - 16h00, công nhân được nghỉ giải lao từ 11h30-12h10 để ăn uống và nghỉ ngơi. Khi dịch bệnh COVID-19 xâm nhập vào Việt Nam, Công ty đã triển khai hoạt động giám sát thân nhiệt công nhân khi đến làm việc, quy định đeo khẩu trang trong quá trình làm việc; bố trí xà phòng/dung dịch rửa tay tại các khu vệ sinh chung, bố trí dung dịch nước sát khuẩn tay tại các cửa ra vào...



Hình 1.9. Sơ đồ hệ thống các phân xưởng nhà máy POYUN

(Nguồn: Nhà máy POYUN)

Ngày 26/01/2021, xét nghiệm 17 trường hợp tiếp xúc gần của ca bệnh COVID-19 chỉ điểm (là công nhân Nhà máy mới nghỉ việc xuất cảnh sang Nhật, được thông báo vào ngày 25/01/2021 từ Bộ Y tế Nhật Bản qua đầu mối IHR của Việt Nam) phát hiện 01 trường hợp dương tính với SARS-CoV-2 là công nhân phòng Cắt. Ngày 27/01/2021, Trung tâm Y tế thành phố Chí Linh, Viện VSDTTU, CDC tỉnh Hải Dương đã lấy mẫu tị hầu toàn bộ công nhân Nhà máy, cho kết quả 70 mẫu bệnh phẩm dương tính với SARS-CoV-2.

Hệ thống y tế và chính quyền địa phương phong tỏa nhà máy và triển khai các biện pháp phòng, chống dịch COVID-19; đến cuối tháng 3/2021, vụ dịch tại nhà máy POYUN được kiểm soát.

Chương 2

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mô tả đặc điểm dịch tễ và yếu tố liên quan tình trạng lây nhiễm COVID-19 tại nhà máy POYUN.

2.1.1. Thiết kế nghiên cứu

Sử dụng phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.1.2. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

2.1.2.1. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành từ tháng 01/2021 - 12/2023, trong đó: từ tháng 01/2021 - 5/2021, thu thập các thông tin dịch tễ, lấy mẫu tị hầu để xét nghiệm RT-PCR; từ tháng 5/2021 - 12/2023, hồi cứu thông tin ca bệnh COVID-19 của nhà máy, nhập liệu, làm sạch và xử lý số liệu, viết báo cáo, công bố khoa học và báo cáo kết quả trước các Hội đồng khoa học.

2.1.2.2. Địa điểm nghiên cứu

Nhà máy POYUN, thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương.

Trung tâm Y tế thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương.

Các cơ sở điều trị bệnh nhân COVID-19 tỉnh Hải Dương gồm Đại học kỹ thuật y tế Hải Dương và Bệnh viện dã chiến Chí Linh.

Khoa Dịch tễ - Viện VSDTTU.

2.1.2.3. Cơ sở xét nghiệm

Các phòng xét nghiệm của Trung tâm kiểm soát bệnh tật tỉnh Hải Dương, Đại học Y Hà Nội và Khoa Vi rút - Viện VSDTTU.

2.1.3. Đối tượng nghiên cứu

Là công nhân làm việc tại nhà máy POYUN, gồm những ca bệnh COVID-19, những trường hợp tiếp xúc gần với ca bệnh xác định và các đối tượng nguy cơ khác.

* Tiêu chuẩn lựa chọn:

Công nhân đang làm việc tại công ty POYUN từ tháng 01/2021- 5/2021.
Không sống, làm việc tại vùng có dịch COVID-19 trước tháng 12/2020.
Không có tiền sử đi khỏi nơi cư trú hoặc chuyển công tác trong giai đoạn từ tháng 01/2021-5/2021.

Đồng ý tham gia nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn loại trừ:

Trường hợp người nước ngoài nhiễm COVID-19 ở Việt Nam nhưng không có thông tin, không có phản hồi qua Hệ thống đầu mối quốc gia về IHR.

* Định nghĩa ca bệnh COVID-19 (theo định nghĩa ca COVID-19 xác định của Bộ Y tế) [1]:

Ca bệnh nghi ngờ: Là trường hợp viêm đường hô hấp cấp tính với các biểu hiện sốt, ho hoặc khó thở và có tiền sử làm việc/đến/ở/về công ty POYUN từ ngày 01/01/2021.

Ca bệnh xác định: Các ca nghi ngờ hoặc trường hợp tiếp xúc gần có xét nghiệm khẳng định nhiễm COVID-19 bằng xét nghiệm Realtime RT-PCR.

* Định nghĩa yếu tố phơi nhiễm:

Là tình trạng tiếp xúc với các ca bệnh COVID-19 xác định trong môi trường làm việc, sinh sống và trong các sự kiện dịch tễ liên quan đến công nhân viên của công ty POYUN.

2.1.4. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

2.1.4.1. Cỡ mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu nghiên cứu được tính theo công thức sau:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \times \frac{p \times (1 - p)}{d^2} \times K$$

Trong đó:

n: Cỡ mẫu nghiên cứu

α : Mức ý nghĩa thống kê. Chọn $\alpha = 5\%$. $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$

p : Tỷ lệ nhiễm COVID-19 của quần thể công nhân. Tỷ lệ này được tham khảo trong nghiên cứu trước đó, $p = 16,5\%$ [35]

d : Độ chính xác tuyệt đối. Chọn $d = 0,03$

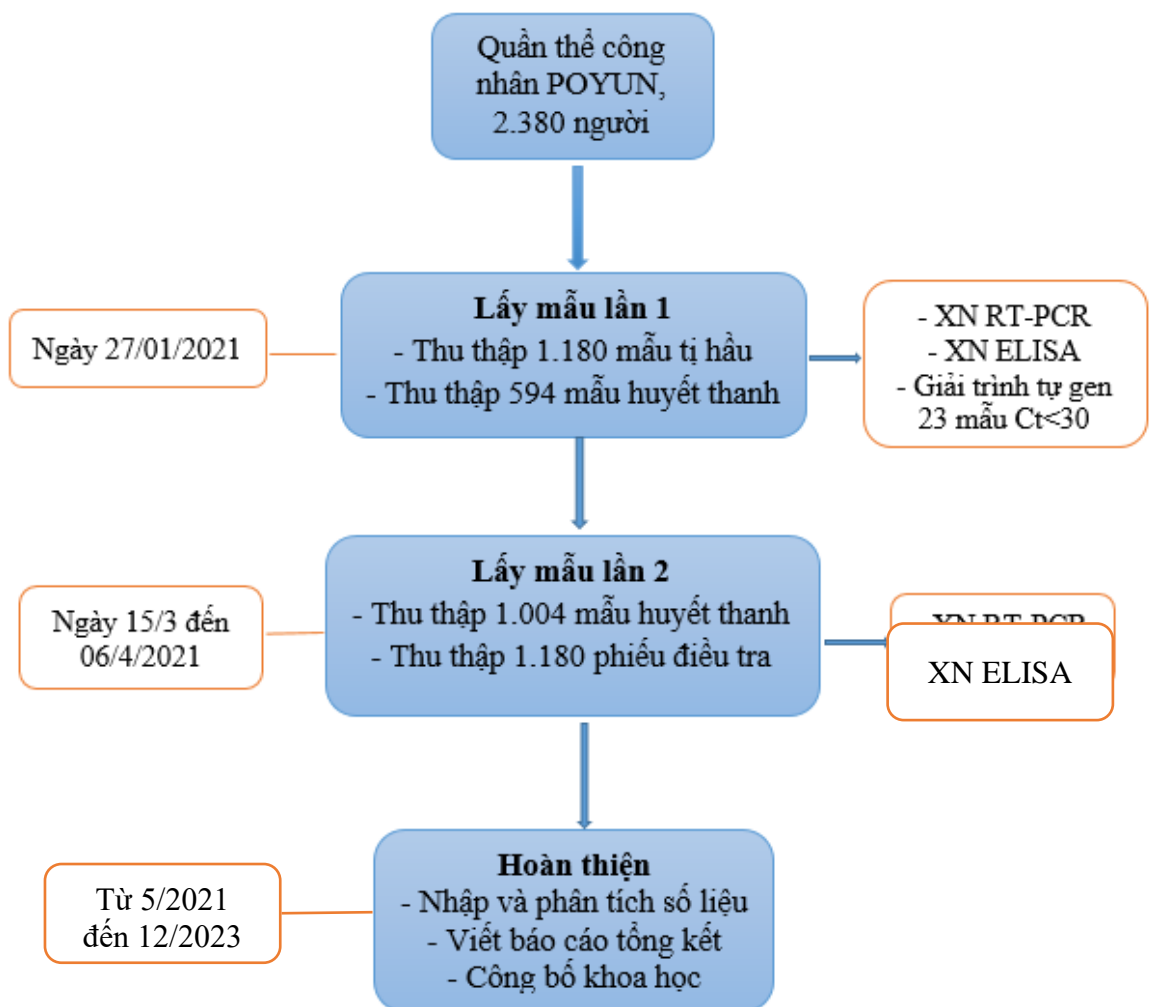
K : Hệ số thiết kế. Chọn $K = 2$

Thay số vào được $n = 1.176$, làm tròn $n = 1.180$.

2.1.4.2. Phương pháp chọn mẫu:

Sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện, chọn toàn bộ công nhân viên công ty POYUN đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn.

Quy trình triển khai nghiên cứu được tóm tắt theo sơ đồ sau:



Hình 2.1. Sơ đồ triển khai nghiên cứu

Ngày 27/01/2021, khi dịch bùng phát, hệ thống y tế của tỉnh Hải Dương, với sự hỗ trợ của Đại học Y Hà Nội, Viện VSDTTU đã lấy hơn 2.000 mẫu tị hầu và hơn 1.000 mẫu huyết thanh cho công nhân đang bị phong tỏa tại nhà máy. Tuy nhiên, khi triển khai nghiên cứu từ ngày 15/3/2021 đến ngày 06/4/2021, do thực hiện các biện pháp giãn cách xã hội nên chúng tôi chỉ thu thập được 1.180 phiếu điều tra từ công nhân và lấy được 1.004 mẫu huyết thanh. So sánh thông tin của 1.180 đối tượng trả lời phiếu phỏng vấn ngày 15/3/2021 với kết quả xét nghiệm RT-PCR và ELISA lần 1 vào ngày 27/01/2021, chúng tôi nhận thấy có sự trùng khớp các thông tin dịch tễ với thông tin xét nghiệm của 1.180 mẫu tị hầu và kết quả 594 mẫu huyết thanh. Do đó, chúng tôi sử dụng kết quả của 594 trường hợp được xét nghiệm ELISA lần 1 để phân tích.

2.1.5. Các chỉ số, biến số nghiên cứu

Bảng 2.1. Các chỉ số, biến số sử dụng trong nghiên cứu.

| TT | Tên chỉ số/biến số nghiên cứu | Định nghĩa | Loại biến | Nguồn và cách thu thập |
|-----------|--------------------------------------|---|------------------------------|--|
| 1 | Tình trạng mắc COVID-19 | Tình trạng nhiễm SARS-CoV-2 và được xác định bằng kết quả xét nghiệm RT-PCR | Nhị giá (Dương tính/Âm tính) | Dựa vào kết quả xét nghiệm RT-PCR mẫu hầu họng |
| 2 | Tỉ suất mới mắc (Tỉ suất tấn công) | Tỉ số giữa ca mắc trên tổng số công nhân có nguy cơ mắc bệnh trong khoảng thời gian t | Định lượng | Tính toán dựa trên kết quả xét nghiệm RT-PCR |

| TT | Tên chỉ số/biến số nghiên cứu | Định nghĩa | Loại biến | Nguồn và cách thu thập |
|-----------|--|---|--|--|
| 3 | Hệ số lây nhiễm (R_0) | Số ca nhiễm thứ phát trung bình từ 01 ca bệnh trong quần thể cảm nhiễm. | Định lượng | Tính toán dựa vào thời gian ủ bệnh của các ca COVID-19 (Serial Interval) |
| 4 | Thời gian điều trị | Thời gian từ lúc nhập viện đến khi ra viện | Định lượng | Bộ câu hỏi |
| 5 | Thời gian ủ bệnh | Thời gian từ khi người bệnh tiếp xúc ca bệnh COVID-19 đến khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng. | Định lượng | Bộ câu hỏi |
| II | Các biến số liên quan đến đặc tính của mẫu nghiên cứu | | | |
| 6 | Giới tính | Nam hoặc nữ | Nhị giá (Nữ/Nam) | Bộ câu hỏi |
| 7 | Tuổi | Tính bằng cách lấy 2021-năm sinh | Định lượng, không liên tục | Bộ câu hỏi |
| 8 | Nơi cư trú | Nơi đối tượng nghiên cứu đang sinh sống | Định danh (Hải Dương/Quảng Ninh/Địa phương khác) | Bộ câu hỏi |

| TT | Tên chỉ số/biến số nghiên cứu | Định nghĩa | Loại biến | Nguồn và cách thu thập |
|------------|--|---|---|-------------------------------|
| 9 | Quốc tịch | Quốc tịch của đối tượng nghiên cứu | Định danh (Việt Nam/Quốc tịch khác) | Bộ câu hỏi |
| 10 | Dân tộc | Sắc tộc của đối tượng nghiên cứu | Định danh (Dân tộc Kinh/Dân tộc khác) | Bộ câu hỏi |
| 11 | Tình trạng hôn nhân | Tình trạng hôn nhân của đối tượng nghiên cứu | Định danh (Độc thân/Đã kết hôn/Chưa kết hôn nhưng sống cùng người khác) | Bộ câu hỏi |
| 12 | Trình độ học vấn | Trình độ học vấn cao nhất theo hệ thống giáo dục VN | Thứ tự (Cấp 2, Cấp 3, Cao đẳng, Đại học/SDH) | Bộ câu hỏi |
| 13 | Tình trạng mang thai | Tình trạng mang thai (câu hỏi giành cho nữ giới) | Nhi giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| III | Các biến số liên quan đến môi trường lao động tại nhà máy | | | |
| 14 | Bộ phận/vị trí làm việc | Phân xưởng/vị trí đối tượng làm việc trong nhà máy | Định danh | Bộ câu hỏi |

| TT | Tên chỉ số/biến số nghiên cứu | Định nghĩa | Loại biến | Nguồn và cách thu thập |
|-----------|---|---|--|-------------------------------|
| 15 | Khoảng cách với người khác | Khoảng cách giữa người với người trong quá trình làm việc | Thứ bậc (Dưới 2 mét, Từ 02 mét trở lên) | Bộ câu hỏi |
| 16 | Thời gian ca làm việc | Khoảng thời gian công nhân làm việc trong một ngày | Thứ bậc (Dưới 12 giờ/Từ 12 giờ trở lên) | Bộ câu hỏi |
| 17 | Giao tiếp với đồng nghiệp khi không làm việc. | Nói chuyện, tiếp xúc, ăn trưa cùng đồng nghiệp khi giải lao | Nhi giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| 18 | Có xà phòng/dung dịch rửa tay | Trang bị xà phòng, dung dịch sát khuẩn nhanh tại nhà máy | Nhi giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| 19 | Đeo khẩu trang | | Nhi giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| 20 | Số lần rửa tay/ngày | | Rời rạc | Bộ câu hỏi |
| IV | Các biến số liên quan đến sinh hoạt, đi lại của đối tượng nghiên cứu | | | |
| 21 | Phương tiện giao thông | Loại phương tiện giao thông ĐTNC sử dụng | Định danh (Cá nhân/Xe đưa đón của nhà máy) | Bộ câu hỏi |
| 22 | Điều kiện nhà ở | Loại hình nhà ở ở mà ĐTNC sinh sống | Định danh (Nhà trọ/Nhà riêng/Nhà bố mẹ) | Bộ câu hỏi |

| TT | Tên chỉ số/biến số nghiên cứu | Định nghĩa | Loại biến | Nguồn và cách thu thập |
|------------|---|--|-------------------------|-------------------------------|
| 23 | Số người sống cùng | Số người sống chung với ĐTNC tại nơi ở | <5 người; ≥ 5 người. | Bộ câu hỏi |
| 24 | Đeo khẩu trang khi tham gia giao thông | Sử dụng khẩu trang khi tham gia giao thông | Nhị giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| V | Biến số liên quan đến lịch sử tiếp xúc, cách ly | | | |
| 25 | Tiếp xúc người nghi nhiễm COVID-19 | Tiếp xúc người có nguy cơ mang mầm bệnh | Nhị giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| 26 | Dự sự kiện đông người | Tham gia các sự kiện như hội họp, lễ hội, tiệc, sinh nhật... | Nhị giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| III | Các biến số liên quan tiền sử, bệnh sử, xét nghiệm và điều trị | | | |
| 27 | Bệnh lý mạn tính | Những bệnh lý mạn tính mà đối tượng NC mắc phải | Nhị giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| 28 | Hút thuốc | Hút thuốc lá trong vòng 12 tháng | Nhị giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |
| 29 | Triệu chứng lâm sàng | Các triệu chứng mà ĐTNC ghi nhận từ ngày 01/12/2020 đến thời điểm NC | Nhị giá (Có/Không) | Bộ câu hỏi |

| TT | Tên chỉ số/biến số nghiên cứu | Định nghĩa | Loại biến | Nguồn và cách thu thập |
|-----------|---|---|------------------|-------------------------------------|
| 30 | Ngày xét nghiệm dương tính với SARS-CoV-2 | Thời điểm đối tượng được lấy mẫu, XN (+) với SARS-CoV-2 | | Bộ câu hỏi / Phiếu điều tra ca bệnh |
| 31 | Ngày có kết quả xét nghiệm âm tính | Thời điểm có kết quả xét nghiệm RT-PCR âm tính SARS-CoV-2 | | Bộ câu hỏi/ Phiếu điều tra ca bệnh |

2.1.6. Thu thập thông tin

Thực hiện hồi cứu thông tin của 100% ca bệnh COVID-19 tại nhà máy POYUN ghi nhận trong khoảng thời gian từ 27/01/2021 đến 15/3/2021 trên hệ thống báo cáo ca bệnh truyền nhiễm Quốc gia. Các thông tin được thu thập gồm: tên, tuổi, giới, ngày xét nghiệm SARS-CoV-2 (+) và (-), triệu chứng khởi phát, lịch sử tiếp xúc, ngày nhập viện, tiến triển, ngày ra viện, ...

Đồng thời, chúng tôi tiến hành hồi cứu kết quả xét nghiệm realtime RT-PCR mẫu tị hầu của 1.180 đối tượng nghiên cứu và kết quả giải trình tự gen 23 mẫu tị hầu có Ct<30 trong ngày 27/01/2021.

Sử dụng bộ câu hỏi tự điền để thu thập thông tin liên quan đến nhân chủng học, các yếu tố nguy cơ tại nơi làm việc, nơi ở, quá trình sinh hoạt của công nhân (ngày 15/3/2021).

2.1.7. Nhập và phân tích số liệu

Số liệu được làm sạch và nhập vào phần mềm Epidata 3.1; các phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm STATA 16.0 và phần mềm R.

Các biến định tính được mô tả bằng các giá trị tần suất và tỷ lệ; các biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn (đối với biến

định lượng có phân phối chuẩn) hoặc trung vị và khoảng tứ phân vị (đối với biến định lượng có phân phối không chuẩn).

Hệ số lây nhiễm (R_0) được tính bằng ứng dụng EpiEstim trong phần mềm R phiên bản 4.3.2: Căn cứ thông tin truy vết của 182 ca bệnh, chúng tôi xác định được các khoảng “thời gian ủ bệnh” - Serial Interval (SI): khoảng thời gian từ khi ca nguyên phát có triệu chứng hoặc xét nghiệm SARS-CoV-2 (+) bằng RT-PCR đến thời điểm ca thứ phát có triệu chứng hoặc xét nghiệm SARS-CoV-2 (+) bằng RT-PCR. Số liệu về các khoảng SI được đưa vào ứng dụng EpiEstim chạy 8.000 simulations để ước lượng sự phân bố của các khoảng SI này; từ đó sẽ ước lượng được hệ số lây nhiễm R_0 từ EpiCurve. (Khi $R_0 \geq 1$: Mầm bệnh đang lây lan; $R_0 < 1$: Mầm bệnh không lây lan, dịch bệnh được kiểm soát).

Các yếu tố liên quan được xác định bằng các kiểm định thống kê (Khi bình phương/Fisher), mô hình hồi quy logistic (đơn biến, đa biến) với biến phụ thuộc là tình trạng nhiễm SARS-CoV-2 và biến độc lập là các biến liên quan đến nhân khẩu học, lịch sử tiếp xúc, lịch sử đi lại... của đối tượng nghiên cứu.

Quá trình phân tích đơn biến, đa biến được tiến hành như sau:

Bước 1: Phân tích đơn biến các yếu tố liên quan bằng cách sử dụng phép kiểm Chi bình phương hoặc kiểm định chính xác Fisher nếu $>20\%$ các ô có giá trị kỳ vọng < 5 .

Bước 2: Chọn tất cả các biến số có $p < 0,2$ vào mô hình hồi quy logistic đa biến [25] và sau đó loại dần từng biến không liên quan ($p > 0,05$) ra khỏi mô hình theo phương pháp stepwise backward. Các biến còn lại trong mô hình cuối cùng là các biến có $p < 0,05$ và các biến có $p > 0,05$ nếu loại bỏ biến này khỏi mô hình thì nó đã làm thay đổi $>20\%$ các biến còn lại trong mô hình.

Bước 3: So sánh mô hình mới với mô hình cũ bằng cách sử dụng phép kiểm likelihood test. Mức ý nghĩa được sử dụng trong nghiên cứu là $p < 0,05$. Chỉ số thống kê sử dụng trong nghiên cứu là tỷ số số chênh (OR) và khoảng tin cậy 95% (KTC95%).

2.2. Phân tích một số đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây vụ dịch

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Sử dụng thiết kế nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.2.2. Cỡ mẫu, phương pháp chọn mẫu

2.2.2.1. Mô tả một số đặc điểm sinh học phân tử vi rút SARS-CoV-2

Chọn mẫu thuận tiện, tổng số 23 mẫu bệnh phẩm (+) với SARS-CoV-2 có giá trị ngưỡng $Ct < 30$.

Ngày 27/01/2021, có 23 mẫu bệnh phẩm xét nghiệm (+) với SARS-CoV-2 có giá trị $Ct < 30$ được giải trình tự gen, cho kết quả thống nhất về 01 tác nhân gây bệnh, đủ để xác định chủng vi rút gây dịch mà không cần làm thêm xét nghiệm giải trình tự gen ở các bệnh nhân sau.

2.2.2.2. Phân tích tình trạng đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2

Sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện, chọn những đối tượng đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn:

Lần 1: 594 công nhân có mặt ở nhà máy POYUN tại thời điểm lấy mẫu ngày 27/01/2021.

Lần 2: 1.004 công nhân và ca bệnh COVID-19 (là công nhân POYUN) đã cách ly và điều trị tại các cơ sở điều trị bệnh nhân COVID-19 của tỉnh Hải Dương).

2.2.3. Đối tượng nghiên cứu

2.2.3.1. Mô tả một số đặc điểm sinh học phân tử vi rút SARS-CoV-2

Dịch tị hầu của người nghi mắc COVID-19 được chẩn đoán dương tính bằng phương pháp Realtime RT-PCR có giá trị $Ct < 30$ (theo thường quy của Phòng thí nghiệm Cúm - Viện VSDTTU).

2.2.3.2. Phân tích tình trạng đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2

Đối tượng nghiên cứu là công nhân nhà máy POYUN, Hải Dương, đáp ứng các tiêu chuẩn sau:

*** Tiêu chuẩn lựa chọn:**

Có mặt tại nhà máy POYUN và các địa điểm lấy mẫu xét nghiệm.

Đồng ý tham gia nghiên cứu, trả lời bộ câu hỏi phỏng vấn và đồng ý cho lấy mẫu huyết thanh.

*** Tiêu chuẩn loại trừ:**

Người không đủ năng lực để trả lời phỏng vấn hoặc lấy mẫu.

Bất cứ tình trạng nào mà theo nghiên cứu viên có thể làm tăng nguy cơ gây hại cho sức khỏe đối tượng nếu họ tham gia vào nghiên cứu.

2.2.4. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

2.2.4.1. Thời gian

Từ tháng 01/2021-12/2023, trong đó thời gian thu thập mẫu từ ngày 27/01/2021 - 06/4/2021.

2.2.4.2. Địa điểm

Nhà máy POYUN, thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương.

Trung tâm Y tế thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương.

Các cơ sở điều trị bệnh nhân COVID-19 tỉnh Hải Dương (Đại học kỹ thuật y tế Hải Dương và Bệnh viện dã chiến Chí Linh).

Khoa Vi rút, Viện VSDTTU.

2.2.5. Các chỉ số, biến số nghiên cứu

2.2.5.1. Mô tả đặc điểm sinh học phân tử

Cây gia hệ của các chủng vi rút gây dịch tại nhà máy POYUN.

Vị trí đột biến của các nucleotid và acid amin trên protein gai (S) của vi rút.

So sánh sự thay đổi một số acid amin của vi rút gây bệnh tại POYUN với một số vi rút phân lập được tại một số tỉnh thành tại Việt Nam (do khoa Vi rút Viện VSDTTU phân lập).

2.2.5.2. Phân tích đặc điểm đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2

Tỉ lệ đối tượng có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 tại các thời điểm lấy mẫu.

Đánh giá sự đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 theo thời gian ở nhóm bệnh nhân COVID-19 (Dựa vào ngày xét nghiệm RT-PCR dương tính và ngày xét nghiệm ELISA dương tính).

Liên quan giữa có đáp ứng kháng thể IgG với nhiễm SARS-CoV-2.

2.2.6. Quy trình nghiên cứu

2.2.6.1. Mô tả một số đặc điểm sinh học phân tử vi rút SARS-CoV-2

Áp dụng theo quy trình của Phòng thí nghiệm Cúm - Viện VSDT TU:

Bước 1: Xét nghiệm mẫu dịch tị hầu bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR.

Bước 2: Lựa chọn các mẫu dương tính với SARS-CoV-2 có Ct<30.

Bước 3: Thực hiện kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (Next Generation Sequencing - NGS) trên hệ thống máy iSeq 100.

Bước 4: Phân tích đặc điểm di truyền vi rút SARS-CoV-2 bằng phần mềm CLC Genomics Workbench 11.0 (QIA-GEN).

2.2.6.2. Phân tích đặc điểm đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2

Quy trình các bước thu thập số liệu được trình bày dưới đây:

Bước 1: Lập danh sách đối tượng nghiên cứu:

Mỗi đối tượng được cấp một mã số định danh để sử dụng thay cho họ tên trên các văn bản và mẫu bệnh phẩm, mã số có dạng CL2-[STT].

Bước 2: Triển khai thu thập thông tin, thu thập các mẫu bệnh phẩm:

- Cung cấp các thông tin về nghiên cứu và lấy chấp thuận tham gia nghiên cứu của các đối tượng.

- Lấy mẫu máu tĩnh mạch:

Mỗi đối tượng nghiên cứu được lấy 5ml máu tĩnh mạch. Các mẫu bệnh phẩm sau khi thu thập được đóng gói, bảo quản và vận chuyển về Viện VSDTTU để thực hiện các xét nghiệm [163].

Lấy mẫu bệnh phẩm được tiến hành vào 02 thời điểm: lần 1 ngày 27/01/2021 để hỗ trợ triển khai các biện pháp phòng, chống dịch; lần 2 từ ngày 15/3/2021-06/4/2021 để xác định tỉ lệ thực nhiễm trong thời gian nghiên cứu.

- Thu thập số liệu bằng bộ câu hỏi tự điền:

Để giảm thiểu thời gian và tần suất tiếp xúc với các nguồn lây tiềm tàng, đảm bảo an toàn cho người phỏng vấn, bộ câu hỏi được thiết kế dưới dạng phiếu điều tra tự điền với các câu hỏi đơn giản và hướng dẫn điền bộ câu hỏi kèm theo (**Phụ lục 1**).

Bước 3: Thực hiện xét nghiệm huyết thanh học (ELISA) trên các mẫu bệnh phẩm.

2.2.7. Nhập và phân tích số liệu

** Mô tả đặc điểm sinh học phân tử vi rút gây dịch*

Quá trình xử lý số liệu, phân tích đặc điểm di truyền vi rút SARS-CoV-2 được thực hiện bằng phần mềm CLC Genomics Workbench 11.0

** Phân tích đặc điểm đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2*

Số liệu sau khi thu thập được làm sạch và nhập vào phần mềm EpiData 3.1. Biểu mẫu nhập liệu được thiết kế chặt chẽ nhằm kiểm soát các sai số do thao tác nhập liệu.

Các phân tích, kiểm định thống kê được thực hiện trên phần mềm STATA phiên bản 16.0.

Biến định tính được mô tả bằng các giá trị tần suất và tỷ lệ; các biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn (đối với biến định lượng có phân phối chuẩn) hoặc trung vị và khoảng tứ phân vị (đối với biến định lượng có phân phối không chuẩn).

2.3. Các xét nghiệm sử dụng trong nghiên cứu

2.3.1. Xét nghiệm SARS-CoV-2 bằng Realtime RT-PCR

Xét nghiệm SARS-CoV-2 bằng phương pháp sinh học phân tử phát hiện vật liệu di truyền của vi rút. ARN tổng số được tách từ mẫu bệnh phẩm lâm sàng nghi nhiễm SARS-Cov-2; sau đó, ARN được cho vào hỗn hợp sinh phẩm RT-PCR với môi, probe đặc hiệu để khuếch đại đoạn gen đích cần phát hiện trên gen E (gen vỏ-Envelop), gen RdRp (Polymerase) và gen N (Nucleocapsid) theo quy trình của Viện VSDTTU, gồm các bước cơ bản sau:

Bước 1: Tách chiết ARN sử dụng kit QIAamp viral RNA mini kit Qiagen-52904.

Bước 2: Phản ứng realtime RT-PCR, sử dụng kit SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit; môi và probe (RdRp gene, E gene và N gene) và chứng dương (Positive control - POS) RNA SARS-CoV-2 (Viện VSDTTU).

Bước 3: Nhận định kết quả:

- Mẫu dương tính: Tín hiệu huỳnh quang được thu nhận trước hoặc tại chu kỳ thứ 35 của phản ứng gene E và bệnh nhân phải có triệu chứng lâm sàng, có yếu tố dịch tễ liên quan đến COVID-19.

- Mẫu âm tính: Tín hiệu huỳnh quang được thu nhận tại hoặc sau chu kỳ thứ 40 của phản ứng.

(Quy trình chi tiết tại **Phụ lục 6**)

2.3.2. Xét nghiệm giải trình tự gen thế hệ mới (NGS)

Sử dụng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới trên hệ thống iSeq 100 để giải trình tự nucleotide bộ gen vi rút SARS-CoV-2 từ bệnh phẩm lâm sàng và từ vi rút phân lập.

Illumina đọc trình tự nucleotide thông qua quá trình sinh tổng hợp trên cả 2 sợi DNA được gắn bản (flowcell), không sử dụng môi đặc hiệu. Tín hiệu phát quang được thu thập dưới dạng chụp ảnh. Các nucleotide sau đó được sắp xếp và ghép đoạn theo phần mềm phân tích dữ liệu của hệ thống Illumina; quy trình xét nghiệm được tóm tắt theo các bước sau:

Bước 1: Tách chiết ARN sử dụng kit QIAamp viral RNA mini kit Qiagen-52904.

Bước 2: Tổng hợp sợi DNA bổ trợ (cDNA) và tinh sạch:

Tổng hợp sợi DNA từ RNA của SARS-CoV-2 bằng kit SuperScript IV VILO Master (5X) và tiến hành khuếch đại PCR, sau đó tinh sạch sợi DNA bổ trợ bằng EXOSAP IT.

Bước 3: Chuẩn bị thư viện (Gắn Taqment, gắn Index và đồng đều thư viện mẫu giải trình tự gen ISEQ).

Bước 4: Giải trình tự gen ISEQ.

Chuyển mẫu đã được đồng đều vào vị trí Loading trên Cartridge và thao tác với máy ISEQ để giải trình tự gen vi rút.

Bước 5: Xử lý số liệu bao gồm lắp ráp hệ gen và xác định đột biến và xây cây gia hệ.

(Quy trình chi tiết tại **Phụ lục 7**)

2.3.3. Kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG

Kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân kết hợp với kháng nguyên SARS-CoV-2 đã được gắn trên phiên 96 giếng (protein N). Sau thời gian ủ, hỗn hợp

kháng nguyên - kháng thể được ủ với kháng thể IgG người có gắn enzyme. Khi thêm cơ chất (substance), enzyme sẽ biến đổi cơ chất và tạo tín hiệu màu có thể xác định được bằng máy đo mật độ quang học - máy đọc ELISA (OD).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng bộ sinh phẩm xét nghiệm ELISA (IVD.CoV-2 IgG) có độ nhạy 86,42%, độ đặc hiệu 100%, do Trung tâm Nghiên cứu sản xuất Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (Polyvac) sản xuất năm 2020 để thực hiện các xét nghiệm phát hiện kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 [8].

Các bước tiến hành xét nghiệm được tóm tắt như sau:

Bước 1: Chuẩn bị huyết thanh

Nhỏ lần lượt 100 µl huyết thanh (1:1000 với IgG), dung dịch pha loãng (blank), chứng âm, chứng dương vào mỗi giếng tương ứng; tiến hành ủ trong 37 độ C/60 phút sau đó rửa 6 lần liên tiếp bằng dung dịch rửa PBS-Tween 20.

Bước 2: Cộng hợp

Tiến hành pha loãng cộng hợp: 1ml cộng hợp (7) + 9 ml dung dịch pha loãng (tỷ lệ 1:10); sau đó nhỏ 100µl cộng hợp/giếng và ủ ở 37 độ C/60 phút.

Bước 3: Pha cơ cơ chất gồm: 160µl cơ chất A (8)+ 1000 µl cơ chất B (9)+ 9ml nước cất, sau đó nhỏ 100µl/ giếng và ủ ở 37 độ C/10 phút (tránh ánh sáng).

Bước 4: Dừng phản ứng bằng cách nhỏ 100µl dung dịch dừng phản ứng (10)/giếng.

Bước 5: Đọc kết quả ở bước sóng 450nm sử dụng máy đọc ELISA:

Giá trị OD của mẫu $\geq 0,2$ thì mẫu được đánh giá là dương tính;

OD của mẫu $< 0,18$ thì mẫu được đánh giá là âm tính;

OD của mẫu từ 0,18 - 0,2 thì cần thực hiện lại.

(Quy trình chi tiết tại **Phụ lục 8**)

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ đầy đủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu khoa học về y sinh.

2.4.1. Thời điểm đáp ứng chống dịch

Tại thời điểm xảy ra vụ dịch ngày 27/01/2021, để kịp thời triển khai các biện pháp can thiệp, sau khi thống nhất với UBND tỉnh Hải Dương, UBND thành phố Chí Linh, Trung tâm kiểm soát bệnh tật tỉnh Hải Dương, Trung tâm y tế thành phố Chí Linh, chúng tôi tiến hành các hoạt động lấy mẫu, xét nghiệm kết hợp với việc truy vết các trường hợp tiếp xúc gần của y tế địa phương.

Chúng tôi không lấy đồng thuận tham gia nghiên cứu đối với từng cá nhân mà lấy văn bản đồng ý của địa phương cho phép lấy mẫu, sử dụng mẫu và thông tin đã thu thập bởi vì số lượng công nhân nhà máy đông, có nguy cơ cao mang vi rút - đây là nguồn lây nhiễm tiềm tàng với cán bộ nghiên cứu.

2.4.2. Thời điểm tiến hành nghiên cứu huyết thanh học

Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện VSDTTU trước khi triển khai (Quyết định số HĐĐĐ-20/2022 ngày 28/10/2022 - **Phụ lục 2**)

Tất cả đối tượng tham gia nghiên cứu được cung cấp thông tin chung về mục đích, ý nghĩa của việc tham nghiên cứu, các nguy cơ tiềm tàng, tính bảo mật thông tin (**Phụ lục 3**); đồng thời được ký Bản chấp thuận tham gia nghiên cứu (**Phụ lục 4**).

Về các nguy cơ khi tham gia nghiên cứu:

Tất cả đối tượng được thực hiện lấy mẫu sàng lọc theo quyết định của Sở Y tế tỉnh Hải Dương. Khi cân nhắc giữa lợi ích và nguy cơ, những lợi ích mang lại từ nghiên cứu sẽ phục vụ công tác kiểm soát dịch, hạn chế số lượng mắc mới, tử vong trong cộng đồng, vượt trội so với các nguy cơ có thể xảy ra.

Đối tượng có thể bị đau hoặc bị nhiễm khuẩn khi lấy mẫu máu do dụng cụ lấy mẫu hoặc do quy trình thao tác không đảm bảo an toàn. Nguy cơ này được hạn chế bằng việc áp dụng các quy trình lấy mẫu nghiêm ngặt theo các hướng dẫn lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu; theo hướng dẫn về an toàn sinh học của Viện VSDTTU; kỹ thuật viên lấy mẫu được tập huấn kỹ trước khi triển khai và được giám sát chặt chẽ trong quá trình lấy mẫu.

Đối tượng không được chi trả kinh phí bồi dưỡng do đây là hoạt động phòng chống dịch khẩn cấp. Các xét nghiệm được thực hiện miễn phí nhưng kết quả xét nghiệm RT-PCR, xét nghiệm ELISA không trả cho từng đối tượng mà chỉ sử dụng để khuyến nghị các chiến lược truy vết các trường hợp tiếp xúc gần, khoanh vùng khu vực nguy cơ cao nhằm mục đích kiểm soát dịch bệnh.

Số liệu và thông tin nghiên cứu được bảo mật và lưu trữ trong tủ có khóa; cơ sở dữ liệu sẽ được nhập và lưu trữ trong máy tính có mật khẩu, chỉ các cán bộ tham gia nghiên cứu mới được truy cập vào cơ sở dữ liệu này.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu (n=1.180)

| Biến số | Tần số | Tỉ lệ % |
|----------------------------------|--------|---------|
| Giới tính | | |
| Nam | 237 | 20,1 |
| Nữ | 943 | 79,9 |
| Nhóm tuổi | | |
| 18 - 25 tuổi | 292 | 24,7 |
| 26 - 30 tuổi | 275 | 23,3 |
| 31 - 35 tuổi | 329 | 27,9 |
| > 35 tuổi | 284 | 24,1 |
| Dân tộc | | |
| Kinh | 1.076 | 91,2 |
| Dân tộc khác | 104 | 8,8 |
| Nơi sinh sống | | |
| Hải Dương | 1.026 | 86,9 |
| Quảng Ninh | 116 | 9,9 |
| Khác | 38 | 3,2 |
| Trình độ học vấn | | |
| Trung học cơ sở | 419 | 35,5 |
| Trung học phổ thông | 556 | 47,1 |
| Cao đẳng | 139 | 12,8 |
| Đại học/SĐH | 66 | 5,6 |
| Tình trạng hôn nhân | | |
| Độc thân | 254 | 21,5 |
| Lập gia đình | 874 | 74,1 |
| Khác | 52 | 4,4 |
| Có bệnh lý mạn tính | 38 | 3,2 |
| Tình trạng mang thai (nữ) | 44 | 4,7 |
| Hút thuốc lá | 38 | 3,2 |

Trong số 1.180 đối tượng nghiên cứu, nữ giới chiếm 79,9%, tuổi trung bình $30,4 \pm 6,5$. Đa số (74,1%) đối tượng đã lập gia đình và (87%) đang sinh sống tại địa bàn tỉnh Hải Dương.

Có 3,2% nam giới hút thuốc lá và 44 (4,7%) nữ công nhân đang mang thai.

Đối tượng nghiên cứu phân bố khá đồng đều theo các nhóm tuổi; phần lớn đối tượng có trình độ Trung học phổ thông (47,1%) và Trung học cơ sở (35,5%).

Tại thời điểm triển khai nghiên cứu, 100% đối tượng nghiên cứu chưa được tiêm vắc xin phòng COVID-19.

Đối tượng có bệnh lý mạn tính (huyết áp, tiểu đường, bệnh phổi mạn tính, bệnh thận mạn tính...) chiếm tỉ lệ 3,2%.

3.2. Đặc điểm dịch tễ học của vụ dịch COVID-19

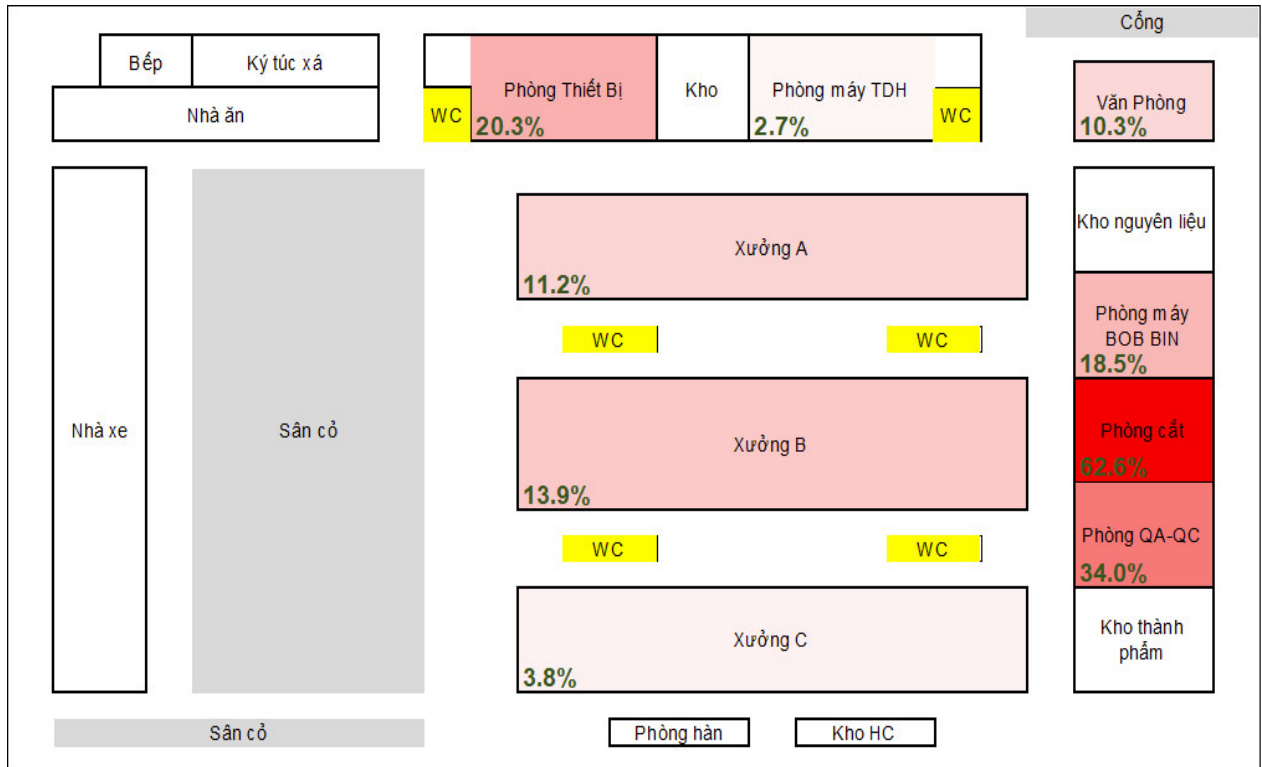
3.2.1. Phân bố ca bệnh theo yếu tố con người, không gian, thời gian

Bảng 3.2. Phân bố ca bệnh theo một số đặc trưng của mẫu nghiên cứu.

| Biến số | N | SARS-CoV-2 (+) n(%) | SARS-CoV-2 (-) n(%) | Giá trị p |
|----------------------------|--------------|------------------------|------------------------|--------------|
| Giới tính | | | | |
| Nữ | 943 | 134 (14,2) | 809 (85,8) | 0,021 |
| Nam | 237 | 48 (20,3) | 189 (79,7) | |
| Nhóm tuổi | | | | |
| 18 - 25 tuổi | 292 | 42 (14,4) | 250 (85,6) | 0,20 |
| 26 - 30 tuổi | 275 | 53 (19,3) | 222 (80,7) | |
| 31 - 35 tuổi | 329 | 50 (15,2) | 279 (84,8) | |
| > 35 tuổi | 284 | 37 (13,0) | 247 (87,0) | |
| Dân tộc | | | | |
| Kinh | 1.076 | 166 (15,4) | 910 (84,6) | 0,99 |
| Dân tộc khác | 104 | 16 (8,8) | 88 (91,2) | |
| Nơi sinh sống | | | | |
| Hải Dương | 1.026 | 159 (15,5) | 867 (85,5) | 0,16 |
| Quảng Ninh | 116 | 21 (18,1) | 95 (81,9) | |
| Địa phương khác | 38 | 2 (5,3) | 36 (94,7) | |
| Trình độ học vấn | | | | |
| Trung học cơ sở | 419 | 51 (12,2) | 368 (87,8) | 0,045 |
| Trung học phổ thông | 556 | 94 (16,9) | 462 (83,1) | |
| Cao đẳng | 139 | 29 (20,9) | 110 (79,1) | |
| Đại học/SĐH | 66 | 8 (12,1) | 58 (87,9) | |
| Tình trạng hôn nhân | | | | |
| Độc thân | 254 | 36 (14,2) | 218 (85,8) | 0,82 |
| Lập gia đình | 874 | 138 (15,8) | 736 (84,2) | |
| Khác | 52 | 8 (15,4) | 44 (84,6) | |
| Bệnh lý mạn tính | | | | |
| Không | 1.136 | 171 (15,1) | 965 (84,9) | 0,02 |
| Có | 38 | 11 (28,9) | 27 (71,1) | |
| Tổng | 1.180 | 182 (15,4) | 998 (84,6) | |

Kết quả ở Bảng 3.2 cho thấy tỉ suất tấn công của vụ dịch tại nhà máy POYUN là 15,4% (KTC95%: 13,4% - 17,5%), rất khác nhau ở các nhóm tuổi, cao nhất ở nhóm 26 - 30 tuổi (19,3%), thấp nhất ở nhóm trên 36 tuổi (13,0%).

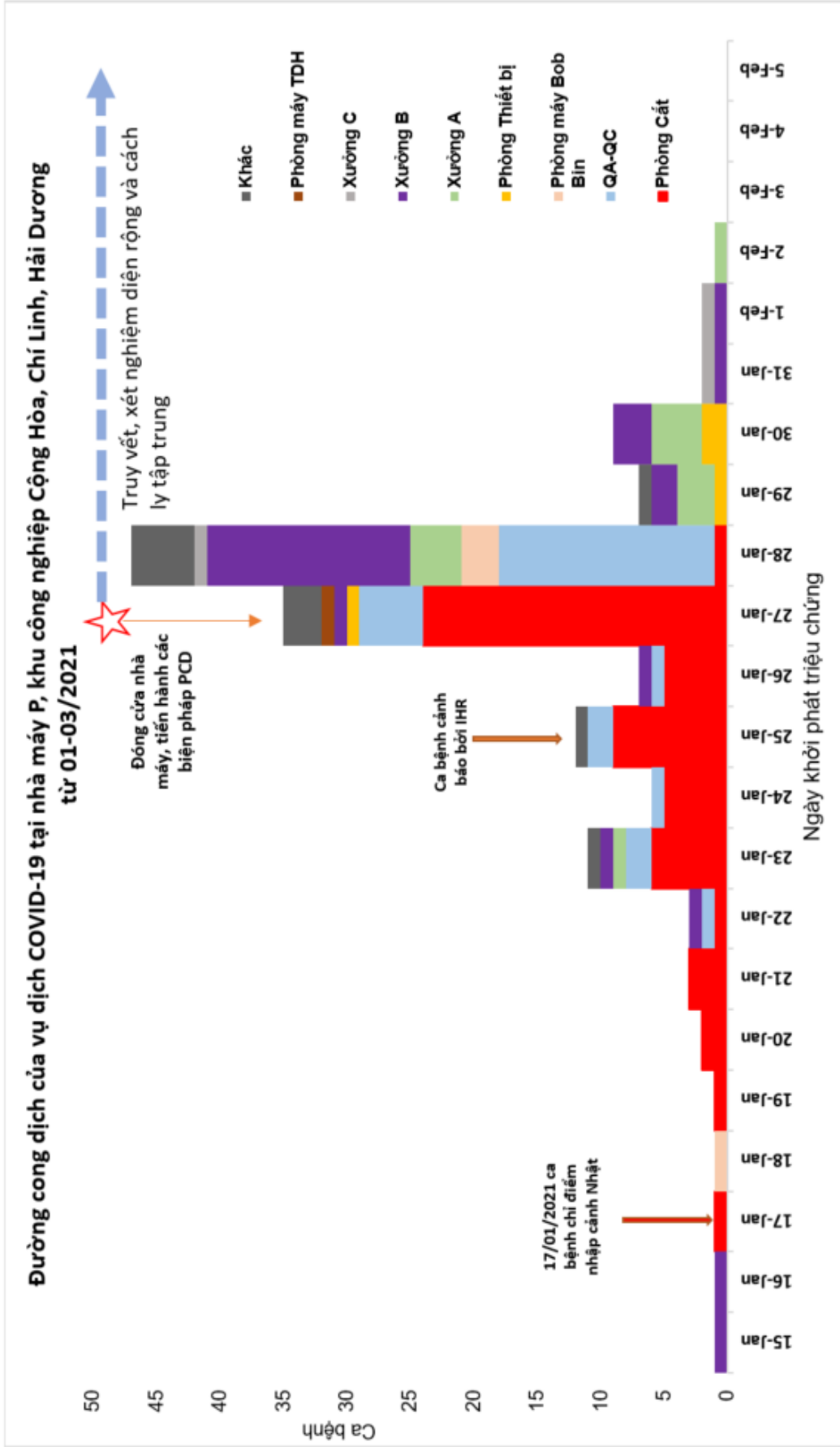
Tỉ suất tấn công cao hơn ở nhóm nam (20,3%), đối tượng có bệnh lý nền (28,9%), nhóm có trình độ Trung học phổ thông và cao đẳng (16,9% và 20,9%).



Hình 3.1. Tỉ suất tấn công của SARS-CoV-2 tại các phân xưởng trong nhà máy Poyun, Hải Dương, tháng 01-3/2021.

Kết quả tại Hình 3.1 cho thấy tỉ suất tấn công của vụ dịch COVID-19 cao nhất tại phòng Cắt (62,6%) - nơi phát hiện ca bệnh COVID-19 đầu tiên, tiếp đó là phòng QA-QC (34,0%), phòng Thiết bị (20,3%), phòng máy BobBin (18,5%), xưởng B (13,9%) và xưởng A (11,2%).

Tỉ suất tấn công tại xưởng C và xưởng máy TDH, lần lượt là 3,8% và 2,7%.



Hình 3.2. Diễn biến của vụ dịch COVID-19 tại Nhà máy POYUN, khu công nghiệp Cộng Hòa, Chí Linh, Hải Dương từ tháng 01-3/2021.

Kết quả tại Hình 3.2 cho thấy vụ dịch COVID-19 tại Nhà máy POYUN có thể đã bắt đầu từ ngày 15/01/2021 với 01 công nhân tại xưởng B xuất hiện triệu chứng sốt, mệt mỏi.

Ngày 17/01/2021, có thêm 01 công nhân làm việc tại phòng Cắt xuất hiện triệu chứng sốt; đồng thời ngày 17/01/2021, ca bệnh chỉ điểm (là công nhân nhà máy POYUN, làm việc tại phòng Cắt đã nghỉ việc và nhập cảnh Nhật Bản) được xét nghiệm (+) với SARS-CoV-2 biến thể Alpha.

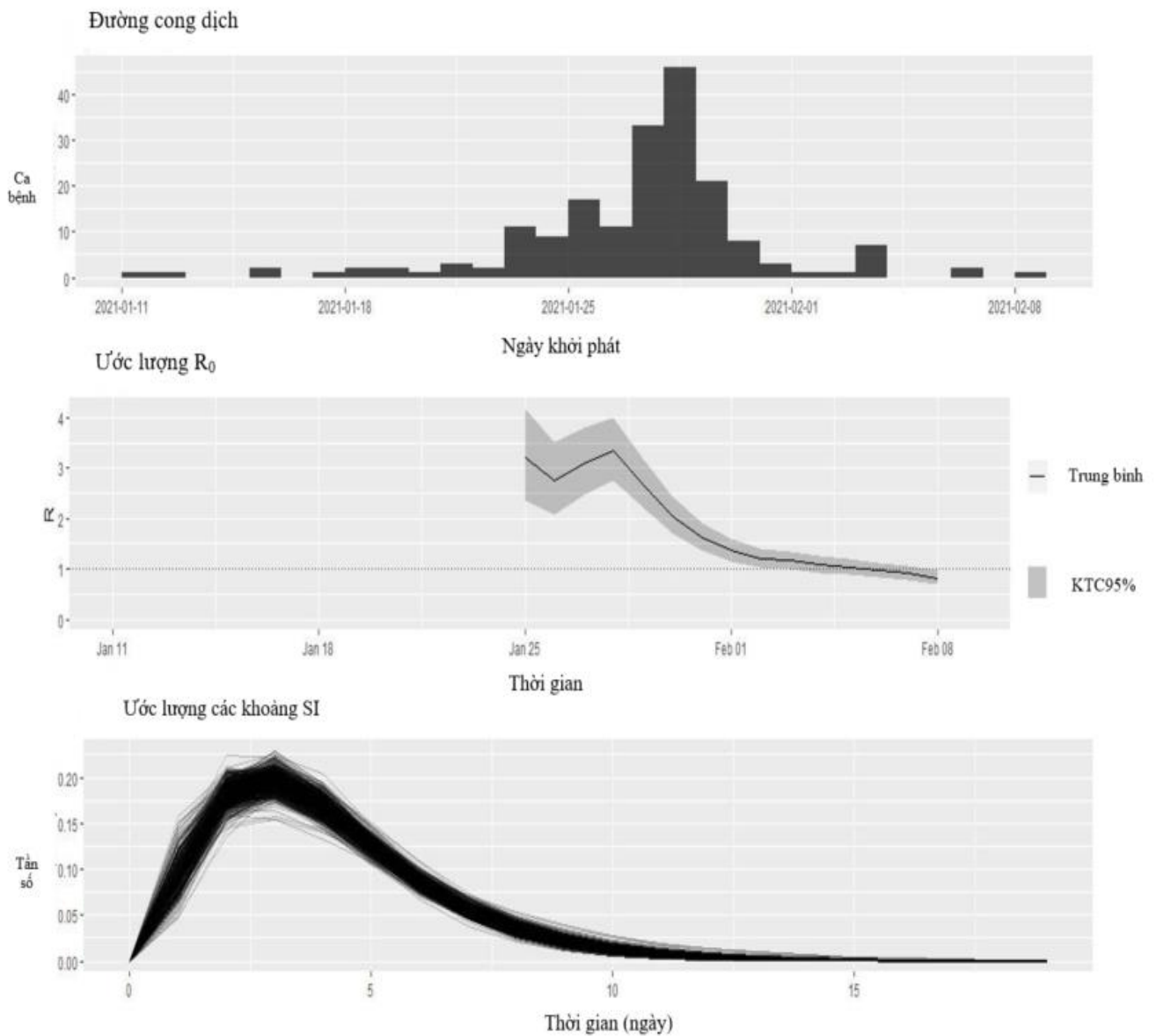
Từ ngày 19/01/2021 đến 21/01/2021, tại phòng Cắt có thêm 6 công nhân xuất hiện triệu chứng nghi ngờ nhiễm COVID-19. Số lượng người có triệu chứng nghi ngờ xuất hiện tăng dần theo thời gian ở các bộ phận (phòng Cắt, xưởng B, xưởng A, phòng QA-QC và khu vực khác trong nhà máy).

Tất cả các trường hợp có triệu chứng khởi phát từ ngày 15/01-26/01/2021 đều có kết quả xét nghiệm SARS-CoV-2 (+) vào ngày 27/01/2021.

Ngày 27/01/2021, sau khi có chỉ đạo của Chính phủ và Bộ Y tế, chính quyền và cơ quan Y tế tỉnh Hải Dương và thành phố Chí Linh đã phong tỏa nhà máy POYUN, lấy mẫu xét nghiệm toàn bộ công nhân của nhà máy. Trong ngày, có 35 trường hợp ở tất cả các bộ phận trong Nhà máy xuất hiện triệu chứng và có kết quả xét nghiệm SARS-CoV-2 (+).

Dịch đạt đỉnh vào ngày 28/01/2021 với 47 trường hợp xuất hiện triệu chứng và xét nghiệm (+) với SARS-CoV-2.

Sau khi tiến hành các biện pháp phong tỏa, xét nghiệm, truy vết, cách ly toàn bộ công nhân nhà máy, số lượng ca bệnh giảm dần, đến ngày 02/02/2021, không ghi nhận thêm ca mắc COVID-19 tại nhà máy POYUN.



Hình 3.3. Hệ số lây nhiễm R_0 trong vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN, Chí Linh, Hải Dương từ 01-3/2021.

Ghi chú: SI-Serial Interval, khoảng thời gian tính từ ca bệnh nguyên phát có triệu chứng hoặc xét nghiệm RT-PCR (+) với SARS-CoV-2 đến thời điểm ca thứ phát xuất hiện triệu chứng hoặc có xét nghiệm RT-PCR (+) với SARS-CoV-2.

Hình 3.3 cho thấy, hệ số lây nhiễm trong vụ dịch tại nhà máy POYUN là 3,5 trong giai đoạn từ ngày 25/01-28/01/2021. Sau khi triển khai các biện pháp phòng, chống dịch khẩn cấp, hệ số lây nhiễm bắt đầu giảm dần từ ngày 29/01-01/02/2020, duy trì ở mức xấp xỉ $R_0=1$ từ ngày 01/02/2021.

3.2.2. Một số đặc điểm lâm sàng ở các ca bệnh COVID-19

Bảng 3.3. Một số đặc điểm lâm sàng ở ca bệnh COVID-19 (n=182)

| Biến số | Tần số | Tỉ lệ |
|---------------------------------------|--------------------------------|-------|
| Có triệu chứng khởi phát | 71 | 39,9 |
| Thời gian ủ bệnh TB, KTC95%, n (ngày) | 7,6 ; 6,5 - 8,7;106 | |
| Số ngày điều trị TB, KTC95%, n (ngày) | 25,5 ; 23,3 - 27,8; 181 | |
| Điều trị ICU/Tử vong | 0 | 0 |
| Mệt mỏi | 66 | 36,3 |
| Ho | 63 | 34,6 |
| Đau rát họng | 59 | 32,4 |
| Sốt | 57 | 31,3 |
| Triệu chứng mũi (ngạt/chảy mũi) | 54 | 29,7 |
| Đau cơ khớp | 52 | 28,6 |
| Đau đầu | 49 | 26,9 |
| Ốn lạnh | 48 | 26,4 |
| Mất vị, khứu giác | 45 | 24,7 |
| Đau tức ngực | 35 | 19,2 |
| Khó thở | 35 | 19,2 |
| Tiêu chảy | 31 | 17,0 |
| Chóng mặt | 31 | 17,0 |
| Buồn nôn/nôn | 22 | 12,1 |
| Triệu chứng mắt (ngứa, chảy mắt) | 19 | 10,4 |

Khoảng 40% ca bệnh COVID-19 có triệu chứng khởi phát sau thời gian ủ bệnh trung bình là 7,6 ngày. Không có trường hợp nào phải điều trị tích cực, 100% ca bệnh đều khỏi bệnh, ra viện sau khoảng 25,5 ngày điều trị.

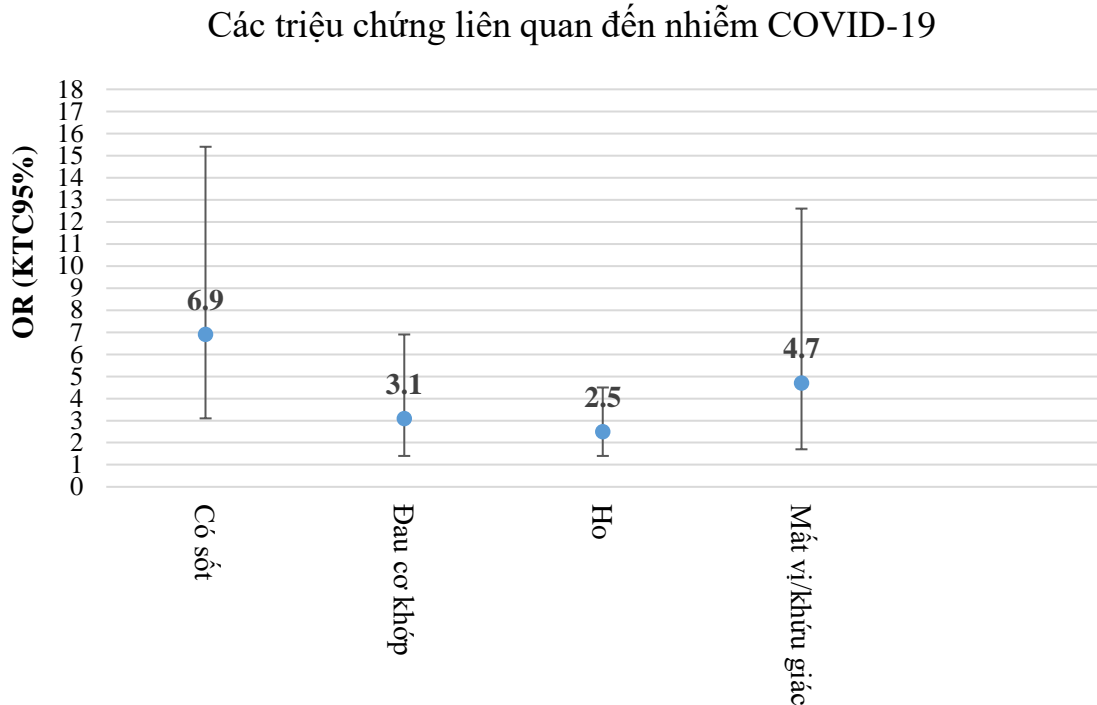
Trên 1/3 ca bệnh có triệu chứng mệt mỏi, ho, đau rát họng và sốt; các triệu chứng như đau cơ khớp, ớn lạnh, mất vị/khứu giác, ngạt/chảy mũi chiếm tỉ lệ từ 24%-30%; các triệu chứng khác chiếm tỉ lệ dưới 20%.

Bảng 3.4. Liên quan giữa tình trạng mắc COVID-19 với các triệu chứng lâm sàng (phân tích đơn biến).

| Biến số | N | SARS-CoV-2 | | OR (KTC 95%) | Giá trị p |
|------------------|-----|---------------------|------------------|--------------------|-----------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | | |
| Sốt (>37°C) | 72 | 57 (79,2) | 15 (20,8) | 29,7 (16,3 - 54,0) | <0,001 |
| Mất khứu/vị giác | 57 | 45 (78,9) | 12 (21,1) | 26,8 (13,8 - 52,0) | <0,001 |
| Đau tức ngực | 44 | 35 (79,5) | 9 (20,5) | 26,0 (12,2 - 52,2) | <0,001 |
| Khó thở | 42 | 35 (83,3) | 7 (16,7) | 33,5 (14,6 - 76,8) | 0,001 |
| Ớn lạnh | 70 | 48 (68,6) | 22 (31,4) | 15,8 (9,2 - 27,0) | 0,001 |
| Đau cơ khớp | 77 | 52 (65,8) | 27 (34,2) | 14,3 (8,7 - 23,5) | 0,001 |
| Tiêu chảy | 49 | 31 (63,3) | 18 (36,7) | 11,1 (6,1 - 20,3) | 0,001 |
| Nôn, buồn nôn | 34 | 22 (64,7) | 12 (35,3) | 11,2 (5,4 - 23,1) | 0,001 |
| Đau rát họng | 110 | 59 (53,6) | 51 (46,4) | 8,8 (5,8 - 12,4) | 0,001 |
| Ho | 122 | 63 (51,6) | 59 (48,4) | 8,4 (5,6 - 12,5) | <0,001 |
| Chóng mặt | 56 | 31 (55,4) | 25 (44,6) | 7,9 (4,5 - 13,8) | 0,001 |
| Mệt mỏi | 144 | 66 (45,8) | 78 (54,2) | 6,7 (4,5 - 9,7) | 0,001 |
| Chảy/ngạt mũi | 163 | 54 (33,1) | 109 (66,9) | 3,4 (2,3 - 5,0) | 0,001 |
| Triệu chứng mắt | 58 | 19 (32,8) | 39 (67,2) | 2,8 (1,6 - 5,0) | 0,001 |
| Đau đầu | 168 | 48 (28,6) | 120 (71,4) | 2,7 (1,8 - 3,9) | 0,001 |
| Đau bụng | 63 | 19 (30,2) | 44 (69,8) | 2,5 (1,4 - 4,4) | 0,001 |

Kết quả phân tích tại Bảng 3.4 cho thấy xuất hiện các triệu chứng lâm sàng gồm: sốt, mất vị giác/khứu giác, đau tức ngực, khó thở, ớn lạnh, đau cơ khớp, tiêu chảy, buồn nôn/nôn, đau rát họng, ho, chóng mặt, mệt mỏi, chảy mũi/ngạt

mũi, triệu chứng về mắt, đau đầu và đau bụng có liên quan tới tình trạng mắc COVID-19.



Hình 3.4. Các triệu chứng lâm sàng liên quan đến nhiễm COVID-19 trong phân tích hồi quy logistic đa biến.

Kết quả phân tích đa biến tại Hình 3.4 cho thấy: những người có sốt (OR: 6,9; KTC95%: 3,1-15,4), đau cơ khớp (OR: 3,1; KTC95%: 1,4-6,9), ho (OR: 2,5; KTC95%: 1,4-4,5), mất vị/khứu giác (OR: 4,7; KTC95%: 1,7-12,6) có liên quan đến xu hướng nhiễm COVID-19.

3.2.3. Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây lan vụ dịch

Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 trong vụ dịch được trình bày tại các bảng dưới đây:

Bảng 3.5. Yếu tố nhân chủng học liên quan tới nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 (phân tích đơn biến).

| Biến số | N | SARS-CoV-2 | | OR (KTC 95%) | Giá trị p |
|----------------------------|-------|---------------------|------------------|------------------------|--------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | | |
| Giới tính | | | | | |
| Nữ | 943 | 134 (14,2) | 809 (85,8) | 1,0 | 0,021 |
| Nam | 237 | 48 (20,3) | 189 (79,7) | 1,5 (1,1 - 2,2) | |
| Nhóm tuổi | | | | | |
| 18 - 25 tuổi | 292 | 42 (14,4) | 250 (85,6) | 1,0 | 0,201 |
| 26 - 30 tuổi | 275 | 53 (19,3) | 222 (80,7) | 1,4 (0,9-2,2) | |
| 31 - 35 tuổi | 329 | 50 (15,2) | 279 (84,8) | 1,1 (0,7-1,6) | |
| > 35 tuổi | 284 | 37 (13,0) | 247 (87,0) | 0,9 (0,6-1,4) | |
| Dân tộc | | | | | |
| Kinh | 1.076 | 116 (11,3) | 910 (88,7) | 1,0 | 0,99 |
| Dân tộc khác | 104 | 16 (8,8) | 166 (91,2) | 1,01 (0,6-1,7) | |
| Nơi sinh sống | | | | | |
| Hải Dương | 1.026 | 159 (15,5) | 867 (84,5) | 1,0 | 0,161 |
| Quảng Ninh | 116 | 21 (18,1) | 95 (81,9) | 1,1 (0,6-1,3) | |
| Địa phương khác | 38 | 2 (5,3) | 36 (94,7) | 0,8 (0,5-1,2) | |
| Trình độ học vấn | | | | | |
| Trung học cơ sở | 419 | 51 (12,2) | 368 (87,8) | 1,0 | 0,045 |
| Trung học PT | 556 | 94 (16,9) | 462 (83,1) | 1,5 (1,01-2,1) | |
| Cao đẳng | 139 | 29 (20,9) | 110 (79,1) | 1,9 (1,1-3,1) | |
| Đại học/SĐH | 66 | 8 (12,1) | 58 (87,9) | 0,9 (0,5-2,2) | |
| Tình trạng hôn nhân | | | | | |
| Độc thân | 254 | 36 (14,2) | 218 (85,8) | 1,0 | 0,82 |
| Lập gia đình | 874 | 138 (15,8) | 736 (84,2) | 1,1 (0,8-1,7) | |
| Khác | 52 | 8 (15,4) | 44 (84,6) | 1,1 (0,5-2,5) | |

Kết quả phân tích đơn biến tại Bảng 3.5 cho thấy: nam giới, trình độ học vấn Trung học phổ thông hoặc cao đẳng có liên quan đến nhiễm COVID-19 ($p < 0,05$).

Bảng 3.6. Các yếu tố môi trường làm việc liên quan tới nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 (phân tích đơn biến).

| Biến số | N | SARS-CoV-2 | | OR (KTC 95%) | Giá trị p |
|------------------------------------|-------|---------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | | |
| Thời gian làm việc | | | | | |
| < 12 giờ | 1.160 | 165 (14,2) | 995 (85,8) | 1,0 | <0,001 |
| ≥ 12 giờ | 13 | 12 (92,3) | 1 (7,7) | 72,3 (8,8-592,7) | |
| Khoảng cách | | | | | |
| ≥ 02 mét | 857 | 116 (13,5) | 741 (86,5) | 1,0 | 0,003 |
| < 02 mét | 322 | 66 (20,5) | 256 (79,5) | 1,6 (1,2-2,3) | |
| Tiếp xúc với đồng nghiệp | | | | | |
| Không | 952 | 130 (13,7) | 822 (86,3) | 1,0 | <0,001 |
| Có | 228 | 52 (22,8) | 176 (77,2) | 1,8 (1,3-2,7) | |
| Đeo khẩu trang khi làm việc | | | | | |
| Không | 12 | 1 (8,3) | 11 (91,7) | 1,0 | 0,494 |
| Có | 1.168 | 181 (15,5) | 987 (84,5) | 2,0 (0,3-15,7) | |
| Số lần rửa tay | | | | | |
| < 10 lần | 360 | 49 (13,6) | 311 (86,4) | 1,0 | 0,272 |
| ≥ 10 lần | 819 | 132 (16,1) | 687 (83,9) | 1,2 (0,8-1,7) | |
| Có xà phòng* | | | | | |
| Không | 26 | 9 (34,6) | 17 (65,4) | 1,0 | 0,006 |
| Có | 1.152 | 173 (15,0) | 979 (85,0) | 0,3 (0,14-0,7) | |

(*) Có xà phòng, nước rửa tay nơi làm việc

Phân tích hồi quy đơn biến cho thấy những công nhân làm việc ≥ 12 giờ/ngày, có khoảng cách với người khác dưới 2 mét, thường xuyên giao tiếp với đồng nghiệp có liên quan đến mắc COVID-19. Trong khi đó, việc bổ sung đầy đủ xà

phòng rửa tay hoặc dung dịch sát khuẩn tại khu vực vệ sinh của nhà máy có liên quan đến giảm nguy cơ mắc COVID-19.

Bảng 3.7. Các yếu tố liên quan đến nguy cơ lây nhiễm tại nơi sinh sống của đối tượng nghiên cứu (phân tích đơn biến).

| Biến số | N | SARS-CoV-2 | | OR (KTC 95%) | Giá trị p |
|-------------------------------|-------|---------------------|------------------|-----------------------|-------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | | |
| Dự sự kiện đông người | | | | | |
| Không | 990 | 141 (14,2) | 849 (85,8) | 1,0 | 0,01 |
| Có | 190 | 41 (21,6) | 149 (78,4) | 1,6 (1,12-2,4) | |
| Đeo khẩu trang đi làm | | | | | |
| Không | 5 | 1 (20,0) | 4 (80,0) | 1,0 | 0,776 |
| Có | 1.175 | 181 (15,4) | 994 (84,6) | 0,7 (0,1-6,5) | |
| Phương tiện khi đi làm | | | | | |
| Cá nhân | 1.085 | 161 (14,8) | 924 (85,2) | 1,0 | 0,06 |
| Công cộng/xe công ty | 95 | 21 (22,1) | 74 (77,9) | 1,6 (0,9-2,7) | |
| Số người sống cùng nhà | | | | | |
| <5 người | 856 | 130 (15,2) | 726 (84,8) | 1,0 | 0,714 |
| ≥ 5 người | 324 | 52 (16,0) | 272 (84,0) | 1,1 (0,8-1,5) | |
| Điều kiện nhà ở | | | | | |
| Nhà thuê | 594 | 92 (15,5) | 502 (84,5) | 1,0 | 0,483 |
| Nhà bố mẹ | 36 | 3 (8,3) | 33 (91,7) | 0,5 (0,1-1,6) | |
| Nhà riêng | 550 | 87 (15,8) | 463 (84,2) | 1,02 (0,7-1,4) | |

Sử dụng xe đưa đón của nhà máy (OR: 1,6; KTC95%: 0,9 - 2,7), tham gia các sự kiện tập trung đông người (OR:1,6; KTC95%: 1,12 - 2,4) có liên quan đến tình trạng nhiễm SARS-CoV-2.

Bảng 3.8. Các yếu tố liên quan đến lịch sử tiếp xúc, biểu hiện lâm sàng của đối tượng nghiên cứu (phân tích đơn biến)

| Biến số | N | SARS-CoV-2 | | OR (KTC 95%) | Giá trị p |
|---|-------|---------------------|------------------|----------------------|------------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | | |
| Tiếp xúc người ốm | | | | | |
| Không | 1.038 | 144 (13,9) | 894 (86,1) | 1,0 | 0,001 |
| Có | 140 | 38 (27,1) | 102 (72,9) | 2,3 (1,5-3,5) | |
| Tiếp xúc ca bệnh COVID-19 nghi ngờ | | | | | |
| Không | 535 | 53 (9,9) | 482 (90,1) | 1,0 | <0,001 |
| Có | 643 | 129 (20,1) | 514 (79,9) | 2,3 (1,6-3,2) | |
| Có triệu chứng lâm sàng | | | | | |
| Không | 800 | 58 (7,3) | 742 (92,7) | 1,0 | 0,001 |
| Có | 374 | 124 (33,2) | 250 (66,8) | 6,3 (4,5-8,9) | |
| Có bệnh lý mạn tính | | | | | |
| Không | 1.136 | 171 (15,1) | 965 (84,9) | 1,0 | 0,02 |
| Có | 38 | 11 (28,9) | 27 (71,1) | 2,3 (1,1-4,7) | |
| Hút thuốc lá | | | | | |
| Không | 1.136 | 173 (15,2) | 963 (84,5) | 1,0 | 0,157 |
| Có | 38 | 9 (23,7) | 29 (76,3) | 1,7 (0,8-3,7) | |

Phân tích hồi quy đơn biến tại Bảng 3.9 cho thấy những công nhân có chăm sóc người ốm, có tiếp xúc ca bệnh COVID-19 nghi ngờ, người có bệnh lý mạn tính, và có triệu chứng lâm sàng có liên quan đến nhiễm COVID-19.

Kết quả phân tích hồi quy đa biến tại Bảng 3.9 cho thấy: làm việc trên 12 giờ/ngày liên quan đến tăng nguy cơ nhiễm COVID-19 64,1 lần (OR: 64,1; KTC95%: 8,1-509,9); làm việc trong môi trường chật hẹp (khoảng cách dưới 2

mét) liên quan đến tăng nguy cơ 1,6 lần (OR:1,6; KTC95%: 1,1-2,4), trong khi nói chuyện với đồng nghiệp trong quá trình sản xuất làm tăng nguy cơ mắc bệnh 1,8 lần (OR:1,8; KTC95%: 1,2-2,6).

Bảng 3.9. Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây nhiễm SARS-CoV-2 trong phân tích hồi quy logistic đa biến.

| Biến số | OR thô (KTC 95%) | OR hiệu chỉnh (KTC 95%) |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| Giới tính nam | 1,5 (1,1 - 2,2) | 1,3 (0,9 - 2,0) |
| Có bệnh lý mạn tính | 2,3 (1,1 - 4,7) | 2,1 (0,9 - 4,4) |
| Tiếp xúc, chăm sóc người ốm | 2,3 (1,5 - 3,5) | 1,9 (1,2 - 3,0) |
| Tiếp xúc ca COVID-19 nghi ngờ | 2,3 (1,6 - 3,2) | 1,8 (1,2 - 2,7) |
| Tham gia sự kiện đông người | 1,6 (1,12 - 2,4) | 1,4 (0,9 - 2,1) |
| Sử dụng xe đưa đón công ty | 1,6 (0,9 - 2,7) | 1,3 (0,8 - 2,4) |
| Làm việc trên 12 giờ/ngày | 72,3 (8,8 - 592,7) | 64,1 (8,1 - 509,9) |
| Khoảng cách <2 mét | 1,6 (1,2 - 2,3) | 1,6 (1,1 - 2,4) |
| Tiếp xúc gần đồng nghiệp | 1,8 (1,3 - 2,7) | 1,8 (1,2 - 2,6) |
| Có xà phòng rửa tay | 0,3 (0,14 - 0,7) | 0,4 (0,2 - 1,1) |

Ghi chú: Tổng số 14 biến số đủ điều kiện đưa vào mô hình ban đầu, mô hình cuối gồm 10 biến số.

Tiếp xúc trường hợp nghi ngờ mắc COVID-19 có liên quan đến tăng 1,8 lần nguy cơ nhiễm bệnh với OR=1,8 (KTC95%: 1,2-3,0).

Người tiếp xúc, chăm sóc người ốm liên quan đến tăng 1,9 lần nguy cơ nhiễm COVID-19 so với người không tiếp xúc, OR=1,9 (KTC95%: 1,2 - 3,0).

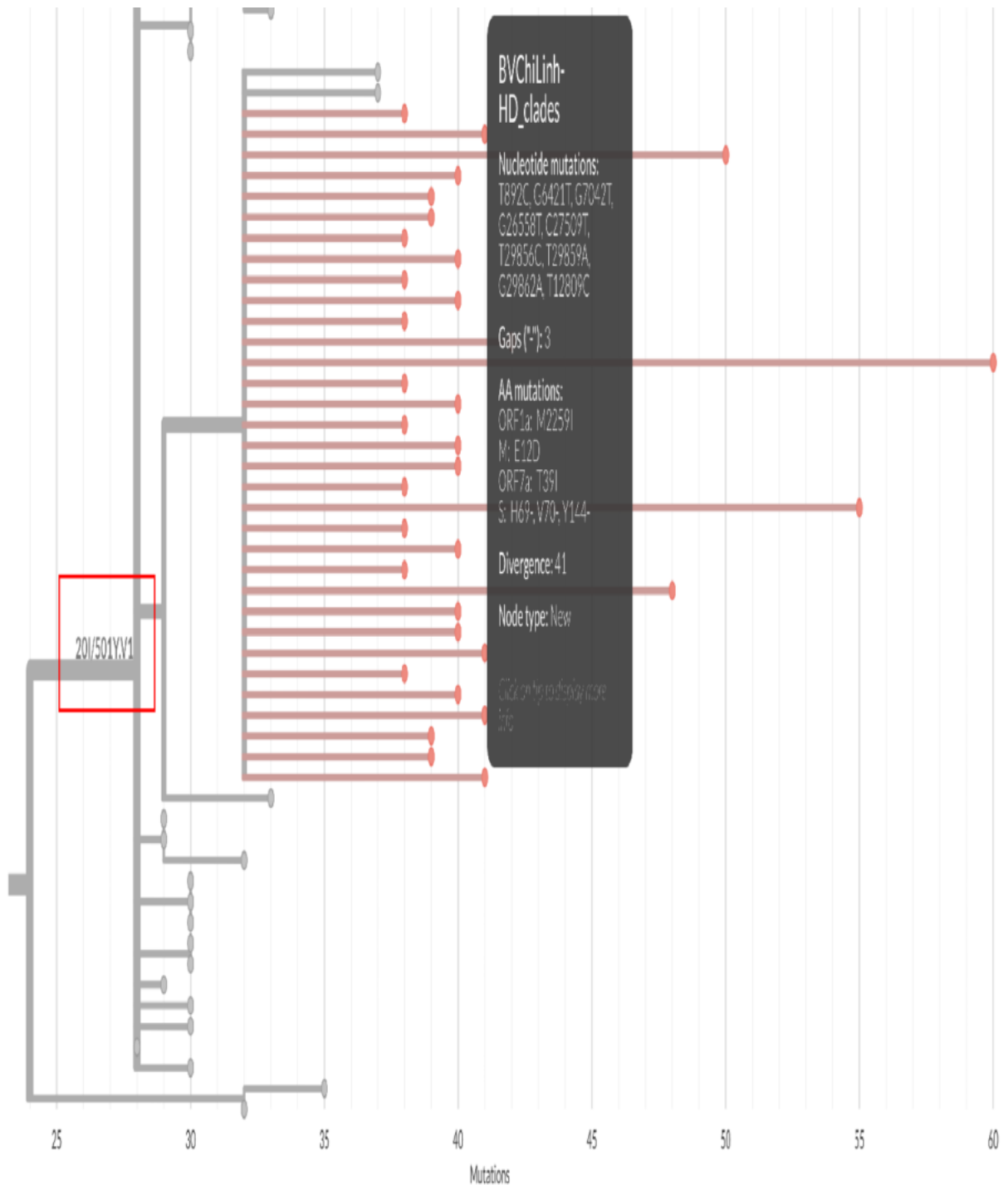
3.3. Đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây vụ dịch COVID-19

3.3.1. Một số đặc điểm sinh học phân tử

Bảng 3.10. Danh sách mẫu giải trình tự gen vi rút SARS-CoV-2 (n=23)

| STT | Mã NC | Mã XN | Ngày XN |
|-----|-----------|--------------|------------|
| 1 | CL2 -1534 | VR03.40836.1 | 27/01/2021 |
| 2 | CL2 -1471 | VR03.40797.1 | 27/01/2021 |
| 3 | CL2 -1476 | VR03.40801.1 | 27/01/2021 |
| 4 | CL2 -1567 | VR03.40804.1 | 27/01/2021 |
| 5 | CL2 -1492 | VR03.40805.1 | 27/01/2021 |
| 6 | CL2 -1483 | VR03.40811.1 | 27/01/2021 |
| 7 | CL2 -1501 | VR03.40816.1 | 27/01/2021 |
| 8 | CL2 -1510 | VR03.40822.1 | 27/01/2021 |
| 9 | CL2 -1518 | VR03.40826.1 | 27/01/2021 |
| 10 | CL2 -1528 | VR03.40833.1 | 27/01/2021 |
| 11 | CL2 -1537 | VR03.40838.1 | 27/01/2021 |
| 12 | CL2 -1514 | VR03.40843.1 | 27/01/2021 |
| 13 | CL2 -1547 | VR03.40844.1 | 27/01/2021 |
| 14 | CL2 -1556 | VR03.40849.1 | 27/01/2021 |
| 15 | CL2 -1563 | VR03.40853.1 | 27/01/2021 |
| 16 | CL2 -1569 | VR03.40854.1 | 27/01/2021 |
| 17 | CL2 -1574 | VR03.40857.1 | 27/01/2021 |
| 18 | CL2 -1582 | VR03.40862.1 | 27/01/2021 |
| 19 | CL2 -1584 | VR03.40864.1 | 27/01/2021 |
| 20 | CL2 -1923 | VR03.40865.1 | 27/01/2021 |
| 21 | CL2 -1568 | VR03.40867.1 | 27/01/2021 |
| 22 | CL2-0023 | VR03.40868.1 | 27/01/2021 |
| 23 | CL2-0354 | VR03.40869.1 | 27/01/2021 |

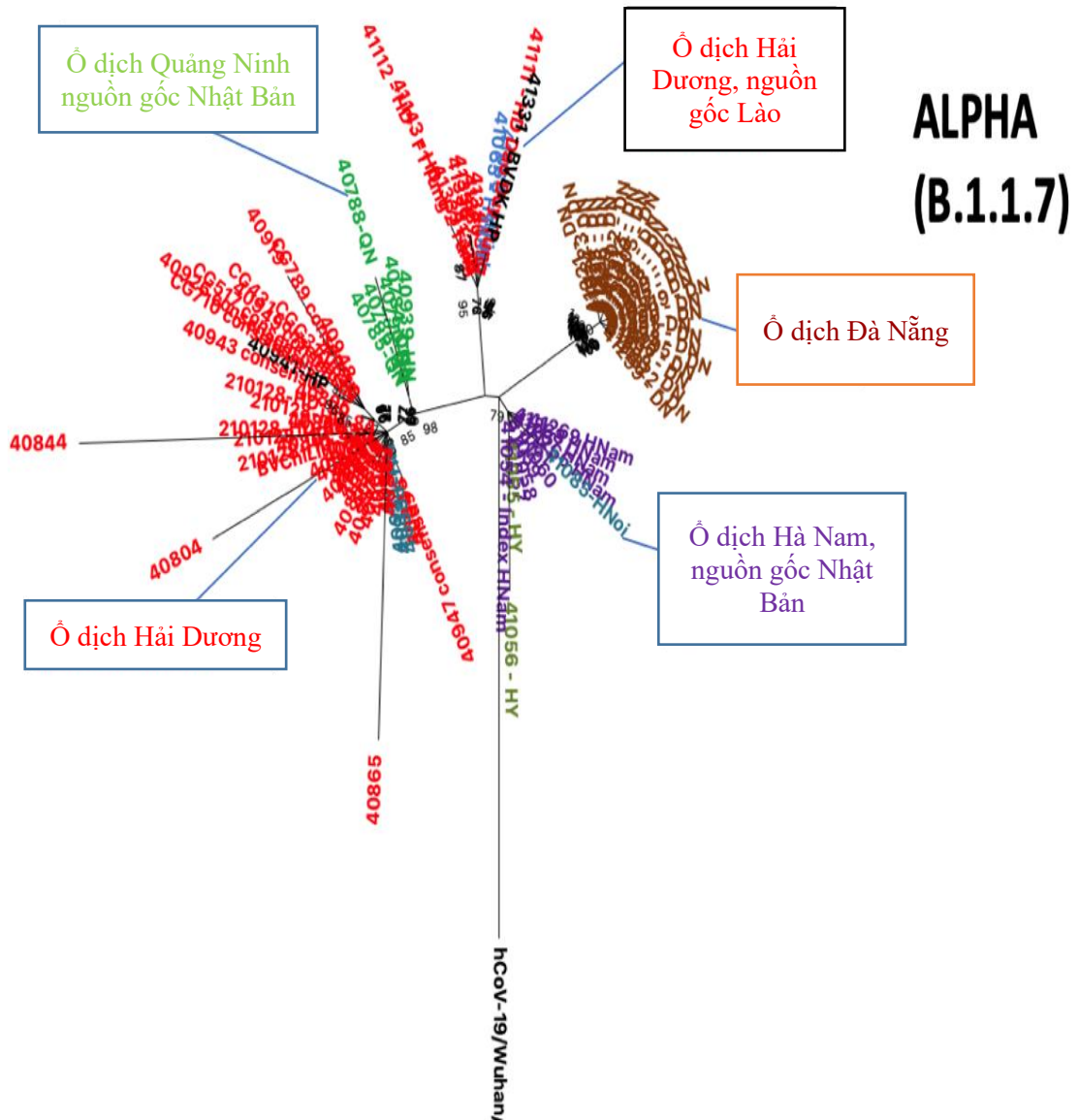
Tổng số 23 mẫu đáp ứng tiêu chuẩn để làm xét nghiệm giải trình tự gen vi rút SARS-CoV-2; các xét nghiệm được thực hiện trong ngày 27/01/2023.



Hình 3.5. Cây gia hệ các vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại Nhà máy POYUN, Hải Dương (01/2021-3/2021).

Kết quả giải trình tự gen 23 mẫu bệnh phẩm của công nhân nhà máy POYUN mắc COVID-19 tại Hình 3.5 cho thấy chủng vi rút gây dịch thuộc biến thể Alpha (B.1.1.7) - Clade 20I/501Y.V1. Toàn bộ các mẫu nghiên cứu đều tập

trung trong 1 nhóm, cùng chia sẻ 9 đột biến nucleotide trên hệ gen T892C, G6421T, G7042T, G26558T, C27509T, T29859C, T29859A, G29862A, T12809C và có những đột biến acid amin tại vùng gen ORF1a (M2259I); M(E12D); ORF7a (T39I); S (H69-; V70-, Y144-).



Hình 3.6. Phân tích gia hệ các chủng Alpha (B.1.1.7) trong các ổ dịch COVID-19 tại Việt Nam tính đến cuối tháng 5/2021.

(Chủng chuẩn: hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019/EPI_ISL_402124/2019-12-30)

Phân tích cây gia hệ các vi rút SARS-CoV-2 biến thể Alpha lưu hành tại Việt Nam trong cùng thời gian cho thấy có sự phân tách nhóm theo địa phương xuất hiện: Hải Dương, Quảng Ninh, Hà Nam, Đà Nẵng.

Biến thể Alpha gây dịch tại Hải Dương có sự tương đồng cao với nhóm vi rút gây dịch tại Quảng Ninh, và phân tách thành 2 nhánh phụ, các mẫu thu thập tại POYUN tập trung vào 1 nhóm và tách rời nhóm vi rút SARS-CoV-2 cũng lưu hành tại Hải Dương có liên quan đến ca bệnh xâm nhập từ Lào (Hình 3.6)

3.3.2. Đáp ứng kháng thể kháng SARS-CoV-2 tại nhà máy POYUN

3.3.2.1. Kết quả xét nghiệm ELISA thứ nhất

Bảng 3.11. Tỷ lệ đối tượng có đáp ứng kháng thể IgG ở lần xét nghiệm thứ 1
(n = 594)

| Biến số nghiên cứu | Kháng thể IgG | | Tổng |
|--------------------------|---------------------|-------------------|------------------|
| | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Giới tính | | | |
| Nữ | 5 (1,1) | 456 (98,9) | 461 (77,6) |
| Nam | 1 (0,75) | 132 (99,25) | 133 (23,4) |
| Nhóm tuổi | | | |
| 18 - 25 tuổi | 1 (0,6) | 162 (99,4) | 163 (27,4) |
| 26 - 30 tuổi | 0 (0) | 145 (100) | 145 (24,4) |
| 31 - 35 tuổi | 4 (2,7) | 143 (97,3) | 147 (24,6) |
| > 35 tuổi | 1 (0,7) | 138 (99,3) | 139 (23,4) |
| Nơi sinh sống | | | |
| Tỉnh Hải Dương | 4 (0,8) | 526 (99,2) | 530 (89,2) |
| Tỉnh Quảng Ninh | 0 | 43 (100) | 43 (7,3) |
| Địa phương khác | 2 (9,5) | 19 (90,5) | 21 (3,5) |
| Xét nghiệm RT-PCR | | | |
| SARS-CoV-2 (-) | 5 (0,9) | 527 (99,1) | 532 (89,6) |
| SARS-CoV-2 (+) | 1 (1,6) | 61 (98,4) | 62 (10,4) |
| Tổng | 6 (1,0) | 588 (99,0) | 594 (100) |

Ở lần xét nghiệm đầu tiên (ngày 27/01/2021 - thời điểm bùng phát dịch), có tổng số 594 mẫu huyết thanh được thu thập và xét nghiệm. Trong đó có 6 mẫu xét nghiệm phát hiện IgG(+) kháng SARS-CoV-2, chiếm tỷ lệ 1%. Đáng chú ý, có 5/6 trường hợp có kết quả xét nghiệm RT-PCR (-) với SARS-CoV-2 trên

mẫu dịch hầu họng thu thập cùng ngày. Toàn bộ các trường hợp có kết quả ELISA dương tính được khai thác thông tin và phân tích.

Bảng 3.12. Chi tiết các trường hợp có đáp ứng kháng thể IgG (n=6).

| TT | Mã số XN | Giới | Tuổi | Phân xưởng | TC khởi phát | PCR (+) | Ngày XN |
|----|------------|------|------|------------|--------------|---------|---------|
| 1 | CL2 - 2994 | Nữ | 34 | Xưởng C | (-) | (-) | 27/01 |
| 2 | CL2 - 3068 | Nữ | 35 | P. Cắt | (-) | (-) | 27/01 |
| 3 | CL2 - 3215 | Nữ | 19 | Bobbin | (-) | (-) | 27/01 |
| 4 | CL2 - 3224 | Nam | 32 | P. Cắt | (-) | (-) | 27/01 |
| 5 | CL2 - 1750 | Nữ | 31 | QA-QC | (-) | (+) | 27/01 |
| 6 | CL2 - 2326 | Nữ | 38 | Xưởng A | (-) | (-) | 27/01 |

Kết quả tại Bảng 3.12 cho thấy, có 06 trường hợp có IgG (+) phân bố tại 5 phân xưởng/bộ phận làm việc, trong đó có 05 đối tượng là nữ, độ tuổi từ 19 - 38 tuổi, tập trung ở phòng Cắt với 02 trường hợp; tất cả các trường hợp này đều không có triệu chứng khởi phát.

3.3.2.2. Kết quả xét nghiệm ELISA thứ hai

Bảng 3.13. Tỷ lệ đối tượng có đáp ứng kháng thể IgG ở lần xét nghiệm thứ 2
(n=1.004)

| Biến số | N | Kháng thể IgG | | Giá trị p |
|----------------------------|--------------|---------------------|-------------------|--------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Giới tính | | | | |
| Nữ | 793 | 83 (10,5) | 710 (89,5) | 0,44 |
| Nam | 211 | 26 (12,3) | 185 (87,7) | |
| Nhóm tuổi | | | | |
| 18 - 25 tuổi | 241 | 17 (7,1) | 224 (92,9) | 0,051 |
| 26 - 30 tuổi | 230 | 27 (11,7) | 203 (88,3) | |
| 31 - 35 tuổi | 277 | 40 (14,4) | 237 (85,6) | |
| > 35 tuổi | 256 | 25 (9,8) | 231 (90,2) | |
| Dân tộc | | | | |
| Kinh | 911 | 99 (10,9) | 812 (89,1) | 0,97 |
| Dân tộc khác | 93 | 10 (10,7) | 83 (89,3) | |
| Nơi sinh sống | | | | |
| Hải Dương | 939 | 95 (10,1) | 844 (89,9) | 0,001 |
| Quảng Ninh | 30 | 11 (36,7) | 19 (63,3) | |
| Khác | 35 | 3 (8,6) | 32 (91,4) | |
| Trình độ học vấn | | | | |
| Trung học cơ sở | 368 | 42 (11,4) | 326 (88,6) | 0,17 |
| Trung học phổ thông | 455 | 42 (9,2) | 413 (99,8) | |
| Cao đẳng | 117 | 19 (16,2) | 98 (83,8) | |
| Đại học/SĐH | 64 | 6 (9,4) | 58 (89,1) | |
| Tình trạng hôn nhân | | | | |
| Độc thân | 217 | 15 (6,9) | 202 (93,1) | 0,074 |
| Lập gia đình | 743 | 87 (11,7) | 656 (88,3) | |
| Khác | 44 | 7 (15,9) | 37 (89,1) | |
| Tổng số | 1.004 | 109 (10,9) | 895 (89,1) | |

Ở lần xét nghiệm ELISA lần 2, có 1.004 mẫu bệnh phẩm được thu thập và xét nghiệm. Kết quả cho thấy tỷ lệ đối tượng có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-

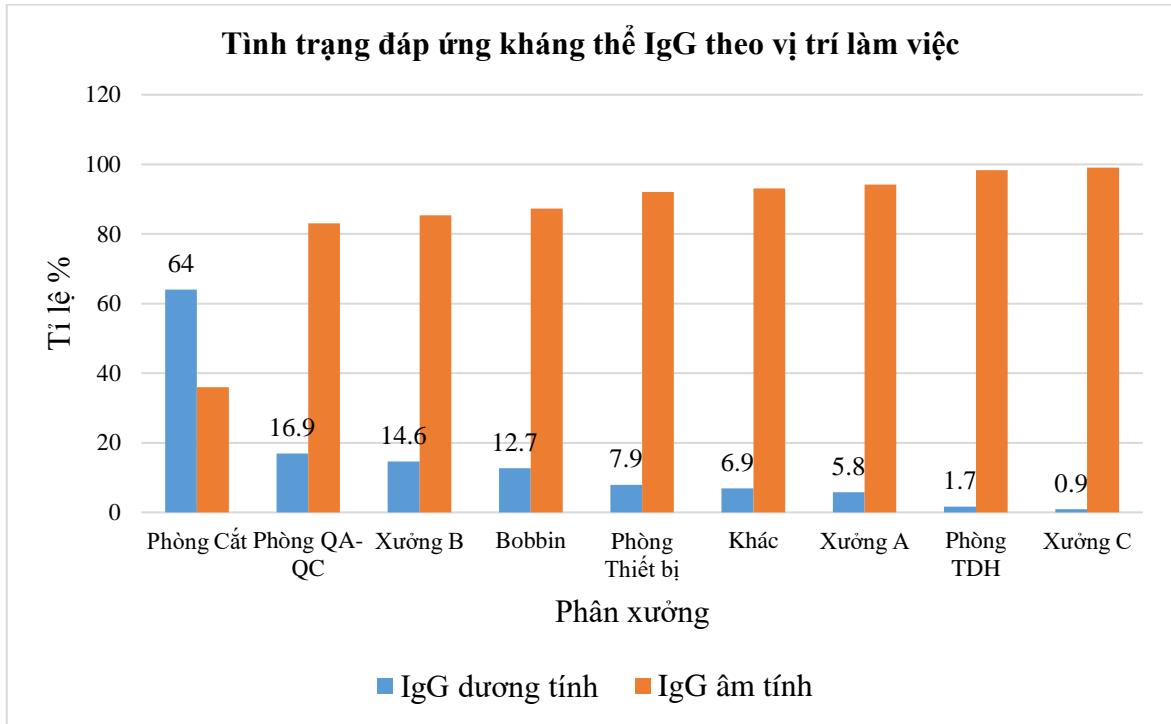
2 trong huyết thanh là 10,9%, trong đó tỉ lệ có kháng thể IgG ở nhóm nam cao hơn nữ; nhóm tuổi từ 31-35 có tỉ lệ dương tính cao nhất với 14,4% so với các nhóm tuổi còn lại ($p>0,05$). Theo địa bàn sinh sống, tỉ lệ dương tính ở nhóm công nhân sinh sống tại Quảng Ninh cao nhất, với 36,7% ($p<0,05$).

Bảng 3.14. Tỉ lệ phát hiện kháng thể IgG theo nhóm nguy cơ tại nhà máy POYUN (n = 1.004)

| Biến số | N | Kháng thể IgG | | Giá trị p |
|------------------------------------|-----|---------------------|------------------|------------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Thời gian làm việc | | | | |
| < 12 giờ | 999 | 106 (10,6) | 893 (89,4) | 0,17* |
| ≥ 12 giờ | 1 | 1 (10,0) | 0 (0,0) | |
| Khoảng cách | | | | |
| < 2 mét | 264 | 36 (13,6) | 228 (86,4) | 0,092 |
| ≥ 02 mét | 739 | 73 (9,9) | 666 (90,1) | |
| Giao tiếp với đồng nghiệp | | | | |
| Không | 733 | 65 (8,9) | 668 (91,1) | 0,001 |
| Có | 271 | 44 (16,2) | 227 (83,8) | |
| Đeo khẩu trang khi làm việc | | | | |
| Không | 10 | 1 (10,0) | 9 (90,0) | 0,93 |
| Có | 994 | 108 (10,9) | 886 (89,1) | |
| Số lần rửa tay/ngày | | | | |
| < 10 lần | 300 | 33 (11,0) | 267 (89,0) | 0,87 |
| ≥ 10 lần | 703 | 75 (10,8) | 628 (89,2) | |
| Có xà phòng rửa tay | | | | |
| Không | 15 | 6 (40,0) | 9 (60,0) | <0,001 |
| Có | 987 | 103 (10,4) | 884 (89,6) | |

(*) Fisher's exact test

Bảng 3.14 cho thấy những công nhân giao tiếp với đồng nghiệp khi sản xuất (16,2%) có tỉ lệ IgG dương tính cao hơn so với các nhóm còn lại ($p < 0,05$), trong khi có xà phòng hoặc dung dịch rửa tay tại nơi sản xuất liên quan đến giảm tỉ lệ có kháng thể IgG ($p < 0,05$).



Hình 3.7. Tình trạng đáp ứng kháng thể IgG theo các vị trí làm việc tại nhà máy POYUN.

Liên quan đến vị trí làm việc trong nhà máy, công nhân làm việc tại phòng Cắt có tỉ lệ dương tính lên đến 64%, tiếp theo đó là tại phòng QA-QC (16,9%), xưởng B (14,6%) và phòng Bobbin (12,7%).

Tại các bộ phận khác như phòng thiết bị, xưởng A, phòng TDH, xưởng C, tỉ lệ công nhân có đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 dưới 10%.

Bảng 3.15. Tỷ lệ phát hiện kháng thể IgG ở các nhóm nguy cơ tại gia đình, cộng đồng (n = 1.004)

| Biến số | N | Kháng thể IgG | | Giá trị p |
|------------------------------------|-----|---------------------|------------------|--------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Phương tiện khi đi làm | | | | |
| Cá nhân | 914 | 90 (9,9) | 824 (90,1) | 0,001 |
| Xe đưa đón của công ty | 90 | 19 (21,1) | 71 (78,9) | |
| Tham gia sự kiện đông người | | | | |
| Không | 836 | 78 (9,3) | 758 (90,7) | 0,001 |
| Có | 168 | 31 (18,5) | 137 (81,5) | |
| Số người sống cùng nhà | | | | |
| < 5 người | 50 | 4 (8,0) | 46 (92,0) | 0,75* |
| ≥ 5 người | 954 | 105 (11,0) | 849 (89,1) | |
| Đeo khẩu trang khi đi làm | | | | |
| Không | 5 | 0 | 5 (100) | 0,43* |
| Có | 999 | 109 (10,9) | 890 (89,1) | |

(*) Fisher's exact test

Kết quả ở Bảng 3.15 cho thấy, những người sử dụng xe đưa đón của Nhà máy, tham gia sự kiện tập trung đông người có tỷ lệ IgG(+) kháng SARS-CoV-2 cao hơn so với những nhóm đối tượng còn lại, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.16. Tình trạng đáp ứng kháng thể IgG theo các nhóm nguy cơ khác
(n=1.004)

| Biến số | N | Kháng thể IgG | | Giá trị p |
|--|-----|---------------------|------------------|------------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Tiếp xúc, chăm sóc người ốm | | | | |
| Không | 890 | 90 (10,1) | 800 (89,9) | 0,028 |
| Có | 112 | 19 (17,0) | 93 (83,0) | |
| Tiếp xúc ca bệnh nghi ngờ | | | | |
| Không | 456 | 34 (7,5) | 422 (92,5) | 0,001 |
| Có | 546 | 75 (13,7) | 471 (86,3) | |
| Xét nghiệm RT-PCR | | | | |
| SARS-CoV-2 (-) | 867 | 20 (2,3) | 847 (97,7) | <0,001 |
| SARS-CoV-2 (+) | 137 | 89 (65,0) | 48 (35,0) | |
| Có triệu chứng lâm sàng[#] | | | | |
| Không | 702 | 44 (6,3) | 658 (93,7) | <0,001 |
| Có | 296 | 64 (21,6) | 232 (78,4) | |
| Hút thuốc lá | | | | |
| Không | 905 | 102 (10,6) | 863 (89,4) | 0,16 |
| Có | 33 | 6 (18,2) | 27 (81,8) | |

(#) Triệu chứng lâm sàng từ ngày 01/12/2020 đến thời điểm điều tra.

Kết quả tại Bảng 3.16 cho thấy những công nhân có tiếp xúc và chăm sóc người ốm, tiếp xúc ca nghi nhiễm COVID-19, người có triệu chứng như (sốt, ho, đau rát họng, khó thở...) có tỉ lệ kháng thể IgG (+) cao hơn so với những người không có những đặc điểm này ($p < 0,05$).

Người nhiễm SARS-CoV-2 có tỉ lệ kháng thể IgG (+) trong huyết thanh lên tới 65%, trong khi đó 20 (2,3%) công nhân có kháng thể IgG (+) trong huyết thanh nhưng lại không được ghi nhận nhiễm COVID-19 ($p < 0,05$).

Bảng 3.17. Đáp ứng kháng thể IgG ở những người mắc COVID-19 (n=137)

| Biến số | N | Kháng thể IgG | | Giá trị p |
|---------------------------------|-----|---------------------|------------------|---------------|
| | | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Giới tính | | | | |
| Nữ | 98 | 64 (65,3) | 34 (34,7) | 0,894 |
| Nam | 39 | 25 (64,1) | 14 (35,9) | |
| Nhóm tuổi | | | | 0,002 |
| 18 - 25 tuổi | 33 | 14 (42,4) | 19 (57,6) | |
| 26 - 30 tuổi | 36 | 23 (63,9) | 13 (36,1) | |
| 31 - 35 tuổi | 37 | 32 (86,5) | 5 (13,5) | |
| > 35 tuổi | 31 | 20 (64,5) | 11 (35,5) | |
| Có triệu chứng khởi phát | | | | 0,017 |
| Không | 82 | 47 (57,3) | 35 (42,7) | |
| Có | 53 | 41 (77,4) | 12 (22,6) | |
| Sốt | | | | 0,014 |
| Không | 103 | 61 (59,2) | 42 (40,8) | |
| Có | 34 | 28 (82,4) | 6 (17,6) | |
| Ốn lạnh | | | | 0,01* |
| Không | 109 | 65 (59,6) | 44 (40,4) | |
| Có | 28 | 24 (85,7) | 4 (14,3) | |
| Mệt mỏi | | | | 0,052 |
| Không | 91 | 54 (59,3) | 37 (40,7) | |
| Có | 46 | 35 (76,1) | 11 (23,9) | |
| Đau cơ/khớp | | | | 0,009 |
| Không | 105 | 62 (59,0) | 43 (41,0) | |
| Có | 32 | 27 (84,8) | 5 (15,6) | |
| Ho | | | | 0,051 |
| Không | 94 | 56 (59,6) | 38 (40,4) | |
| Có | 43 | 33 (76,7) | 10 (23,3) | |
| Mất vị/khứu giác | | | | 0,001* |
| Không | 111 | 64 (57,7) | 47 (42,3) | |
| Có | 26 | 25 (96,1) | 1 (3,9) | |
| Khó thở | | | | 0,064 |
| Không | 119 | 74 (62,2) | 45 (37,8) | |
| Có | 18 | 15 (83,3) | 3 (16,7) | |

(*) Fisher's exact test

Kết quả phân tích ở Bảng 3.17 cho thấy:

Người nhiễm COVID-19 có độ tuổi từ 31-35 có tỉ lệ IgG (+) cao nhất (86,5%), tiếp đến là nhóm tuổi >35 (64,5%), nhóm tuổi 26-30 (63,9%), thấp nhất ở nhóm tuổi từ 18-25 (42,4%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Tỉ lệ IgG (+) ở bệnh nhân COVID-19 có triệu chứng khởi phát (77,4%), có sốt (82,4%), ớn lạnh (85,7%), đau cơ/đau khớp (84,8%) và có mất vị/khứu giác (96,1%) cao hơn tỉ lệ IgG (+) ở những bệnh nhân không có triệu chứng này.

Bảng 3.18. Đáp ứng kháng thể IgG theo thời gian ở nhóm đối tượng có kết quả Realtime RT-PCR (+) với SARS-CoV-2 (n=137)

| Thời gian | Kháng thể IgG | | Tổng |
|-----------------|---------------------|------------------|------------------|
| | Dương tính n (%) | Âm tính n (%) | |
| Dưới 14 ngày | 0 | 0 | 0 |
| Từ 14 - 27 ngày | 2 (50,0) | 2 (50,0) | 4 (2,9) |
| Từ 28 - 45 ngày | 15 (65,2) | 8 (34,8) | 23 (16,8) |
| ≥ 45 ngày | 72 (65,5) | 38 (34,5) | 110 (80,3) |
| Tổng | 89 (65,0) | 48 (35,0) | 137 (100) |

Kết quả phân tích trên 137 người nhiễm SARS-CoV-2 cho thấy: trung vị thời gian có đáp ứng kháng thể IgG trong huyết thanh là 50 ngày sau nhiễm SARS-CoV-2 (sớm nhất là 16 ngày và muộn nhất là 57 ngày). Tỉ lệ có kháng thể IgG kháng vi rút SARS-CoV-2 tăng dần theo thời gian sau nhiễm đạt trên 65,5% tại nhóm có thời gian sau nhiễm ≥ 45 ngày (Bảng 3.18).

Chương 4

BÀN LUẬN

Vụ dịch COVID-19 xảy ra tại nhà máy POYUN, khu công nghiệp Cộng Hòa, thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương từ ngày 27/01/2021 đến cuối tháng 3/2021. Chúng tôi thu thập, phân tích dữ liệu của 182 ca bệnh và 998 trường hợp tiếp xúc gần để xác định tỉ suất tấn công, hệ số lây nhiễm và các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây nhiễm trong vụ dịch. Trong số 1.180 đối tượng nghiên cứu, nữ giới chiếm đa số (79,9%), tuổi trung bình $30,4 \pm 6,5$ tuổi, chủ yếu có trình độ học vấn Trung học cơ sở và Trung học phổ thông. Do tính chất công việc của nhà máy POYUN là lắp đặt các thiết bị điện tử, cần sự tỉ mỉ và khéo léo nên số công nhân nữ được tuyển dụng chiếm đa số. Chúng tôi sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện nên có sự chênh lệch đối tượng tham gia theo giới tính.

Đa số (91,1%) đối tượng là người dân tộc Kinh và (74,1%) đã lập gia đình, (87%) đang sinh sống tại địa bàn tỉnh Hải Dương. Tính đến thời điểm nghiên cứu triển khai, 100% đối tượng nghiên cứu chưa được tiêm vắc xin phòng COVID-19; gần 97% đối tượng nghiên cứu có sức khỏe tốt, trong khi khoảng 3,2 % đối tượng có bệnh lý mạn tính kèm theo.

4.1. Một số đặc điểm dịch tễ học và một số yếu tố liên quan đến sự lây nhiễm SARS-CoV-2 trong vụ dịch tại nhà máy POYUN

4.1.1. Tỉ suất tấn công, hệ số lây nhiễm

4.1.1. Tỉ suất tấn công:

Tỉ suất tấn công chung của vụ dịch là 15,4% (KTC95%: 13,3% - 17,5%), tỉ suất này rất khác nhau ở các nhóm đối tượng nghiên cứu.

Giới tính: Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ suất tấn công của SARS-CoV-2 ở nam giới (20,3%) cao nữ giới (14,2%); phù hợp với kết quả một số nghiên cứu gần đây cho thấy nữ giới ít bị tác động bởi COVID-19 hơn nam giới do có sự khác biệt về miễn dịch bẩm sinh, hormone sinh dục và các yếu tố liên quan đến nhiễm sắc thể giới tính [39, 135]; đồng thời do progesteron có tác dụng kháng viêm, có hiệu quả làm giảm cytokine viêm như IL-12 và IL-19 [63]. Kết quả một nghiên cứu tại Ai-len, từ 31/01-31/3/2020, cho thấy trẻ em gái dưới 10 tuổi có tỉ lệ nhiễm COVID-19 thấp hơn so với nam giới [65]. Kết quả một nghiên cứu khác phát hiện ACE2 lưu hành ở nam giới cao hơn so với nữ giới [52, 158], trong khi tăng ACE2 có liên quan đến tăng nguy cơ tiến triển nặng (suy tạng) ở bệnh nhân COVID-19 [52, 98]. Ngoài ra, nữ giới thường có thói quen chăm sóc sức khỏe, tuân thủ các biện pháp phòng chống dịch (đeo khẩu trang, rửa tay...) tốt hơn nam giới [29]. Những nguyên nhân trên có thể là yếu tố làm giảm nguy cơ nhiễm COVID-19 ở công nhân nữ.

Nhóm tuổi: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, tỉ suất tấn công của COVID-19 ở đối tượng từ 26-30 tuổi (19,3%) cao hơn so với các nhóm đối tượng còn lại, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

Một nghiên cứu chỉ ra rằng SARS-CoV-2 ảnh hưởng đến tất cả các lứa tuổi, trong đó người tuổi cao có nguy cơ mắc COVID-19 cao hơn [51]. Kết quả một nghiên cứu hệ thống cho thấy bệnh nhân trên 70 tuổi có nguy cơ nhiễm COVID-19 cao hơn 2,05 lần so với những người có tuổi dưới 70 [130].

Kết quả một nghiên cứu thuần tập hồi cứu khác cho thấy nhóm tuổi 50-59 (RR: 2,3; KTC 95%: 1,65-3,27), nhóm tuổi 60-69 (RR: 5,29; KTC 95%: 3,76-7,46) có nguy cơ nhiễm COVID-19 cao hơn so với đối tượng tuổi từ 20-29. Các tác giả lí giải, người già thường có hệ miễn dịch kém hơn người trẻ nên dễ mắc bệnh hơn.

Tỉ suất tấn công giữa các nhóm tuổi trong nghiên cứu này không có sự khác biệt là do các công nhân có sức khỏe đồng đều, sự chênh lệch tuổi tác không quá nhiều, và điều kiện lao động cơ bản giống nhau.

Người có bệnh lý nền: Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ suất tấn công của vụ dịch ở nhóm đối tượng có bệnh lý nền là 28,1%, trong khi đó ở nhóm khỏe mạnh, tỉ lệ này là 15,0 %. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nhiều nghiên cứu trên thế giới như: nghiên cứu tại Banglades phát hiện người có bệnh tiểu đường, bệnh gan, bệnh thận, bệnh tim mạch có nguy cơ nhiễm COVID-19 cao hơn lần lượt 1,46 lần, 9,39 lần, 4,73 lần và 2,08 lần so với những người không có bệnh [15]. Nghiên cứu của Popkin và CS cho thấy, người thừa cân có nguy cơ mắc COVID-19 cao hơn 1,97 lần (RR: 1,97; KTC 95%: 1,46-2,65) so với người có cân nặng bình thường. Các tác giả lí giải người thừa cân, béo phì thường có nồng độ ACE2 cao hơn nên tạo điều kiện thuận lợi cho vi rút xâm nhập vào cơ thể.

Theo phân xưởng làm việc: Tỉ suất tấn công của vụ dịch COVID-19 tại phòng Cắt cao nhất, với 62,6%; tiếp theo là các phòng QA-QC, Kho, phòng máy BobBin, xưởng B và xưởng A. Tỉ suất tấn công thấp hơn gặp ở xưởng C và xưởng máy TDH (Hình 3.1).

Chúng tôi nhận định, ổ dịch nhiều khả năng bắt nguồn từ xưởng Cắt, sau đó lây nhiễm ra các khu vực lân cận. Do phòng Cắt có cấu trúc khép kín, diện tích khá hẹp, khoảng cách giữa các công nhân khoảng 1,0-1,5 mét nên đây là điều kiện thuận lợi cho quá trình lây nhiễm; ngoài ra, có thể do tiếp xúc trong quá trình ăn uống, nói chuyện giữa các công nhân tại nhà ăn, hoặc do công nhân tham gia các sự kiện tập trung đông người. Chúng tôi nhận thấy có sự phù hợp với kết quả xét nghiệm ELISA lần 1 ngày 27/01/2021, có 02 công nhân ở phòng Cắt có kháng thể IgG (+) kháng SARS-CoV-2 trong huyết thanh; đồng thời tại Biểu đồ (Epi Curve), ngày 15/01/2021 đã xuất hiện người có triệu chứng nghi

ngờ; ngày 17/01/2021 ca bệnh chỉ điểm được chẩn đoán (+) với SARS-CoV-2 khi nhập cảnh Nhật Bản, gợi ý vụ dịch đã diễn ra được 1-2 tuần.

4.1.1.2. Hệ số lây nhiễm R_0

Kết quả nghiên cứu cho thấy hệ số lây nhiễm trung bình là 3,5 trong giai đoạn từ 25/01/2021 đến ngày 28/01/2021; giai đoạn từ 29/01/2021 trở đi đến cuối vụ dịch, hệ số lây nhiễm giảm dần xuống dưới 1,0 (Hình 3.3).

Hệ số lây nhiễm phụ thuộc vào đặc điểm của vi rút gây bệnh và các biện pháp phòng ngừa. Vi rút gây dịch tại POYUN là biến thể Alpha, được xác định có hệ số R_0 cao hơn vi rút Vũ Hán trước đó. Kết quả của chúng tôi cho thấy, hệ số R_0 trong giai đoạn đầu tương tự các nghiên cứu tại Italia, Iran; giai đoạn sau, hệ số R_0 giảm do các biện pháp can thiệp được áp dụng triệt để.

Bảng 4.1. Hệ số lây nhiễm của chủng Alpha (B.1.1.7) tại một số quốc gia trên thế giới (Nguồn: Farnaz Sheikhi và CS [138])

| Quốc gia | Khoảng thời gian | Hệ số lây nhiễm |
|------------|-------------------|-----------------|
| Italia | 23/02 - 9/3/2020 | 3,17 - 3,38 |
| Ấn Độ | 02/3 - 07/5/2020 | 1,379 |
| Iran | 19/02 - 11/3/2020 | 3,23 - 4,7 |
| Sri Lanka | 11/3 - 30/4/2020 | 0,93 - 1,23 |
| Thổ Nhĩ Kỳ | 16/11 - 9/12/2020 | 1,38 |

So sánh với các nghiên cứu khác cao hơn hệ số lây nhiễm của biến thể Alpha trong các nghiên cứu: Yeonju Kim và CS tại Anh với kết quả tỉ lệ tử vong do B.1.1.7 tăng 65% và tỉ lệ lây nhiễm tăng 70% so với chủng ban đầu tại Vũ Hán, làm tăng hệ số lây nhiễm lên 1,13-1,55. Hệ số lây nhiễm ở nhóm bệnh nhân B.1.1.7 cao hơn 1,57 lần so với nhóm bệnh nhân COVID-19 không nhiễm B.1.1.7 [86].

Michaelsen và CS nghiên cứu tại Đan Mạch từ 14/11/2020-07/2/2021 cho thấy chủng B.1.1.7 có khả năng lây nhiễm cao hơn 58% (KTC95%: 56 - 60%) so với các dòng (lineages) trước đó [116]. Christian và CS tại Geneva, Thụy Sĩ nghiên cứu trên 950 bệnh nhân COVID-19, cho thấy chủng Alpha liên quan đến tăng 37% (95%CI: 25 - 63%) nguy cơ lây nhiễm, trong khi đó Beta có khả năng lây nhiễm cao hơn 23% (KTC95%: 10 - 37%) so với các chủng lưu hành trước đó [18]. Nghiên cứu Rebecca Earnest và CS nghiên cứu tại New England, Hoa Kỳ cho thấy chủng Delta có khả năng lây nhiễm mạnh hơn chủng Alpha từ 63% - 167% [49].

Jonas và CS nghiên cứu tại Oslo, Thụy Điển từ tháng 01/2021-02/2021, cho thấy hệ số lây nhiễm của chủng Alpha tăng 24% (KTC95%: 0% -52%), tăng giá trị tuyệt đối của R_0 là 0,19 so với ca bệnh nhiễm biến thể khác [102]; nghiên cứu tại Nhật Bản, từ 01/12 - 20/12/2020, cho kết quả B.1.1.7 có hệ số lây nhiễm cao hơn 1,9 - 2,3 lần so với chủng vi rút lưu hành tại Nhật Bản [150]. Tại Đan Mạch, nghiên cứu của Hansen và CS cho kết quả: hệ số lây nhiễm của chủng Alpha 1,51 (KTC95%: 1,50 - 1,53) và Delta 3.28 (KTC95%: 3.01-3.58) lây nhiễm cao hơn biến thể lưu hành trước đó [68]. Tác giả Manathunga và CS, nghiên cứu trên bộ dữ liệu GISAID cho thấy hệ số lây nhiễm R_0 cao nhất của chủng Alpha (1,22) tại Nhật Bản, chủng Beta (1,19) tại Bỉ, chủng Gamma (1,21) tại Hoa Kỳ, chủng Delta (1,38) tại Pháp và Omicron (1,90) tại Nam Phi [114].

4.1.2. Một số đặc điểm lâm sàng

4.1.2.1. Khởi phát

Khi phân tích trên nhóm đối tượng mắc COVID-19, có khoảng 40% ca bệnh có triệu chứng khởi phát. Hơn 1/3 ca bệnh có triệu chứng mệt mỏi, ho, đau rát họng và sốt; các triệu chứng như đau cơ khớp, ớn lạnh, mất vị/khứu giác, triệu chứng mũi chiếm tỉ lệ từ 24%-30%; các triệu chứng khác chiếm tỉ lệ dưới 20%. Kết quả nghiên cứu phù hợp với biểu hiện lâm sàng của người mắc

COVID-19, qua kết quả một số nghiên cứu, gồm: sốt hoặc ớn lạnh, ho khan hoặc ho có đờm, hụt hơi hoặc khó thở, mệt mỏi, đau cơ hoặc đau người, đau đầu, mất vị giác hoặc khứu giác, đau rát họng, ngạt mũi hoặc chảy nước mũi, buồn nôn hoặc nôn, tiêu chảy...[77, 100, 157, 183].

4.1.2.2. Thời gian ủ bệnh

Thời gian ủ bệnh trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi là 7,6 ngày (KTC95%: 6,5-8,7) ngày, phù hợp với một số nghiên cứu về thời gian từ lúc vi rút SARS-CoV-2 xâm nhập vào cơ thể vật chủ đến khi khởi phát triệu chứng dao động từ 2-14 ngày [164]. Dài hơn thời gian ủ bệnh trong nghiên cứu của tác giả Khalili với khoảng 5,68 ngày [83], dài hơn thời gian ủ bệnh ở người Việt Nam trong những tháng đầu tiên khi dịch xâm nhập, theo kết quả nghiên cứu tác giả Bùi Văn Long và CS, vào khoảng 6,4 ngày [28]. Ngắn hơn thời gian ủ bệnh trong các nghiên cứu của Peng và CS vào tháng 3/2020 tại Trung Quốc 9,83 ngày (KTC95%: 8,74-11,93) [125] hay nghiên cứu Li và CS nghiên cứu trên 425 bệnh nhân COVID-19, tháng 2/2020 với thời gian ủ bệnh là 9,74 ngày (KTC95%: 9,3-11,2) [99].

4.1.2.3. Biểu hiện lâm sàng

Phân tích đơn biến tại Bảng 3.4 cho thấy tỉ lệ người có triệu chứng lâm sàng ở nhóm mắc COVID-19 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không mắc COVID-19 ($p < 0,05$), tuy nhiên phân tích hồi quy logistic đa biến tại Hình 3.4 xác định chỉ những người có sốt, đau cơ khớp, ho hoặc có mất vị giác/mất vị giác có liên quan đến mắc COVID-19 ($p < 0,05$).

Kết quả này phù hợp với kết quả một số nghiên cứu, như: Mahase và CS nghiên cứu trên những người nhiễm Alpha tại vùng Đông Nam nước Anh cho thấy: ho, sốt, đau cơ khớp, mệt mỏi là triệu chứng hay gặp hơn so với nhiễm các biến thể trước đó [112]; nghiên cứu của Williams và CS với các triệu chứng phổ biến gồm ho, sốt, khó thở, mệt mỏi, chán ăn, mất vị giác/khứu giác [171],

của Welmoed van Loon và CS tại Berlin, Đức với 96,4% bệnh nhân có ít nhất một triệu chứng lâm sàng, trong đó: mệt mỏi (71,5%), đau đầu (68,9%), đau cơ (60,1%), đau họng (53,9%), ho (50,8%), ớn lạnh (34,7%), mất vị/khứu giác (23,8%), khó thở (13,5%), tiêu chảy (12,4%) [156]. Nghiên cứu của Song và CS tại Trung Quốc, từ 25/12/2020 đến 17/01/2021, cho thấy sốt chiếm tỉ lệ 57,6%, ho 42,0%, đau họng 12,2%, đau đầu 3,03%, đau cơ 9,1% [146]; tác giả Koc Ibrahim và CS Nghiên cứu tại Thổ Nhĩ Kỳ, từ 5/2021 đến 11/2021, trên 205 bệnh nhân nhiễm biến thể B.1.1.7 cho kết quả: khó thở 30,7%; mệt mỏi 15%, ho 55,6%; sốt 27,3%, đau cơ 6,3% [87].

Các triệu chứng mắc COVID-19 đều nhẹ do đối tượng công nhân trẻ và khỏe mạnh, vi rút Alpha chưa phá hiện đột biến trên các vị trí làm tăng nguy cơ tiến triển nặng. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu trên thế giới cho rằng chưa có bằng chứng rõ ràng chủng Alpha làm tăng mức độ bệnh nghiêm trọng của bệnh [45]

4.1.2.4. Tiến triển, tử vong

Không có bệnh nhân COVID-19 nào trong nghiên cứu này tiến triển nặng phải điều trị tích cực; 100% ca bệnh đều khỏi và ra viện sau trung bình 25,5 ngày điều trị (KTC95%: 23,25 - 27,8 ngày).

Tiến triển ở bệnh nhân COVID-19 trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Perez Lago trên 106 bệnh nhân COVID-19 nhiễm chủng B.1.1.7 tại Marid, Tây Ban Nha với không có trường hợp nào tiến triển nặng [126], hay trong nghiên cứu của Song và CS tại Trung Quốc (25/12/2020-17/01/2021) trên 74 bệnh nhân cho thấy 100% ca bệnh có triệu chứng nhẹ và vừa [146]. Trong khi đó, Koc Ibrahim và CS nghiên cứu tại Thổ Nhĩ Kỳ, từ 5/2021 đến 11/2021, trên 205 bệnh nhân nhiễm biến thể B.1.1.7, tuổi trung bình 54 ± 13 cho kết quả: số ngày điều trị là 3 (0-35); tỉ lệ tiến triển nặng, phải điều trị ICU 24,9% [87], đối tượng nghiên cứu là người tuổi khá cao

kèm theo các bệnh lý mạn tính do đó nguy cơ tiến triển nặng cao hơn so với đối tượng công nhân trẻ có sức khỏe tốt.

Thời gian nằm viện trung bình của bệnh nhân COVID-19 nhà máy POYUN (25,5 ngày) dài hơn thời gian điều trị trong các nghiên cứu của: Malahat Khalili và CS với 18,5 ngày (KTC95%: 13,69 - 23,41) [83]; nghiên cứu của Young và SC tại Singapore tháng 3/2020, là 14,75 ngày (KTC95%: 12,4-17,14) [182], hay nghiên cứu của tác giả Ki và CS tại Hàn Quốc tháng 02/2020, thời gian hồi phục là 13 ngày (KTC95%: 12,4-13,6) [85]; phù hợp với kết quả nghiên cứu của Shi và CS tháng 02/2020 tại Trung Quốc với thời gian phục hồi trung bình ở bệnh nhân là 26,5 (KTC95%: 23,56- 29,44) ngày [140]. Thêm vào đó, thời gian nằm viện của bệnh nhân COVID-19 trong nghiên cứu của chúng tôi dài là do Bộ Y tế Việt Nam quy định người bệnh COVID-19 sau khi có kết quả RT-PCR (-) tiếp tục phải cách ly y tế 14 ngày tại bệnh viện.

4.1.3. Các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây lan vụ dịch.

Kết quả phân tích hồi quy logistic đa biến xác định các yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ mắc COVID-19 gồm: tiếp xúc người ốm, tiếp xúc ca bệnh COVID-19 nghi ngờ, tiếp xúc với công nhân khác trong quá trình làm việc, thời gian ca làm việc trên 12 giờ/ngày, khoảng cách giữa người với người khi làm việc dưới 2 mét.

*** Khoảng cách giữa người lao động**

Kết quả của chúng tôi cho thấy, những công nhân làm việc trong điều kiện không bảo đảm khoảng cách tối thiểu 2 mét với người khác có nguy cơ lây nhiễm COVID-19 cao hơn 1,6 lần. Do vi rút SARS-CoV-2 lây lan theo giọt bắn hô hấp, qua tiếp xúc gần với ca bệnh và qua đường không khí. Khoảng cách giữa người với người càng gần, kết hợp với việc sử dụng khẩu trang không đúng cách, vệ sinh tay không thường xuyên và thời gian làm việc dài (thường 8-12 giờ/ngày) sẽ làm tăng nguy cơ nhiễm bệnh. Ví dụ như vụ dịch bùng phát

trên du thuyền Diamond Princess (Nhật Bản) với 619 (16,7%) người trên du thuyền nhiễm COVID-19 [43]. Phòng gym, câu lạc bộ, đám cưới... cũng được xác định là những nơi có nguy cơ lây nhiễm cao do không bảo đảm khoảng cách giữa người với người [75].

Theo WHO và USCDC, giữ khoảng cách với người khác là một biện pháp hữu hiệu trong phòng, chống dịch COVID-19 [149]. Tổ chức Y tế thế giới đã khuyến cáo cần giữ khoảng cách tối thiểu 01 mét để tránh lây nhiễm COVID-19 [166]. Trong khi đó, CDC Hoa Kỳ khuyến cáo người dân nên giữ khoảng cách từ 1,5-2 mét với người khác, kể cả người khỏe mạnh, để giảm nguy cơ lây nhiễm. Giữ khoảng cách tối thiểu 01 mét với người xung quanh là một biện pháp được áp dụng rất sớm để hạn chế sự lây lan của dịch bệnh ở nhiều nước như: Trung Quốc, Đan Mạch, Hồng Kông, Singapore. Một số quốc gia như Australia, Bỉ, Hy Lạp, Đức, Tây Ban Nha... khuyến cáo người dân nên giữ khoảng cách tối thiểu 1,5 mét với người khác để phòng ngừa lây nhiễm [81].

* Tiếp xúc người có nguy cơ, tham gia sự kiện đông người

Phân tích hồi quy đa biến cho thấy những người thường xuyên giao tiếp, tiếp xúc với công nhân khác tăng nguy cơ lây nhiễm 1,8 lần ; người có tiền sử chăm sóc người ốm, tiếp xúc ca bệnh nghi ngờ có nguy cơ mắc COVID-19 cao hơn gần 2 lần so với những người không tiếp xúc ($p < 0,05$).

Ngoài ra, sử dụng xe đưa đón của nhà máy, tham gia các sự kiện đông người được xác định là những yếu tố làm tăng nguy cơ lây nhiễm trong phân tích hồi quy đơn biến, tuy nhiên sau khi đưa vào mô hình đa biến, sự khác biệt về nguy cơ không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Tác giả Whaley và CS nghiên cứu về tỉ lệ lây nhiễm của COVID-19 tại các sự kiện tập trung đông người cho kết quả: tỉ lệ đối tượng (+) với SARS-CoV-2 sau 2 tuần ở những gia đình có tiệc sinh nhật thường cao hơn những gia đình không tổ chức [162]. Các du thuyền cũng là một địa điểm dễ xảy ra tình

trạng siêu lây nhiễm COVID-19 (Diamond Princess từ Nhật Bản với 619 (16,7%) người trên du thuyền nhiễm COVID-19) [43]. Tác giả Hongoh và CS chỉ ra rằng các sự kiện trong và ngoài trời như phòng gym, câu lạc bộ, đám cưới...cũng là những nơi có nguy cơ lây nhiễm cao [75]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, những công nhân tham gia các sự kiện đông người (OR: 1,6; KTC95%: 1,12 - 2,4) có nguy cơ mắc COVID-19 cao hơn 1,6 lần so với những người không có đặc điểm này.

Trong nghiên cứu này, khoảng 40% ca bệnh COVID-19 có triệu chứng khởi phát (60% không có triệu chứng khởi phát), và 20 (2,3%) đối tượng từng nhiễm SARS-CoV-2 nhưng không được ghi nhận là ca bệnh COVID-19; rõ ràng đây là yếu tố làm tăng nguy cơ lây lan dịch bệnh. Nghiên cứu của Ma và CS phát hiện 40,5% số ca bệnh COVID-19 không biểu hiện bất kỳ triệu chứng lâm sàng nào; tác giả cũng khẳng định khoảng cách gần và người nhiễm không triệu chứng là nguyên nhân chính khiến dịch bệnh bùng phát [43].

Một số nghiên cứu về nguy cơ tại nơi sản xuất cho kết quả tương tự với nghiên cứu của chúng tôi: các yếu tố như không gian lao động chật hẹp, thiếu trang thiết bị bảo hộ, không được xét nghiệm SARS-CoV-2 là những yếu tố làm tăng nguy cơ nhiễm COVID-19; công nhân thường phải sử dụng phương tiện giao thông công cộng, sống chung với nhiều công nhân khác cũng là yếu tố nguy cơ làm tăng tỉ lệ nhiễm bệnh [48, 54, 89, 133].

* Thời gian ca làm việc:

Theo kết quả một nghiên cứu tại Hàn Quốc được công bố vào tháng 6/2021, nếu một người làm việc trong phòng có thể tích dưới 20 m³ và có mầm bệnh SARS-CoV-2, thời gian để nhiễm vi rút là dưới 1 giờ. Khi thể tích/diện tích phòng làm việc tăng lên, thời gian để sự lây nhiễm có thể xảy ra cũng sẽ tăng lên [95]. Thời gian cần thiết để một người có thể bị nhiễm SARS-CoV-2 khi có tiếp xúc gần là trên 15 phút, theo Bộ Y tế Việt Nam: “Người đeo khẩu

trang có tiếp xúc, giao tiếp trong vòng 2 mét hoặc trong cùng không gian hẹp, kín và tối thiểu trong thời gian 15 phút với F0 (ca bệnh) khi đang trong thời kỳ lây truyền của F0” [2].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, những người làm việc trên 12 giờ/ngày có nguy cơ lây nhiễm COVID-19 cao hơn so với những người làm việc dưới 12 giờ/ngày. Theo chúng tôi nhận định, thời gian ca làm việc kéo dài trên 12 giờ sẽ làm tăng tiếp xúc gần giữa các công nhân qua nói chuyện, ăn uống; rất khó đảm bảo nguyên tắc giữ khoảng cách giữa người với người trong quá trình sản xuất...trong khi môi trường lao động đang có mầm bệnh SARS-CoV-2. Ngoài ra, gần 60% ca bệnh COVID-19 là công nhân không có triệu chứng khởi phát và 20 (2,3%) đối tượng từng nhiễm SARS-CoV-2 nhưng không được ghi nhận là ca bệnh COVID-19. Những yếu tố này kết hợp với thời gian phơi nhiễm kéo dài sẽ tất yếu dẫn tới tăng nguy cơ lây nhiễm mầm bệnh.

* Vai trò của đeo khẩu trang

Sử dụng khẩu trang là một biện pháp hiệu quả để hạn chế, ngăn chặn sự lây lan của vi rút qua giọt bắn hô hấp. COVID-19 và bệnh lây qua đường hô hấp như Cúm được kiểm soát hiệu quả bằng việc sử dụng khẩu trang ở một số quốc gia Nam Á [41]. Nghiên cứu của tác giả Wang và CS cho thấy việc sử dụng khẩu trang làm giảm 79% nguy cơ lây lan mầm bệnh [160].

Nghiên cứu của Maged và CS chỉ ra việc đeo khẩu trang làm giảm 49% hệ số lây nhiễm của vi rút SARS-CoV-2 trong cộng đồng hoặc làm giảm tối thiểu 45% số ca mắc tại Hoa Kỳ và một số quốc gia Châu Âu [109].

Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự liên quan giữa việc đeo hay không đeo khẩu trang với nguy cơ nhiễm COVID-19. Chúng tôi nhận định do đây là vụ dịch trong khu công nghiệp, số lượng công nhân rất đông, thời gian ca sản xuất thường kéo dài từ 8-12 giờ, trong bối cảnh công nhân

thường xuyên tiếp xúc, nói chuyện khi lao động hoặc khi ăn uống...nên có thể đã làm mất vai trò ngăn chặn mầm bệnh của khẩu trang.

* Hiệu quả của các biện pháp can thiệp

Ngay sau khi phát hiện ổ dịch COVID-19 tại Nhà máy POYUN, Chí Linh, Hải Dương vào ngày 27/01/2020, các biện pháp tổng hợp gồm: chỉ đạo điều hành, phong tỏa và giãn cách xã hội, các biện pháp y tế, sàng lọc, xét nghiệm diện rộng đã được triển khai quyết liệt, đồng bộ nên đã làm giảm hệ số lây nhiễm R_0 từ 3,5 ở giai đoạn đầu (25/01-28/01/2021) xuống gần 1 (giai đoạn từ ngày 29/01) và tiến tới khống chế thành công vụ dịch.

Sau khi nhận được thông tin ca mắc COVID-19 từ phía Nhật Bản vào ngày 25/01/2021, Chính phủ, Ban Chỉ đạo Quốc gia phòng, chống dịch COVID-19 và các Ban Chỉ đạo phòng, chống dịch tỉnh Hải Dương, Thành phố Chí Linh đã quyết liệt chỉ đạo công tác phòng, chống dịch tại địa phương [7].

Chính quyền, ngành y tế thành phố Chí Linh đã phong tỏa ngay nhà máy POYUN từ ngày 27/01/2020. Phối hợp với đoàn công tác của Bộ Y tế và nhân viên y tế của các đơn vị bạn triển khai ngay hoạt động truy vết, xét nghiệm [7].

Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương được điều động hỗ trợ tỉnh Hải Dương thiết lập hệ thống điều trị tại địa phương (Trung tâm Y tế Chí Linh, Bệnh viện dã chiến truyền nhiễm) để điều trị bệnh nhân COVID-19 nhẹ và vừa; những trường hợp nặng được chuyển đến Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương cơ sở 2 tại Hà Nội. Các trường hợp tiếp xúc gần với bệnh nhân COVID-19 tiếp tục được giữ lại cách ly y tế tại nhà máy POYUN. Về công tác xét nghiệm, trong đêm 27/01/2021 và sáng 28/01/2021, toàn bộ công nhân nhà máy POYUN được lấy mẫu xét nghiệm. Việc xét nghiệm đã giúp nhanh chóng bóc tách các trường hợp COVID-19 khỏi quần thể công nhân, hạn chế nguy cơ lây lan dịch bệnh. Ngoài ra, các xét nghiệm đã hỗ trợ tích cực trong điều trị, theo dõi tiến triển của bệnh nhân [9].

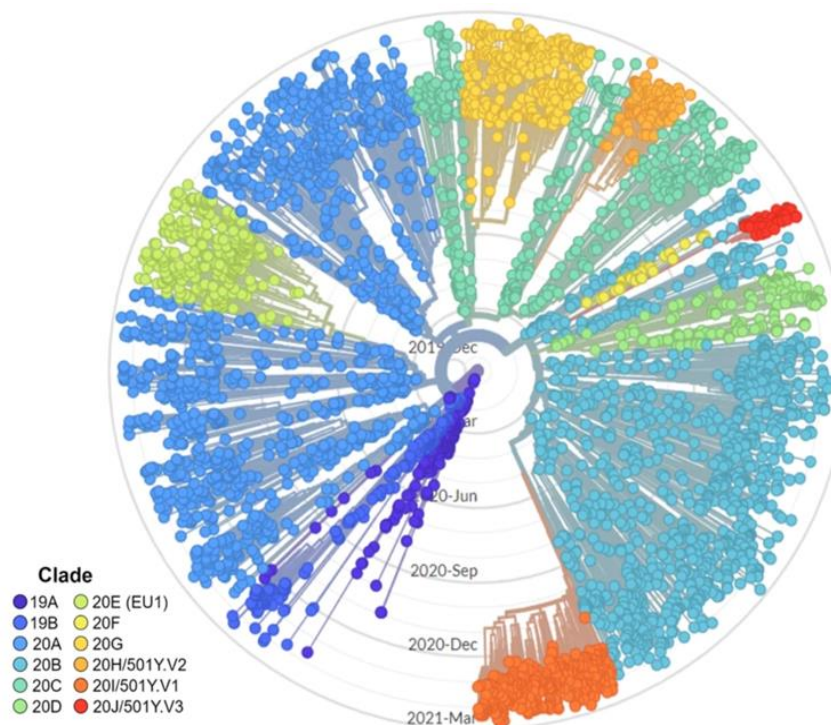
Chính nhờ những biện pháp đồng bộ, quyết liệt nêu trên, vụ dịch tại nhà máy POYUN đã được kiểm soát hoàn toàn. Đến ngày 15/3/2021 công nhân của nhà máy đã quay trở lại để sản xuất.

Tuy nhiên, điểm hạn chế của y tế nhà máy POYUN là chậm phát hiện người có triệu chứng nghi ngờ COVID-19; nếu xét nghiệm SARS-CoV-2 cho trường hợp có triệu chứng vào ngày 15/01/2021 đã có thể phát hiện được trường hợp nhiễm bệnh đầu tiên và triển khai ngay các biện pháp ứng phó sẽ làm giảm quy mô của vụ dịch. Ngoài ra, năng lực xét nghiệm của y tế Thành phố Chí Linh, của CDC Hải Dương là nội dung cần được quan tâm cải thiện để có thể ứng phó hiệu quả, kịp thời với các tình huống dịch bệnh truyền nhiễm khác trong tương lai.

4.2. Đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại nhà máy POYUN

4.2.1. Đặc điểm sinh học phân tử của vi rút gây vụ dịch

4.2.1.1. Các vi rút SARS-CoV-2 lưu hành tại thời điểm nghiên cứu



Hình 4.1. Cây gia hệ các chủng SARS-CoV-2 lưu hành trên thế giới tính đến tháng 3/2021 (Nguồn: Singh và CS [144])

Vi rút SARS-CoV-2 lưu hành tại Việt Nam có sự tương đồng với các vi rút SARS-CoV-2 trên thế giới tại cùng thời điểm. Từ khi xuất hiện lần đầu vào tháng 12/2019 tại Vũ Hán (Trung Quốc), vi rút SARS-CoV-2 đã liên tục biến đổi về mặt di truyền dẫn đến sự thay đổi về đặc tính vi rút như tăng khả năng lây nhiễm, tăng độc lực và giảm hiệu quả của vắc xin phòng bệnh. Quá trình tiến hoá thông qua đột biến trên hệ gen của vi rút đã phân chia SARS-CoV-2 thành những clade khác nhau.

Bảng 4.2. Một số chủng vi rút SARS-CoV-2 lưu hành tại Việt Nam tính đến tháng 3/2021 (Nguồn: Viện VSDTTU).

| Clade | | | Nguồn | | Số mẫu | Thời điểm phát hiện | Địa điểm phát hiện |
|-------------|--------|-----------|-----------|------------|--------|--------------------------|--|
| Nextstrains | GISAID | PANGO | Nhập cảnh | Trong nước | | | |
| 19A | L | B | 19 | 2 | 21 | 01-02/2020 | Vĩnh Phúc, Hà Nội (01/2020) |
| 19B | S | A | 1 | 0 | 1 | 7/2020 | |
| 20A | G | B.1 | 23 | 0 | 23 | 5-7;12/2020 | |
| 20B | GR | B1.1 | 79 | 28 | 107 | 5-8/2020 và 12/2020 | Bạch Mai/Hà Nội (5/2020), Đà Nẵng (8/2020) |
| 20C | GH | B.1.X | 9 | 2 | 11 | 5;6;7;12/2020 và 02/2021 | Hà Nội (02/2021) |
| 20D | GR | B1.1 | 2 | 0 | 2 | 5;7/2020 | |
| 20E (EU1) | GV | B.1.177 | 4 | 0 | 4 | 12/2020 | |
| 20H/501Y.V2 | GH | B.1.1.351 | 4 | 1 | 5 | 01/2021 | Hải Dương (01/2021) |
| 20I/501Y.V1 | GR | B.1.1.7 | 0 | 48 | 48 | 01-3/2021 | Hải Dương, Quảng Ninh (01/2021) |

Trong giai đoạn từ tháng 12/2019 đến tháng 3/2021 tổng số 12 clade của vi rút SARS-CoV-2 được ghi nhận theo phân loại Nextstrain (Hình 4.1); sự nổi

trội của các clade cũng thay đổi theo thời gian và tại các khu vực khác nhau trên phạm vi toàn cầu.

Đồng hành cùng với sự phân tách thành các clade khác nhau của vi rút SARS-CoV-2, các đột biến nucleotid và sự thay đổi các acid amin trên protein gai của vi rút SARS-CoV-2 đã tạo ra các biến thể khác nhau. Các biến thể được ghi nhận đến tháng 3/2021 bao gồm: D614G, L452R, N501Y(Alpha), và N501T [144].

Tại Việt Nam, từ trường hợp nhiễm vi rút SARS-CoV-2 ghi nhận đầu tiên vào 23/01/2020. Đến thời điểm nghiên cứu thực hiện vào ngày 27/01/2021, tổng số 9 clade được ghi nhận tại miền Bắc Việt Nam, trong đó 5 clade được xác định tại các bùng phát dịch tại cộng đồng (Bảng 4.2).

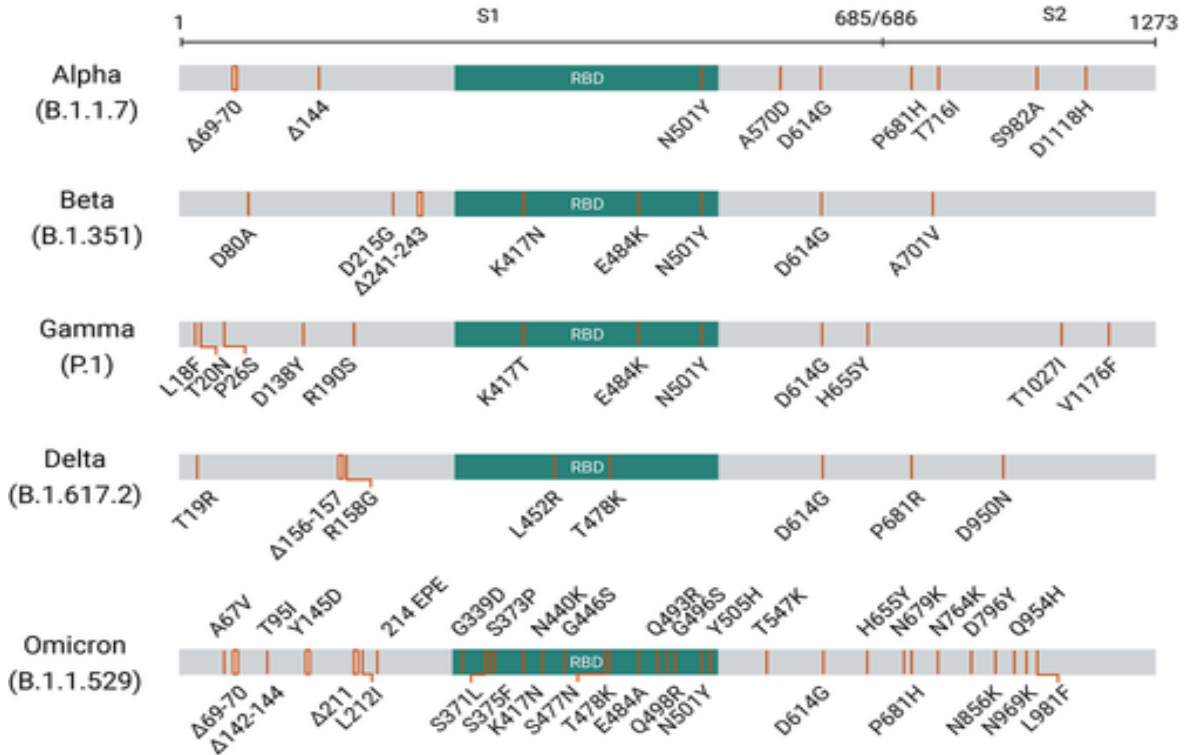
4.2.1.2. Phân tích đột biến gen của biến thể Alpha tại vụ dịch POYUN

Qua phân tích di truyền học và cây gia hệ của chủng SARS-CoV-2 trong vụ dịch công ty POYUN tại Hải Dương trên 23 mẫu cho thấy chủng vi rút thuộc biến thể Alpha (B.1.1.7) - clade 20I/501Y.V1.

Kết quả giải trình tự gen cho thấy vi rút SARS-CoV-2 ở ổ dịch POYUN có 9 đột biến nucleotide và 6 đột biến tại 06 acid amin chỉ điểm. Có sự tách biệt rõ ràng giữa nhóm lưu hành tại vụ dịch tại Đà Nẵng với dạng di truyền là đột biến tại acid amin chỉ điểm ORF1b: K1383R, trong khi đột biến acid amin ở chủng gây dịch ở Hải Dương là: ORF1a:M2259I, M: E12D, ORF7a: T39I, S: H69-, V70-, Y144-. Điều này đưa ra chỉ dấu về nguồn gốc của hai vụ dịch là hoàn toàn khác nhau và không có sự lây lan trong cộng đồng từ vụ dịch Đà Nẵng ra Hải Dương.

Biến chủng Alpha gây dịch tại nhà máy POYUN cũng là biến thể được ghi nhận tại các vụ dịch Quảng Ninh, Hà Nam, Đà Nẵng trong giai đoạn tháng 02/2021 đến tháng 5/2021. Thời điểm ghi nhận sự lưu hành biến thể Alpha tại

Việt Nam phù hợp với sự nổi trội của biến thể này trên toàn cầu. Cây gia hệ cũng ghi nhận sự phân tách theo địa phương gây dịch của biến thể Alpha, kết quả trên gợi ý sự tiến hoá nhanh của biến thể này, đồng thời cho phép xác định sự thâm nhập hoặc nguồn gốc của vi rút gây bệnh tại các bùng phát dịch mới.



Hình 4.2. Đột biến trên protein S của các biến thể SARS-CoV-2

(Nguồn: Xuemei He và CS [72])

Khi nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành, biến thể Alpha (B.1.1.7) đã xuất hiện tại Anh vào tháng 12/2020 với đột biến tại RBD chưa từng được ghi nhận trước đây; biến thể Alpha nhanh chóng thay thế các chủng lưu hành tại Anh và nhanh chóng lan ra nhiều nước trên thế giới. Tổng cộng có 23 đột biến gen ở chủng B.1.1.7 trong đó, 14 đột biến làm thay đổi protein (T1001I, I2230T, A1708D trên ORF1ab; Q27stop, Y73C, R52I trên ORF8; N501Y, P681H, A570D, T716I, D1118H, S982A trên protein gai (S); và S235F, D3L trên protein N; và 4 đột biến mất đoạn: Y144del và H69/V70del trên protein gai, và SGF 3675-3677del trên ORF1ab. Các đột biến câm (không thay đổi

protien) gồm: T26801C trên protein M; C14676T, C5986T, C913T, T16176C và C15279T trên gen ORF1ab [16]. Trong số các đột biến gen, có 10 đột biến đặc trưng trên protein gai (S), gồm: HV69-70del, Y144del, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H [124].

Các đột biến trên protein S liên quan đến việc bám dính và xâm nhập của vi rút vào tế bào vật chủ [45]. Ít nhất 3 đột biến ảnh hưởng đến chức năng của vi rút, bao gồm N501Y, P681H, và Δ H69/ Δ V70. Đột biến N501Y trên RBD làm tăng ái lực của vi rút với thụ thể ACE2 của người [147], trong khi đột biến P681H làm tăng khả năng xâm nhập, lây lan của vi rút B.1.1.7 [108]; mất đoạn acid amin Δ H69/ Δ V70 trên protein gai liên quan đến khả năng lẩn tránh miễn dịch của vi rút, đồng thời ảnh hưởng đến khả năng phát hiện protein gai vi rút của một số test kit thương mại [121], hoặc làm giảm hiệu quả ngăn chặn sự lây lan của B.1.1.7 của vắc xin BNT162b2 [78].

Nghiên cứu của Sarder R và CS (2020) về sự đa dạng về đột biến theo khu vực địa lý của SARS-CoV-2, tại Ý, Ấn Độ, Trung Quốc, Hoa Kỳ và Nepal, cho thấy: đột biến gen của vi rút SARS-CoV-2 tại Ấn Độ chủ yếu tại các vị trí protein NSP2, ORF1ab, NSP3, ORF8 và glycoprotein gai; trong đó đột biến A930V (24351C > T) trên protein S chỉ phát hiện tại Ấn Độ mà không gặp ở các khu vực khác. Tại Italia, số lượng lớn ca tử vong liên quan đến các đột biến ORF1ab, ORF3a, ORF1a, NSP6 [136].

Trong số những đột biến gen của vi rút gây dịch tại Hải Dương, có 3 đột biến H69-, V70-, Y144- đã được ghi nhận tại những nghiên cứu/báo cáo trước đây và được coi như đột biến chỉ điểm cho biến thể Alpha [16]; các đột biến này được phát hiện trong nghiên cứu của Xuemei He và CS tại Trung Quốc [72], hay trong nghiên cứu của tác giả Nicole L. Washington tại Mỹ cho thấy chủng SARS-CoV-2 (B.1.1.7) tại quốc gia này có các chỉ điểm đột biến gen đã

được mô tả trước đây gồm: H69-, V70-, Y144-, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A và D1118H [161].

Theo nhận định của chúng tôi, những đột biến mất đoạn trên protein S: H69-, V70- ở chủng Alpha gây dịch COVID-19 tại POYUN có thể là nguyên nhân gây ra tình trạng 20 trường hợp nhiễm SARS-CoV-2 không được phát hiện hay tình trạng xét nghiệm ELISA lần 2 không phát hiện được kháng thể IgG trong huyết thanh của bệnh nhân COVID-19. Nguyên nhân do những đột biến gen này có liên quan đến khả năng lẫn trốn miễn dịch của vi rút SARS-CoV-2 hoặc ảnh hưởng đến khả năng phát hiện protein S của một số test thương mại đã được bàn luận ở trên.

Ngoài những đột biến chỉ điểm đã được ghi nhận trước đây trên thế giới, trong nghiên cứu này chúng tôi còn phát hiện thêm các đột biến acid amin như ORF1a: M2259I, M: E12D, ORF7a: T39I; điều này cho thấy tính đa dạng về mặt di truyền học của các chủng vi rút lưu hành tại nhà máy POYUN, tỉnh Hải Dương trong vụ dịch 2021.

4.2.2. Đặc điểm đáp ứng kháng thể IgG ở quần thể công nhân POYUN

4.2.2.1. Tỷ lệ có đáp ứng kháng thể ở lần xét nghiệm thứ nhất.

Tại lần xét nghiệm thứ nhất ngày 27/01/2021, khi vụ dịch bùng phát, chỉ có 06 trường hợp có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 trong huyết thanh được ghi nhận ở 5 khu vực sản xuất, trong đó có 02 công nhân ở xưởng Cắt. Tuy không có nhiều giá trị về mặt thống kê nhưng việc phát hiện những người có kháng thể IgG ở nhiều bộ phận cho thấy sự lây nhiễm SARS-CoV-2 tại nhà máy POYUN đã xảy ra từ trước đó. Cùng với việc ghi nhận 35 ca bệnh COVID-19 (xét nghiệm SARS-CoV-2 dương tính bằng realtime PCR) trong ngày 27/01/2021 và do thời gian có đáp ứng kháng thể IgG sau khi nhiễm SARS-

CoV-2 là từ 1-3 tuần, có thể nhận định vụ dịch đã khởi phát tại POYUN khoảng 2-3 tuần trước đó.

Kết hợp với kết quả ở Hình 3.2, chúng tôi nhận thấy có sự phù hợp về việc xuất hiện triệu chứng lâm sàng với đáp ứng kháng thể IgG trong huyết thanh ở lần xét nghiệm đầu tiên. Đối tượng đầu tiên có triệu chứng nghi ngờ mắc COVID-19 được ghi nhận vào ngày 15/01/2021, ngày 17/01/2021 có thêm 01 công nhân làm việc tại phòng Cắt xuất hiện triệu chứng sốt; cũng trong ngày 17/01/2021, ca bệnh chỉ điểm (là công nhân từng làm tại phòng Cắt, nhà máy POYUN) đã nghỉ việc và nhập cảnh Nhật Bản, được phát hiện (+) với SARS-CoV-2 bằng kỹ thuật RT-PCR và được thông báo về đầu mối IHR Việt Nam. Ngày 15/01/2021 có thể được coi là thời điểm bắt đầu xuất hiện ca bệnh COVID-19 đầu tiên ở nhà máy POYUN.

4.2.2.2. Tỷ lệ có đáp ứng kháng thể ở lần xét nghiệm thứ 2

Lần xét nghiệm ELISA thứ 2 phát hiện 10,9% (KTC95%: 8,9-12,8%) đối tượng nghiên cứu có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 trong huyết thanh, trong đó: Tỷ lệ kháng thể IgG dương tính ở nam giới (12,3%) cao hơn nữ giới (10,5%). Đối tượng công nhân nói chung (Bảng 3.14) và người mắc COVID-19 (Bảng 3.18) thuộc nhóm tuổi từ 31-35 tuổi có tỷ lệ IgG dương tính cao hơn các nhóm tuổi khác, phù hợp với tỉ suất tấn công cao hơn của COVID-19 ở nhóm tuổi này. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng nam giới có nguy cơ dương tính với IgG cao hơn 1,47 lần so với nữ giới [117]; nghiên cứu tại Brazil cũng cho thấy nam giới có tỷ lệ kháng thể IgG dương tính cao hơn nữ giới [94].

Liên quan đến vị trí làm việc trong nhà máy, công nhân làm việc tại phòng Cắt có tỷ lệ dương tính với IgG cao nhất (64%), tiếp theo đó là tại phòng QA-QC, xưởng B và phòng Bobbin. Điều này phù hợp với việc phát hiện ca bệnh chỉ điểm và tỉ suất tấn công rất cao của COVID-19 tại xưởng Cắt.

Kết quả của chúng tôi cao hơn kết quả một số nghiên cứu khác như: nghiên cứu từ tháng 4-9/2020 trên 2.766 người dân sống tại Geneva, Thụy Sĩ phát hiện tỷ lệ người có kháng thể IgG trong huyết thanh là 4,8% [148]; nghiên cứu trong tháng 4/2020 trên 3.328 người dân tại California (Hoa Kỳ) với tỉ lệ IgG (+) là 1,5% (KTC95%: 1,1 - 2,0%) [24]; nghiên cứu của Phạm Ngọc Thạch từ 9/2020-11/2020 trên 3.049 đối tượng là người dân sống ở những khu vực có nguy cơ lây nhiễm cao và 149 nhân viên y tế một số bệnh viện tại Đà Nẵng, với 0,4% đối tượng có IgG (+) [71]; nghiên cứu tại TP. Hồ Chí Minh, từ ngày 27/8-07/11/2020, với 0,2% đối tượng có kháng thể IgG [120]; cao hơn kết quả nghiên cứu tại 02 xã thuộc Hải Dương và Quảng Ninh với 0,3% người dân có kháng thể kháng SARS-CoV-2 nhưng không có tiền sử mắc COVID-19 và 2,0% người phục vụ cách ly tập trung có kháng thể kháng SARS-CoV-2 [71]. Theo chúng tôi nhận định, do các nghiên cứu khác triển khai ở cộng đồng dân cư hoặc tại các khu vực dịch bệnh chưa bùng phát mạnh, nguy cơ lây nhiễm thấp dẫn tới tỉ lệ đáp ứng kháng thể IgG thấp; trong khi nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện trên đối tượng làm việc trong môi trường ổ dịch COVID-19 nên tỉ lệ đối tượng có đáp ứng kháng thể IgG cao hơn.

Kết quả nghiên cứu này thấp hơn kết quả nghiên cứu tại tỉnh Guilan (Iran) ở cộng đồng dân cư, tiến hành vào tháng 4/2020, với 22% đối tượng có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 [137], thấp hơn kết quả nghiên cứu của Hoàng Văn Thuận và CS, từ tháng 9-11/2021 với 26,7% người dân chưa được tiêm vắc xin phòng COVID-19 có kháng thể IgG (+) [74]. Điều này có thể được hiểu là do dịch bệnh bùng phát mạnh trong cộng đồng nơi các nghiên cứu trên triển khai dẫn tới tỉ lệ người bị nhiễm SARS-CoV-2 tăng cao (tỉ lệ có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 tăng lên đáng kể) hoặc nghiên cứu tiến hành trên đối tượng đã được tiêm vắc xin phòng COVID-19 (đối tượng có kháng thể IgG do tiêm vắc xin).

Xét nghiệm ELISA nhóm mắc COVID-19 cho thấy tỉ lệ có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 vào khoảng 65%; trong khi đó, ở nhóm có kết quả xét nghiệm SARS-CoV-2 âm tính bằng RT-PCR, tỉ lệ IgG (+) là 2,3% (20 trường hợp). Lí giải cho hiện tượng này, chúng tôi nhận định một số đối tượng nhiễm COVID-19 không/chưa có đáp ứng kháng thể IgG hoặc có kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 nhưng thời gian tồn lưu trong huyết thanh ngắn nên IgG (-) tại thời điểm xét nghiệm huyết thanh học.

Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm công nhân làm việc trong điều kiện khoảng cách dưới 2 mét với người khác, người thường xuyên tiếp xúc với công nhân khác, người sử dụng xe đưa đón của nhà máy (21,1%), có tham gia các sự kiện tập trung đông người (18,5%), thường xuyên tiếp xúc giao tiếp với đồng nghiệp (16,2%), nhóm tiếp xúc người ốm (17%), tiếp xúc ca COVID-19 nghi ngờ (13,7%) có tỉ lệ kháng thể IgG dương tính cao hơn so với các nhóm còn lại ($p < 0,05$). Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu khác về yếu tố liên quan đến tình trạng đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 như:

Ghose và CS phát hiện người sống trong những khu ổ chuột đông đúc tại Ấn Độ có tỉ lệ kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 dương tính cao hơn [62]; số lượng thành viên trong gia đình đông hơn là một yếu tố nguy cơ làm tăng khả năng xét nghiệm IgG huyết thanh dương tính với tỉ suất chênh cho mỗi thành viên thêm trong gia đình là 1,25 (KTC95%: 0,96 - 1,62) [60]. Nghiên cứu của Nishant Kumar và cộng sự tại Ấn Độ cũng đã chỉ ra các đối tượng nghiên cứu sống cùng nhà với người mắc COVID-19 có tỷ lệ IgG huyết thanh dương tính cao hơn (18,9% so với 10,3%) người không có đặc điểm này [90]. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, người đã kết hôn hoặc sống cùng người khác, người thường xuyên tiếp xúc gần với người khác như ăn uống, nói chuyện, tham gia các sự kiện tập trung đông người có nguy cơ lây nhiễm cao hơn những đối tượng còn lại.

Kết quả xét nghiệm ELISA lần 2 trên 1.004 công nhân phù hợp với kết quả xác định tỉ suất tấn công và xác định các yếu tố làm tăng nguy cơ lây lan của vụ dịch đã phân tích tại Bảng 3.9 (thời gian làm việc kéo dài, không bảo đảm khoảng cách, tiếp xúc ca bệnh nghi ngờ...). Điều đó cho thấy, yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ mắc COVID-19 cũng liên quan đến tăng tỉ lệ phát hiện kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 trong huyết thanh.

Ngoài ra, khi phân tích trên 137 người mắc COVID-19 xác định bằng xét nghiệm SARS-CoV-2 (+) tại Bảng 3.17, chúng tôi thấy tỉ lệ IgG (+) ở những bệnh nhân COVID-19 có triệu chứng khởi phát (77,4%), có sốt (82,4%), ớn lạnh (85,7%), đau cơ/đau khớp (84,8%) và có mất khứu giác (96,1%) cao hơn tỉ lệ IgG (+) ở những bệnh nhân không có những triệu chứng này, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả này phù hợp với phát hiện của một số nghiên cứu trên thế giới:

Nghiên cứu tại Pháp của tác giả Fontanet và CS với phát hiện bệnh nhân mắc COVID-19 nếu xuất hiện các triệu chứng nặng, rầm rộ có khả năng IgG dương tính trong huyết thanh cao hơn những người có triệu chứng nhẹ hoặc không triệu chứng; trong đó, mất khứu giác được đánh giá là có giá trị tiên đoán dương tính cao đối với nhiễm SARS-CoV-2 [58].

Nghiên cứu tại Tây Ban Nha tháng 04/2020 cho thấy tỷ lệ có kháng thể IgG dương tính cao hơn ở những có triệu chứng của nhiễm SARS-CoV-2 (OR=8,84; KTC95%: 4,41-17,73), trong đó: mất khứu giác (OR=83,0; KTC95%: 29,6-232,9); sốt (OR=11,4; KTC95%: 6,0-31,3) và mệt mỏi (OR=11,2; KTC95%: 6,1-20,7) [60].

Nghiên cứu tại Israel vào tháng 04/2020 cho thấy tỉ lệ IgG dương tính trong huyết thanh tăng lên ở bệnh nhân có triệu chứng sốt (OR=5,13; KTC95%: 1,53-17,45), gai rét (OR=6,82; KTC95%: 1,60-29,08) [82].

Nghiên cứu tại Thái Lan, từ tháng 3-5/2020, trên 531 bệnh nhân COVID-19 sau thời gian mắc bệnh 6 tháng cho thấy tỉ lệ IgG (+) ở bệnh nhân có triệu chứng của viêm phổi (62,3%) cao hơn ở những bệnh nhân không viêm phổi hoặc không có triệu chứng (32,4%) [32]. Nghiên cứu tại Iran, từ tháng 2/2021-2/2022, trên 206 bệnh nhân COVID-19 [122]; nghiên cứu tại Bệnh viện đại học Leuven và Bệnh viện đại học Ghent, Bỉ, trên 236 bệnh nhân COVID-19 [155], đều cho thấy bệnh nhân COVID-19 nặng có tỉ lệ IgG (+) cao hơn ở những bệnh nhân mức độ trung bình hoặc nhẹ.

Từ những bàn luận nêu trên có thể đưa ra nhận định: những bệnh nhân COVID-19 mức độ nặng hoặc có triệu chứng lâm sàng có tỉ lệ kháng thể IgG (+) cao hơn so với bệnh nhân nhẹ hoặc bệnh nhân không triệu chứng.

4.2.2.3. Thời gian có đáp ứng kháng thể IgG

Kết quả nghiên cứu tại Bảng 3.18 cho thấy tỉ lệ có đáp ứng kháng thể IgG kháng vi rút SARS-CoV-2 tăng dần theo thời gian sau nhiễm, đạt 65,5% tại nhóm có thời gian nhiễm >45 ngày; trong khi tại nhóm nhiễm có thời gian <27 ngày có tỉ lệ phát hiện thấp nhất.

Nghiên cứu tại New York của Lyle R và CS, trên 2,547 bệnh nhân COVID-19, cho thấy khoảng 6,3% bệnh nhân COVID-19 không phát hiện kháng thể trong huyết thanh. Tác giả lí giải có thể do các nguyên nhân: mức độ nặng của bệnh, chủng tộc, tình trạng béo phì (tỉ lệ âm tính 3,9%) và việc sử dụng thuốc ức chế miễn dịch (tỉ lệ âm tính lên tới 31,9%). Tỉ lệ không có kháng thể IgG vẫn duy trì sau 90 tính từ ngày khởi phát. Trong số những người có triệu chứng, tỉ lệ âm tính IgG tăng nhẹ từ ngày 14 đến ngày 90 sau khi khởi phát ($p=0,06$); tỉ lệ IgG (-) là 11,0% ở nhóm bệnh nhân không có triệu chứng; người sử dụng thuốc ức chế miễn dịch (IgG âm tính là 31,9%) [127]. Nghiên cứu tại Trung Quốc năm 2020 cho thấy 45/58 (83,3%) bệnh nhân COVID-19 có kháng thể IgG từ ngày thứ 10 và đạt đỉnh vào ngày thứ 49 [57].

Nghiên cứu ở Ấn Độ xác định 1,1% đối tượng có kháng thể IgG (+). Trong những người trước đó được xét nghiệm (+) SARS-CoV-2 bằng RT-PCR, có tới 71% trường hợp có kết quả âm tính với IgG. Đến ngày thứ 28 sau mắc bệnh, 90% đối tượng có kết quả xét nghiệm IgG dương tính; con số này giảm xuống còn 38,5% trong khoảng thời gian từ ngày 29 - 42 và giảm xuống dưới 15% sau 43 - 49 ngày. Không có nhân viên y tế nào mắc COVID-19 trên 50 ngày cho kết quả IgG dương tính trong huyết thanh [86].

Một nghiên cứu tại Thái Lan, tiến hành từ tháng 3-5/2020 trên 531 bệnh nhân COVID-19, cho thấy tỉ lệ bệnh nhân có IgG (+) trong huyết thanh sau mắc bệnh 6 tháng là 32,4% (ở bệnh nhân không viêm phổi/không triệu chứng) và 62,3% (ở bệnh nhân có viêm phổi); tỉ lệ IgG (+) sau mắc bệnh 9 tháng là 19,6% ở nhóm không viêm phổi và 36,7% ở nhóm có viêm phổi [32].

Nghiên cứu tại Iran, từ tháng 02/2021-2/2022, trên 206 bệnh nhân COVID-19 phát hiện tỉ lệ IgG (+) ở các thời điểm sau mắc bệnh 2, 4, 6, 8 tháng lần lượt là 80,8%, 69,1%, 43,2% và 41,8%, ($p < 0.05$) [122].

Nghiên cứu tại Bỉ cho thấy nồng độ IgG trong huyết thanh bệnh nhân COVID-19 giảm dần sau 2-8 tháng mắc bệnh; và có khoảng 70,6% bệnh nhân vẫn phát hiện được kháng thể IgG (+) trong huyết thanh sau 8 tháng mắc bệnh [150].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 34,5% người bệnh COVID-19 không phát hiện được kháng thể IgG trong huyết thanh chỉ sau khoảng 45-57 ngày (tức 1,5 - 2 tháng) mắc bệnh; điều đó cho thấy chủng Alpha (B.1.1.7) tạo đáp ứng miễn dịch khá ngắn ở công nhân mắc COVID-19.

Tuy nhiên, do chúng tôi chỉ thực hiện xét nghiệm ELISA được 2 lần nên chưa thể đánh giá chính xác nhất tình trạng có đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 ở công nhân theo thời gian; vì vậy cần có những nghiên cứu huyết thanh học chuyên sâu, với nhiều lát cắt để có bức tranh cụ thể về tình trạng đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2.

4.2.2.4. Giá trị của xét nghiệm kháng thể IgG trong phòng chống dịch.

Các loại xét nghiệm đóng vai trò rất quan trọng trong phát hiện ca bệnh COVID-19 [115]. Đây là biện pháp cần thực hiện đầu tiên, sau đó mới tiến hành các biện pháp khác như truy vết, cách ly, điều trị. Nếu như xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền ARN của vi rút bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR được coi là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán ca bệnh COVID-19 [115], thì xét nghiệm phát hiện kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 trong huyết thanh xác định người từng nhiễm SARS-CoV-2 [123].

Kết quả xét nghiệm ELISA lần 1 cho thấy vụ dịch này được phát hiện muộn khoảng 2-3 tuần, do thời gian có đáp ứng kháng thể IgG khi nhiễm SARS-CoV-2 là từ 1-3 tuần sau khi mắc bệnh. Khi kết hợp với kết quả xét nghiệm realtime-PCR ở ngày 27/01/2021, trong số 06 trường hợp có kháng thể IgG (+) đã có 05 người có kết quả xét nghiệm RT-PCR dịch tị hầu (-) với SARS-CoV-2 (trong khi thời gian phát hiện được kháng nguyên vi rút chỉ trong khoảng 3 tuần), điều này càng khẳng định ổ dịch đã được phát hiện muộn.

Ở lần xét nghiệm ELISA thứ 2 phát hiện ở nhóm không mắc COVID-19 có tỉ lệ kháng thể IgG (+) là 2,3% (20/867 trường hợp). Điều đó có nghĩa 20 người này đã từng nhiễm SARS-CoV-2 nhưng không được phát hiện, đây là yếu tố làm tăng nguy cơ lây lan dịch bệnh trong nhà máy và trong cộng đồng. Điều này cũng cho thấy rằng, dù đã làm đầy đủ và đồng bộ các biện pháp can thiệp cùng với xét nghiệm RT-PCR, tỉ lệ bỏ sót người mang mầm bệnh là 2,3%. Cho thấy việc cách ly các trường hợp tiếp xúc gần theo quy định của Bộ Y tế là đúng đắn, nhằm tránh bỏ sót người không triệu chứng hoặc người có xét nghiệm âm tính giả mang mầm bệnh ra ngoài cộng đồng. Theo chúng tôi, nên kết hợp cả 02 phương pháp xét nghiệm Realtime RT-PCR và xét nghiệm kháng thể IgG để việc truy vết cũng như xác định quy mô của vụ dịch hiệu quả hơn.

Kết quả tại Bảng 3.18 cũng cho thấy gần 35% đối tượng không phát hiện được kháng thể IgG trong huyết thanh sau 45 ngày mắc COVID-19. Điều này cho thấy những trường hợp trên không có đáp ứng miễn dịch hoặc có đáp ứng miễn dịch nhưng không còn kháng thể IgG tồn lưu, dẫn tới nguy cơ cao tái nhiễm COVID-19 trong tương lai. Vì vậy, trong chiến lược tiêm vắc xin phòng COVID-19 cần tiêm cho cả những người có lịch sử mắc COVID-19.

Ngoài ra, theo kết quả một số nghiên cứu, việc sử dụng nghiên cứu huyết thanh học và ELISA xác định IgG kháng SARS-CoV-2 ngoài việc giúp xác định thời điểm dịch xuất hiện, hỗ trợ truy vết, xác định phạm vi thực sự của ổ dịch còn giúp xác định miễn dịch nền của quần thể và triển khai chiến lược tiêm vắc xin phòng COVID-19 trong cộng đồng.

4.3. Tính mới và một số hạn chế của nghiên cứu

4.3.1. Tính mới của nghiên cứu

*** Về dịch tễ học**

Đây là nghiên cứu là đầu tiên điều tra vụ dịch COVID-19 trong khu công nghiệp tại Việt Nam, trên quần thể công nhân chưa có miễn dịch do chưa triển khai chiến dịch tiêm vắc xin phòng COVID-19 tại Việt Nam và do nước ta đã kiểm soát tốt tình hình dịch bệnh. Đã xác định được một số đặc điểm dịch tễ của vụ dịch và một số yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây lan vi rút trong nhà máy. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc triển khai kịp thời các biện pháp phòng, chống dịch đã làm giảm hệ số lây nhiễm của SARS-CoV-2 từ 3,5 xuống dưới 1,0 và khống chế thành công vụ dịch.

Trong khi đó, Việt Nam có rất nhiều các khu công nghiệp và đang trong giai đoạn đẩy mạnh công nghiệp hóa, hiện đại hóa đất nước, các kết quả nghiên cứu này giúp đưa ra các gợi ý, khuyến nghị về công tác phòng, chống dịch bệnh

truyền nhiễm, đặc biệt là bệnh lây qua đường hô hấp, trong tương lai tại các nhà máy, xí nghiệp.

* Về vi rút học

Nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam sử dụng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) để xác định căn nguyên của vụ dịch. Kết quả đã tìm ra tác nhân là SARS-CoV-2 biến chủng Alpha (B.1.1.7); giải trình tự gen 23 mẫu bệnh phẩm có Ct<30 của công nhân nhà máy POYUN cho kết quả đồng nhất, gợi ý vụ dịch này chỉ có một nguồn lây.

Kết quả giải trình tự gen phát hiện vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại POYUN có 3 đột biến acid amin (ORF1a: M2259I, M: E12D, ORF7a: T39I) chưa được ghi nhận tại Việt Nam và trên thế giới, cho thấy đa dạng di truyền của biến chủng Alpha. Khi kết hợp với các triệu chứng lâm sàng, mức độ tiến triển của bệnh nhân COVID-19 có thể chứng minh được vi rút này chưa có dấu hiệu làm tăng nặng tình trạng bệnh và tử vong ở bệnh nhân COVID-19 trong vụ dịch POYUN.

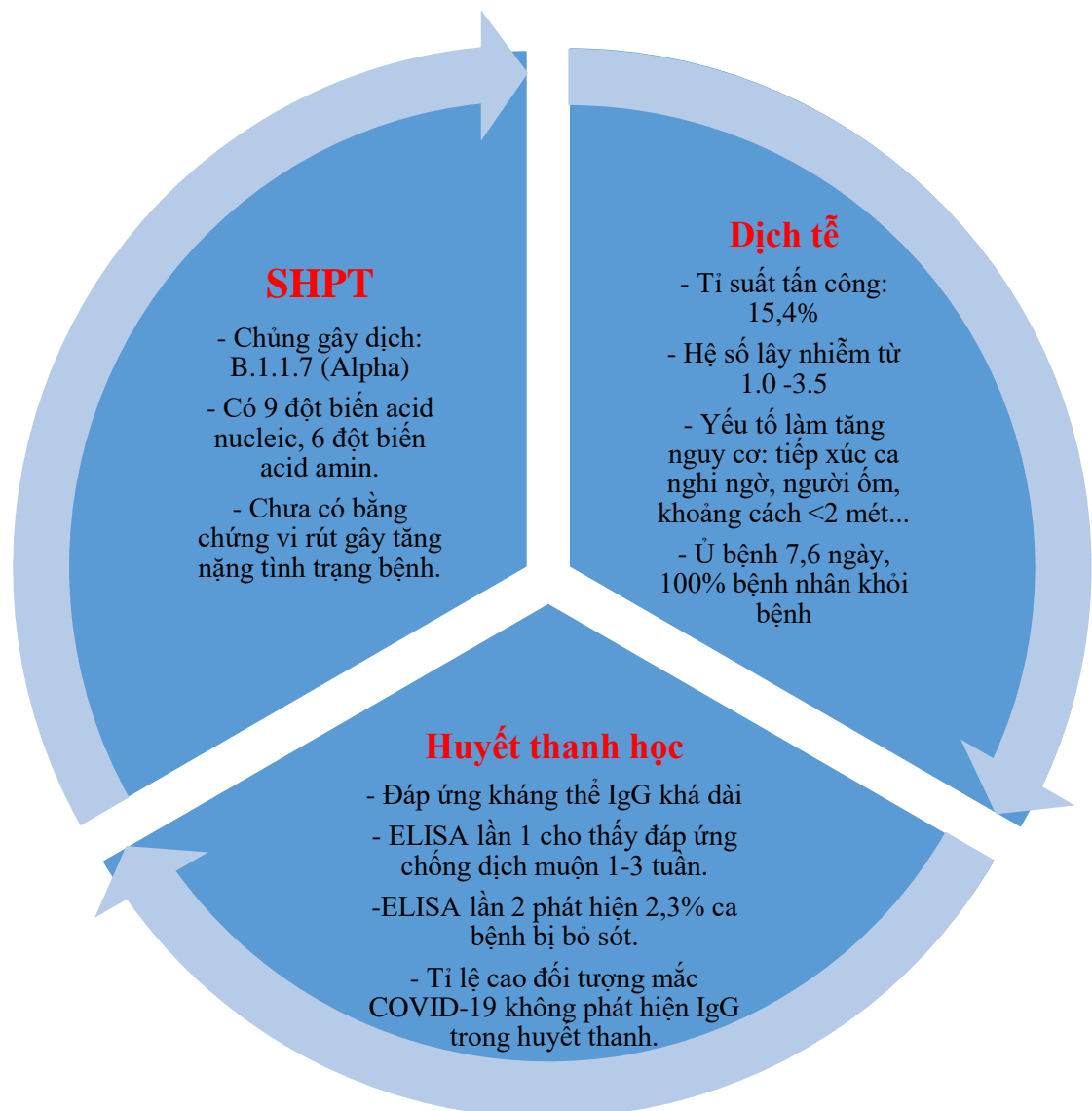
Đồng thời, nghiên cứu cho thấy giá trị của chiến lược “Zero COVID-19” (áp dụng phong tỏa, giãn cách xã hội...) khi Việt Nam chưa có dự phòng đặc hiệu bằng vắc xin, giúp hạn chế sự lây lan của vi rút SARS-CoV-2 giữa các địa phương, làm giảm nguy cơ vi rút biến đổi và tăng độc lực.

* Về huyết thanh học

Kết quả xét nghiệm ELISA lần 1, kết hợp với kết quả dịch tễ đã xác định vụ dịch này được phát hiện muộn khoảng 1-3 tuần.

Xét nghiệm ELISA lần 2 cho thấy, đáp ứng miễn dịch ở người mắc COVID-19 không dài, 34,5% đối tượng mắc COVID-19 có nguy cơ tái nhiễm COVID-19 trong tương lai (do không phát hiện được kháng thể IgG trong huyết thanh chỉ sau 45 ngày nhiễm bệnh). Khi kết hợp với xét nghiệm realtime RT-PCR đã phát hiện 2,3% (20) ca bệnh COVID-19 bị bỏ sót dù đã triển khai đầy

đủ các biện pháp phòng chống dịch. Điều này chứng minh quy định của Bộ Y tế về cách ly 14 ngày người tiếp xúc gần là rất khoa học. Đặc biệt, khi chỉ 40% ca bệnh COVID-19 trong nghiên cứu này có triệu chứng khởi phát, việc giám sát ca bệnh dựa vào triệu chứng để là chưa đủ để phát hiện sớm các ca bệnh đầu tiên. Từ các kết quả nêu trên, chúng tôi nhận thấy sự cần thiết phải sử dụng các xét nghiệm huyết thanh học, cùng với xét nghiệm realtime RT-PCR để hỗ trợ việc truy vết, khoanh vùng ổ dịch và hạn chế việc bỏ sót ca bệnh.



Hình 4.3. Vai trò của nghiên cứu dịch tễ, sinh học phân tử và huyết thanh học trong vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN, 2021.

Mặc dù hiện nay thế giới và Việt Nam đã có vắc xin phòng bệnh COVID-19 nhưng do vi rút SARS-CoV-2 thường xuyên biến đổi, đồng thời hiệu lực bảo vệ của vắc xin cũng giảm dần theo thời gian; do đó, không loại trừ sự quay trở lại gây dịch của vi rút này. Vì vậy những thông tin về đặc điểm dịch tễ học, yếu tố liên quan và các đặc điểm của vi rút SARS-CoV-2 tìm ra trong nghiên cứu này vẫn còn mang tính cần thiết, thời sự và thực tiễn.

4.3.2. Một số hạn chế của nghiên cứu

Một số hạn chế của nghiên cứu đặc điểm dịch tễ, sinh học phân tử và huyết thanh học được chúng tôi xác định như sau:

Thứ nhất, độ tuổi của đối tượng nghiên cứu của chúng tôi dao động từ 19 - 54 nên kết quả nghiên cứu không đại diện cho tất cả công nhân ở các độ tuổi lao động.

Thứ hai, do tiến hành nghiên cứu huyết thanh học trên quần thể công nhân làm việc tại một nhà máy trong bối cảnh dịch bệnh, kết quả nghiên cứu không ngoại suy được tình trạng có đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 ở cộng đồng cũng như trạng đáp ứng kháng thể IgG ở các nhóm công nhân ngành nghề khác nhau.

Do đó, cần tiến những nghiên cứu khác, nghiên cứu đa trung tâm, trên những nhóm đối tượng khác nhau, ở khu vực khác nhau và trong thời điểm dịch bệnh khác nhau để có bức tranh tổng thể về tỉ suất tấn công, hệ số lây nhiễm cũng như tình trạng đáp ứng kháng thể đặc hiệu kháng lại vi rút SARS-CoV-2 gây bệnh.

Ngoài ra, việc chỉ thu được khoảng 50% số mẫu (594/1.180) ở lần xét nghiệm ELISA thứ nhất sẽ có những ảnh hưởng nhất định đến việc đánh giá tỉ lệ đối tượng có đáp ứng kháng thể IgG. Tuy nhiên ở lần xét nghiệm ELISA thứ

2, có 1.004/1.180 mẫu huyết thanh được thu thập, đạt tỉ lệ trên 85% là đủ đại diện cho mẫu nghiên cứu.

Thứ ba, chúng tôi thực hiện được 2 lát cắt xét nghiệm ELISA để đánh giá tình trạng đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2, do hạn chế về kinh phí và khó khăn trong công tác tổ chức, nên chưa thể cung cấp bức tranh toàn cảnh về tình trạng đáp ứng kháng thể IgG ở những người mắc COVID-19 trong vụ dịch POYUN. Do đó cần thực hiện thêm những nghiên cứu khác sử dụng xét nghiệm chuyên sâu, theo dõi dọc và có nhiều lát cắt để xác định chính xác mức độ tồn lưu kháng thể IgG theo thời gian.

Hạn chế thứ tư, do sử dụng bộ câu hỏi tự điền và thời gian thu thập thông tin ngày 15/3/2021 khá xa thời điểm dịch bệnh bùng phát (ngày 27/01/2021) nên có thể dẫn tới sai số nhớ lại; chúng tôi khắc phục hạn chế này bằng sử dụng khoảng tin cậy 95% khi tính toán với các biến số định danh; ngoài ra, chúng tôi đã thiết kế, thử nghiệm bộ câu hỏi cẩn thận trước khi triển khai nghiên cứu.

Thứ năm, nghiên cứu có thể gặp phải sai số hệ thống khi phân loại ca bệnh COVID-19 do kết quả xét nghiệm Realtime RT-PCR dương tính giả; tuy nhiên, việc thực hiện xét nghiệm mẫu tị hầu bằng Realtime RT-PCR được làm định kỳ 2 ngày/lần, do đó giải quyết được vấn đề dương tính giả.

Cuối cùng, do số lượng các trình tự gen của các chủng SARS-CoV-2 được báo cáo lên hệ thống giám sát của Việt Nam còn rất hạn chế, vì vậy chúng tôi không có cơ hội để so sánh sự tiến hóa của các chủng vi rút SARS-CoV-2 lưu hành trước đó ở Việt Nam với chủng Alpha gây bệnh tại nhà máy POYUN.

Mặc dù còn có những hạn chế nêu trên nhưng nghiên cứu đã xác định được tỉ suất tấn công của SARS-CoV-2, hệ số lây nhiễm và một số yếu tố liên quan đến tăng nguy cơ lây nhiễm tại nhà máy POYUN; đồng thời việc sử dụng kỹ thuật ELISA xét nghiệm kháng thể IgG trong huyết thanh đã giúp: i) xác

định được tỉ lệ công nhân có đáp ứng kháng thể IgG và ước lượng khoảng thời gian tồn lưu kháng thể; ii) khi kết hợp với nghiên cứu dịch tễ đã xác định được thời gian, nơi khởi đầu vụ dịch tại nhà máy; iii) phát hiện được 2,3% người từng nhiễm SARS-CoV-2 không được ghi nhận; iv) ngoài ra, đã xác định được tỉ lệ nhất định các trường hợp mắc COVID-19 không có hoặc không còn kháng thể IgG trong huyết thanh, cho thấy những người này sẽ có nguy cơ tái nhiễm COVID-19 trong tương lai.

KẾT LUẬN

1. Một số đặc điểm dịch tễ và yếu tố liên quan đến tình trạng lây nhiễm bệnh COVID-19 tại nhà máy POYUN từ tháng 01/2021 - 5/2021.

Tác nhân gây bệnh là SARS-CoV-2 biến chủng Alpha (B.1.1.7).

Vụ dịch có tỉ suất tấn công 15,4%; tỉ lệ mắc COVID-19 có sự khác biệt giữa các nhóm đối tượng.

Hệ số lây nhiễm trong vụ dịch là 3,5 khi chưa triển khai đáp ứng; R_0 giảm xuống dưới 1,0 khi triển khai các biện pháp chống dịch.

Thời gian ủ bệnh trung bình là 7,6 ngày; các triệu chứng lâm sàng đặc trưng của nhiễm biến chủng Alpha.

Thời gian điều trị trung bình là 25,5 ngày; 100% ca bệnh COVID-19 trong vụ dịch đều tiến triển tích cực và khỏi bệnh.

Một số yếu tố liên quan tăng nguy cơ lây nhiễm COVID-19 trong vụ dịch tại nhà máy gồm: tiếp xúc và chăm sóc người ốm, tiếp xúc ca COVID-19 nghi ngờ, thời gian làm việc trên 12 giờ/ngày, khoảng cách giữa người với người trong sản xuất dưới 2 mét, và thường xuyên tiếp xúc với công nhân khác.

2. Một số đặc điểm vi rút SARS-CoV-2 gây vụ dịch COVID-19 tại nhà máy POYUN từ tháng 01/2021 - 5/2021.

2.1. Đặc điểm sinh học phân tử

Chủng vi rút SARS-CoV-2 gây dịch tại nhà máy POYUN thuộc Clade 20I/501Y.V1 (biến thể Alpha).

Vi rút có 9 đột biến nucleotid và 6 đột biến acid amin trên các protein; các đột biến này chưa có dấu hiệu làm tăng nặng tình trạng bệnh hoặc gây tử vong cho người mắc COVID-19 trong vụ dịch tại POYUN.

2.2. Đặc điểm huyết thanh học

Tỉ lệ phát hiện kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 sau gần 70 ngày tính từ lúc dịch bùng phát là 10,9% (KTC95%: 8,9%-12,8%).

Tỉ lệ cao (34,5%) ca bệnh COVID-19 không phát hiện được kháng thể IgG trong huyết thanh chỉ sau 45-57 ngày có kết quả xét nghiệm SARS-CoV-2 dương tính bằng RT-PCR.

Bệnh nhân COVID-19 có triệu chứng sốt, đau cơ/đau khớp, ớn lạnh và mất vị giác/khứu giác có tỉ lệ kháng thể IgG (+) cao hơn những bệnh nhân không có các triệu chứng này.

KHUYẾN NGHỊ

1. Khi ứng phó với dịch bệnh truyền nhiễm xảy ra tại các khu công nghiệp trong tương lai, cơ quan y tế cần triển khai sớm, đồng bộ các biện pháp phòng, chống dịch; sử dụng nhiều phương pháp xét nghiệm để hỗ trợ quá trình truy vết, khoanh vùng ổ dịch và hạn chế tối đa việc bỏ sót ca bệnh.

2. Nhân viên y tế tại các nhà máy cần được nâng cao năng lực giám sát, phát hiện người lao động có triệu chứng mắc bệnh truyền nhiễm, từ đó triển khai sớm các biện pháp ứng phó, hạn chế các nguy cơ lây lan dịch bệnh diện rộng trong các khu công nghiệp.

3. Đối với các cơ sở sản xuất (nhà máy, xí nghiệp...), để giảm nguy cơ lây lan mầm bệnh truyền nhiễm tại nơi làm việc cần thực hiện một số biện pháp:

Giảm số người làm việc trong một ca sản xuất và rút ngắn thời gian ca làm việc; bảo đảm khoảng cách tối thiểu giữa người lao động.

Cung cấp đủ khẩu trang và xà phòng tại nơi sản xuất; duy trì quy định đeo khẩu trang, rửa tay với xà phòng.

Tổ chức giám sát, sàng lọc, phát hiện sớm các trường hợp công nhân có triệu chứng của bệnh truyền nhiễm để cách ly, điều trị kịp thời.

4. Đối với người lao động, để hạn chế nguy cơ mắc bệnh truyền nhiễm tại nơi sản xuất cần:

Tuân thủ tốt các quy định phòng bệnh của cơ sở sản xuất (đeo khẩu trang, rửa tay với xà phòng, xét nghiệm định kỳ, tiêm vắc xin phòng bệnh...).

Hạn chế tiếp xúc những người có triệu chứng mắc bệnh truyền nhiễm.

Phối hợp với cơ quan y tế trong triển khai các biện pháp truy vết, cách ly và điều trị trong tình huống xảy ra dịch bệnh truyền nhiễm.

5. Đối với các nhà nghiên cứu khác, cần tiếp tục thực hiện các nghiên cứu, sử dụng kỹ thuật chuyên sâu về huyết thanh học tại nhà máy POYUN sau khi tiêm vắc xin COVID-19 để có số liệu hoàn thiện về huyết thanh học (serology profile) cũng như theo dõi biến động kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 (seroconversion) trong cộng đồng nghiên cứu./.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. Phan Tân Dân, Nguyễn Cơ Thạch, Nguyễn Lê Khánh Hằng, Hoàng Vũ Mai Phương, Nguyễn Công Khanh, Lê Thị Quỳnh Mai, Phạm Ngọc Hùng. (2023). Tình trạng đáp ứng kháng thể IgG kháng SARS-CoV-2 và một số yếu tố liên quan trên quần thể công nhân nhà máy POYUN, tỉnh Hải Dương, năm 2021. Tạp Chí Y học dự phòng, Tập 33, số 3, 2023, Tr 144.
2. Phan Tan Dan, Nguyen Le Khanh Hang, Nguyen Co Thach, Hoang Vu Mai Phuong, Nguyen Cong Khanh, Pham Quang Thai, Nguyen Phuong Thuy, Pham Ngoc Hung, Le Thi Quynh Mai. (2023). Risk factors of COVID-19 transmission among workers at a large - scale factory in Vietnam, 2021. Vietnam Journal of Preventive Medicine, Volume 33, Issue 3, 2023, p40.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Bộ Y tế (2020), *Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị COVID-19 ban hành Quyết định số 3551/QĐ-BYT của Bộ Y tế*. Truy cập ngày 8/8/2021, tại trang web <https://syt.binhdingh.gov.vn/>.
2. Bộ Y tế (2021), *Công văn số 11042/BYT-DP về việc điều chỉnh định nghĩa ca bệnh COVID-19*. Truy cập ngày 12/12/2023 tại trang web: <https://thuvienphapluat.vn/cong-van/The-thao-Y-te/Cong-van-11042-BYT-DP-2021-dinh-nghia-ca-benh-COVID19-499128.aspx>.
3. Bộ Y tế (2023), "*Báo cáo tổng kết công tác phòng chống dịch COVID-19 số 1381/BC-BYT ngày 27/10/2023*".
4. Bộ Y tế (2023), *Công văn số 2116/BYT-DP ngày 12/4/2023 về việc tăng cường công tác phòng, chống dịch Covid-19*, truy cập ngày 15/10/2023, tại trang web: <https://thuvienphapluat.vn/>.
5. Bộ Y tế (2023), *Tình hình dịch COVID-19 tại Việt Nam, Hà Nội*, truy cập ngày 20/7/2022, tại trang web: <https://covid19.gov.vn/ngay-3-6-ca-covid-19-moi-giam-con-280-171230603233757357.htm>.
6. Đỗ Thị Thanh Toàn và các cộng sự. (2022), "Đặc điểm dịch tễ học dịch covid-19 lần thứ 4 và một số biện pháp đáp ứng tại tỉnh Bắc Ninh năm 2021", *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 156(8), tr. 261-270.
7. Linh Chi (2021), *Các lực lượng chi viện cho Hải Dương đang tích cực triển khai dập dịch*, truy cập ngày 22/12/2023, tại trang web <https://vtv.vn/suc-khoe/cac-luc-luong-chi-vien-cho-hai-duong-tich-cuc-trien-khai-dap-dich-20210128165821797.htm>.
8. Ngô Thu Hường và các cộng sự. (2021), "Chất lượng bộ sinh phẩm Polyvac-SARS-CoV-2 IgG/M ELISA chẩn đoán phát hiện kháng thể SARS-COV-2 trên các mẫu lâm sàng", *Tạp chí Y học Dự phòng*. 31(8), tr. 20-29.
9. Nguyễn Dương (2021), *Nhìn lại hơn 1 tháng chống dịch Covid-19 của Hải Dương*, truy cập ngày 22/01/2023, tại trang <https://dantri.com.vn/xa-hoi/nhin-lai-hon-1-thang-chong-dich-covid-19-cua-hai-duong-20210306153358085.htm>.
10. Nguyễn Thái Sơn, "Cập nhật về phương thức lây truyền của SARS-CoV-2".
11. Thủ tướng Chính phủ (2021), *Chỉ thị số 05/CT-TTg ngày 28/1/2021 của Thủ tướng Chính phủ về một số biện pháp cấp bách phòng, chống dịch COVID-19*, Văn phòng Chính phủ.

12. Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương (2023), *Báo cáo đánh giá kết quả 3 năm triển khai công tác phòng, chống dịch COVID-19*.

Tiếng Anh

13. Ahmad Khansa et al. (2020), "Association of poor housing conditions with COVID-19 incidence and mortality across US counties", *PloS one*. 15(11), p. e0241327.
14. Akram Arifa and Mannan Nusrat (2020), "Molecular structure, pathogenesis and virology of SARS-CoV-2: A review", *Bangladesh Journal of Infectious Diseases*, p.S36-S40.
15. Alam Mohammad Rahanur, Kabir Md Ruhul and Reza Sompa (2021), "Comorbidities might be a risk factor for the incidence of COVID-19: Evidence from a web-based survey", *Preventive medicine reports*. 21, p. 101319.
16. Alquraan Laiali, Alzoubi Karem H and Rababa'h Suzie Y (2023), "Mutations of SARS-CoV-2 and their impact on disease diagnosis and severity", *Informatics in medicine unlocked*, p.101256.
17. Alsved Malin et al. (2020), "Exhaled respiratory particles during singing and talking", *Aerosol Science and Technology*. 54(11), p. 1245-1248.
18. Althaus Christian L. et al. (2021), "A tale of two variants: Spread of SARS-CoV-2 variants Alpha in Geneva, Switzerland, and Beta in South Africa", *MedRxiv*, p. 2021.06. 10.21258468.
19. Andreu-Sánchez Celia and Martín-Pascual Miguel Ángel (2021), "The attributes of the images representing the SARS-CoV-2 coronavirus affect people's perception of the virus", *PloS one*. 16(8), p. e0253738.
20. Andrew Rambaut (2020), "Preliminary genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations", *Virological*.
21. Azkur Ahmet Kursat et al. (2020), "Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19", *Allergy*. 75(7), p. 1564-1581.
22. Bae Sanghyuk et al. (2020), "Epidemiological characteristics of COVID-19 outbreak at fitness centers in Cheonan, Korea", *Journal of Korean medical science*. 35(31).
23. Baker Marissa G., Peckham Trevor K., and Seixas Noah S. (2020), "Estimating the burden of United States workers exposed to infection or disease: a key factor in containing risk of COVID-19 infection", *PloS one*. 15(4), p. e0232452.

24. Bendavid Eran et al. (2021), "Covid-19 antibody seroprevalence in santa clara county, california", *International journal of epidemiology*. 50(2), p. 410-419.
25. Bendel Robert B. and Afifi Abdelmonem A. (1977), "Comparison of stopping rules in forward "stepwise" regression", *Journal of the American Statistical association*. 72(357), p. 46-53.
26. Benoit Justin L. et al. (2020), "Assessment of immune response against SARS-CoV-2 at emergency department evaluation in COVID-19 patients", *J Lab Precis Med*. 5, p. 33.
27. Bryan, Andrew et al. (2020), "Performance characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG assay and seroprevalence in Boise, Idaho", *Journal of clinical microbiology*. 58(8), p. e00941-20.
28. Bui Long V et al. (2020), "Estimation of the incubation period of COVID-19 in Vietnam", *Plos One*. 15(12), p. e0243889.
29. Bwire George M. (2020), "Coronavirus: why men are more vulnerable to Covid-19 than women?", *SN comprehensive clinical medicine*. 2(7), p. 874-876.
30. Cai Jing et al. (2020), "Indirect virus transmission in cluster of COVID-19 cases, Wenzhou, China, 2020", *Emerging infectious diseases*. 26(6), p. 1343.
31. Chan KH et al. (2020), "Factors affecting stability and infectivity of SARS-CoV-2", *Journal of Hospital Infection*. 106(2), p. 226-231.
32. Chansaenroj Jira et al. (2021), "Long-term specific IgG response to SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in recovered COVID-19 patients", *Scientific reports*. 11(1), p. 23216.
33. Chau Nguyen Van Vinh et al. (2021), "Absence of SARS-CoV-2 antibodies in health care workers of a tertiary referral hospital for COVID-19 in southern Vietnam", *Journal of Infection*. 82(1), p. e36-e37.
34. Chen Huijun et al. (2020), "Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records", *The lancet*. 395(10226), p. 809-815.
35. Chen Yiqun et al. (2022), "COVID-19 outbreak rates and infection attack rates associated with the workplace: a descriptive epidemiological study", *BMJ open*. 12(7), p. e055643.
36. Cheng Cheng et al. (2021), "The incubation period of COVID-19: a global meta-analysis of 53 studies and a Chinese observation study of 11 545 patients", *Infectious diseases of poverty*. 10(05), p. 1-13.
37. Cherian Sarah et al. (2021), "SARS-CoV-2 spike mutations, L452R, T478K, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India", *Microorganisms*. 9(7), p. 1542.

38. Cirrincione Luigi et al. (2020), "COVID-19 pandemic: Prevention and protection measures to be adopted at the workplace", *Sustainability*. 12(9), p. 3603.
39. Conti Pio and Younes A. (2020), "Coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 affects women less than men: clinical response to viral infection", *J Biol Regul Homeost Agents*. 34(2), p. 339-343.
40. Cosar Begum et al. (2022), "SARS-CoV-2 mutations and their viral variants", *Cytokine & growth factor reviews*. 63, p. 10-22.
41. Cowling Benjamin J. et al. (2020), "Impact assessment of non-pharmaceutical interventions against coronavirus disease 2019 and influenza in Hong Kong: an observational study", *The Lancet Public Health*. 5(5), p. e279-e288.
42. Curran Janet et al. (2021), "Transmission characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern Rapid Scoping Review", *MedRxiv*, p. 2021.04. 23.21255515.
43. Dahl Eilif (2020), "Coronavirus (Covid-19) outbreak on the cruise ship Diamond Princess", *International maritime health*. 71(1), p. 5-8.
44. Daniloski Zharko, Guo Xinyi and Sanjana Neville E. (2020), "The D614G mutation in SARS-CoV-2 Spike increases transduction of multiple human cell types", *BioRxiv*, p. 2020.06. 14.151357.
45. Davies Nicholas G. et al. (2021), "Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B. 1.1. 7 in England", *Science*. 372(6538).
46. De Gier Brechje et al. (2020), "Occupation-and age-associated risk of SARS-CoV-2 test positivity, the Netherlands, June to October 2020", *Eurosurveillance*. 25(50), p. 2001884.
47. Doi Asako et al. (2020), "Estimation of seroprevalence of novel coronavirus disease (COVID-19) using preserved serum at an outpatient setting in Kobe, Japan: A cross-sectional study. medRxiv 2020.04. 26.20079822 [Preprint]. May 5, 2020 [cited 2020 July 8]", *DOI*. 10(2020.04), p. 26.20079822.
48. Dyal Jonathan W. (2020), "COVID-19 among workers in meat and poultry processing facilities—19 states, April 2020", *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*. 69.
49. Earnest Rebecca et al. (2022), "Comparative transmissibility of SARS-CoV-2 variants delta and alpha in New England, USA", *Cell Reports Medicine*. 3(4).
50. Echternach Matthias et al. (2020), "Impulse dispersion of aerosols during singing and speaking: a potential COVID-19 transmission pathway", *American journal of respiratory and critical care medicine*. 202(11), p. 1584-1587.
51. Esteve Albert et al. (2020), "National age and coresidence patterns shape COVID-19 vulnerability", *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 117(28), p. 16118-16120.

52. Fagyas Miklós et al. (2022), "Circulating ACE2 activity predicts mortality and disease severity in hospitalized COVID-19 patients", *International Journal of Infectious Diseases*. 115, p. 8-16.
53. Fang Zhixiong et al. (2020), "Comparisons of viral shedding time of SARS-CoV-2 of different samples in ICU and non-ICU patients", *Journal of Infection*. 81(1), p. 147-178.
54. Fassani Francesco and Mazza Jacopo (2020), *A vulnerable workforce: Migrant workers in the COVID-19 pandemic*, Publications Office of the European Union Luxembourg.
55. FDA (2020), *Coronavirus (COVID-19) Update: Serological Tests*, accessed on 15 Sep-2021, at website <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-serological-tests>.
56. Figueiredo-Campos Patrícia et al. (2020), "Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients and healthy volunteers up to 6 months post disease onset", *European journal of immunology*. 50(12), p. 2025-2040.
57. Fischer Bastian, Knabbe Cornelius and Vollmer Tanja (2020), "SARS-CoV-2 IgG seroprevalence in blood donors located in three different federal states, Germany, March to June 2020", *Eurosurveillance*. 25(28), p. 2001285.
58. Fontanet Arnaud et al. (2020), "Cluster of COVID-19 in northern France: a retrospective closed cohort study", *MedRxiv*.
59. Galloway Summer E. et al. (2021), "Emergence of SARS-CoV-2 b. 1.1. 7 lineage—united states, december 29, 2020–january 12, 2021", *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 70(3), p. 95.
60. Garcia-Basteiro Alberto L. et al. (2020), "Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital", *Nature communications*. 11(1), p. 1-9.
61. Garcia-Beltran Wilfredo F. et al. (2021), "Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity", *Cell*. 184(9), p. 2372-2383. e9.
62. Ghose Aurnab et al. (2020), "Community prevalence of antibodies to SARS-CoV-2 and correlates of protective immunity in an Indian metropolitan city", *MedRxiv*.
63. Gotluru Chitra et al. (2021), "Sex, Hormones, Immune Functions, and Susceptibility to Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)–Related Morbidity", *Obstetrics and gynecology*. 137(3), p. 423.

64. Groves Laura M. et al. (2021), "Community transmission of SARS-CoV-2 at three fitness facilities—Hawaii, June–July 2020", *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 70(9), p. 316.
65. Gudbjartsson Daniel F. et al. (2020), "Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population", *New England Journal of Medicine*. 382(24), p. 2302-2315.
66. Guo Zhen-Dong et al. (2020), "Aerosol and surface distribution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in hospital wards, Wuhan, China, 2020", *Emerging infectious diseases*. 26(7), p. 1586.
67. Hallal Pedro C. et al. (2020), "Remarkable variability in SARS-CoV-2 antibodies across Brazilian regions: nationwide serological household survey in 27 states", *MedRxiv*.
68. Hansen Peter Reinhard (2022), "Relative contagiousness of emerging virus variants: An analysis of the Alpha, Delta, and Omicron SARS-CoV-2 variants", *The Econometrics Journal*. 25(3), p. 739-761.
69. Harvey William T. et al. (2021), "SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape", *Nature Reviews Microbiology*. 19(7), p. 409-424.
70. Hasan Tasnim et al. (2021), "Sero-prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in high-risk populations in Vietnam", *International journal of environmental research and public health*. 18(12), p. 6353.
71. Hasan Tasnim et al. (2022), "The prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in quarantine workers and high-risk communities in Vietnam", *IJID Regions*. 2, p. 137-140.
72. He Xuemei et al. (2021), "SARS-CoV-2 Omicron variant: characteristics and prevention", *MedComm*. 2(4), p. 838-845.
73. Hoan Nghiem Xuan et al. (2021), "Viral and serological testing of SARS-CoV-2 among health care workers and patients in Vietnam", *The Lancet Regional Health—Western Pacific*. 8.
74. Hoang Van Thuan et al. (2022), "Seroprevalence of SARS-CoV-2 among high-density communities and hyper-endemicity of COVID-19 in Vietnam", *Tropical Medicine & International Health*.
75. Hongoh Valerie et al. (2021), "Multisystem Inflammatory Syndrome in Children: Decision analysis support for evaluating transmission risk of COVID-19 in places where people gather", *Canada Communicable Disease Report*. 47(11), p. 446.
76. Hu Ben et al. (2021), "Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19", *Nature Reviews Microbiology*. 19(3), p. 141-154.
77. Huang Chaolin et al. (2020), "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China", *The lancet*. 395(10223), p. 497-506.

78. Ioannou Petros et al. (2021), "Transmission of SARS-CoV-2 variant B. 1.1. 7 among vaccinated health care workers", *Infectious Diseases*. 53(11), p. 876-879.
79. Jones Terry C. et al. (2021), "Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course", *Science*. 373(6551), p. eabi5273.
80. Karimizadeh Zahra et al. (2023), "The reproduction rate of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 different variants recently circulated in human: a narrative review", *European Journal of Medical Research*. 28(1), p. 1-10.
81. Kelland K. (2020), *One Meter or Two? How Social Distancing Affects COVID-19 Risk*, accessed on, at website <https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-distance-explainer-idUSKBN23U22W>.
82. Kessler Asa et al. (2020), "Clinical Correlates of Early IgG Response in Patients with Mild COVID-19".
83. Khalili Malahat et al. (2020), "Epidemiological characteristics of COVID-19: a systematic review and meta-analysis", *Epidemiology & Infection*. 148.
84. Khan Muhammad Altaf and Atangana Abdon (2022), "Mathematical modeling and analysis of COVID-19: A study of new variant Omicron", *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. 599, p. 127452.
85. Ki Moran (2020), "Epidemiologic characteristics of early cases with 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) disease in Korea", *Epidemiology and health*. 42.
86. Kim Yeonju et al. (2021), "Review of the early reports of the epidemiological characteristics of the B. 1.1. 7 variant of SARS-CoV-2 and its spread worldwide", *Osong Public Health and Research Perspectives*. 12(3), p. 139.
87. Koc Ibrahim (2022), "Clinical and Laboratory Differences between Delta and UK Variants of SARS-CoV-2: B. 1.617. 2 and B. 1.1. 7", *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 257(4), p. 273-281.
88. Kreshpaj Bertina et al. (2020), "What is precarious employment? A systematic review of definitions and operationalizations from quantitative and qualitative studies", *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. 46(3), p. 235-247.
89. Kromhout Hans (2020), *Learning from a global pandemic*, chủ biên, BMJ Publishing Group Ltd, p. 587-588.
90. Kumar Nishant, Bhartiya Shibal and Singhd Tarundeep (2021), "Duration of anti-SARS-CoV-2 antibodies much shorter in India", *Vaccine*. 39(6), p. 886-888.
91. Kumar Swatantra et al. (2020), "Structural, glycosylation and antigenic variation between 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) and SARS coronavirus (SARS-CoV)", *Virusdisease*. 31(1), p. 13-21.

92. La Marca Antonio et al. (2020), "Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays", *Reproductive biomedicine online*. 41(3), p. 483-499.
93. Ladhani Shamez N. et al. (2020), "High prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in care homes affected by COVID-19: prospective cohort study, England", *EClinicalMedicine*. 28, p. 100597.
94. Lalwani Pritesh et al. (2021), "SARS-CoV-2 seroprevalence and associated factors in Manaus, Brazil: baseline results from the DETECTCoV-19 cohort study", *International Journal of Infectious Diseases*. 110, p. 141-150.
95. Lee Handol and Ahn Kang-Ho (2021), "Estimate of the critical exposure time based on 70 confirmed COVID-19 cases", *Journal of the Korean Physical Society*. 79(5), p. 492-498.
96. Li Geng et al. (2020), "Coronavirus infections and immune responses", *Journal of medical virology*. 92(4), p. 424-432.
97. Li Long-quan et al. (2020), "COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis", *Journal of medical virology*. 92(6), p. 577-583.
98. Li Meng-Yuan et al. (2020), "Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues", *Infectious diseases of poverty*. 9(02), p. 23-29.
99. Li Qun et al. (2020), "Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia", *New England journal of medicine*. 382(13), p. 1199-1207.
100. Li Taisheng, Lu Hongzhou and Zhang Wenhong (2020), "Clinical observation and management of COVID-19 patients", *Emerging microbes & infections*. 9(1), p. 687-690.
101. Li Yuguo et al. (2020), "Evidence for probable aerosol transmission of SARS-CoV-2 in a poorly ventilated restaurant", *MedRxiv*.
102. Lindstrøm Jonas Christoffer et al. (2022), "Increased transmissibility of the alpha SARS-CoV-2 variant: evidence from contact tracing data in Oslo, January to February 2021", *Infectious Diseases*. 54(1), p. 72-77.
103. Liu Tao et al. (2020), "Prevalence of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in Wuhan—implications for the ability to produce long-lasting protective antibodies against SARS-CoV-2", *MedRxiv*.
104. Liu Yuan et al. (2020), "Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals", *Nature*. 582(7813), p. 557-560.

105. Long Quan-Xin et al. (2020), "Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19", *Nature medicine*. 26(6), p. 845-848.
106. Lu Jianyun et al. (2020), "Early Release-COVID-19 Outbreak Associated with Air Conditioning in Restaurant, Guangzhou, China, 2020-Volume 26, Number 7—July 2020-Emerging Infectious Diseases journal-CDC".
107. Lu Roujian et al. (2020), "Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding", *The lancet*. 395(10224), p. 565-574.
108. Lubinski Bailey et al. (2022), "Functional evaluation of the P681H mutation on the proteolytic activation of the SARS-CoV-2 variant B. 1.1. 7 (Alpha) spike", *Isience*. 25(1).
109. Maged Ahmed et al. (2023), "SEIR Model to address the impact of face masks amid COVID-19 pandemic", *Risk Analysis*. 43(1), p. 129-143.
110. Maggi Fabrizio et al. (2021), "Imported SARS-CoV-2 variant P. 1 in traveler returning from Brazil to Italy", *Emerging infectious diseases*. 27(4), p. 1249.
111. Magnusson Karin et al. (2021), "Occupational risk of COVID-19 in the 1st vs 2nd wave of infection", *MedRxiv*, p. 2020.10. 29.20220426.
112. Mahase Elisabeth (2021), Covid-19: Sore throat, fatigue, and myalgia are more common with new UK variant, chủ biên, British Medical Journal Publishing Group.
113. Maison David P. et al. (2021), "Genetic characteristics and phylogeny of 969-bp S gene sequence of SARS-CoV-2 from Hawai 'i reveals the worldwide emerging P681H mutation", *Hawai'i journal of health & social welfare*. 80(3), p. 52.
114. Manathunga SS., Abeyagunawardena IA., and Dharmaratne SD. (2023), "A comparison of transmissibility of SARS-CoV-2 variants of concern", *Virology Journal*. 20(1), p. 59.
115. Mesa José Francisco Cancino, Castillo Adrián Alejandro Vitón and Torres Jorge Casí (2020), "Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection", *Real-time PCR-based SARS-CoV-2 detection*. doi: <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.707>.
116. Michaelsen Thomas Yssing et al. (2021), "Introduction and transmission of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 in Denmark", *medRxiv*.
117. Murhekar Manoj V. et al. (2020), "Prevalence of SARS-CoV-2 infection in India: Findings from the national serosurvey, May-June 2020", *The Indian journal of medical research*. 152(1-2), p. 48.

118. Mutambudzi Miriam et al. (2021), "Occupation and risk of severe COVID-19: prospective cohort study of 120 075 UK Biobank participants", *Occupational and environmental medicine*. 78(5), p. 307-314.
119. Naqvi Ahmad Abu Turab et al. (2020), "Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 1866(10), p. 165878.
120. Nguyen Hanh Hong Ho et al. (2022), "Seroprevalence of SARS-CoV-2 Neutralizing Antibodies among Blood Donors in Ho Chi Minh City, Vietnam, August–November 2020", *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 106(3), p. 891.
121. O'Toole Áine et al. (2021), "Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B. 1.1. 7 and B. 1.351/501Y-V2 with grinch", *Wellcome Open Research*. 6.
122. Pagheh Abdol Sattar et al. (2023), "SARS-COV-2 IgG specific antibodies persistence in recovered COVID-19 individuals and its association with severity and time of illness", *New microbes and new infections*. 52, p. 101096.
123. Park Sung Yong et al. (2021), "High-precision and cost-efficient sequencing for real-time COVID-19 surveillance", *Scientific reports*. 11(1), p. 1-10.
124. Peacock Sharon et al. (2021), "SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape".
125. Peng Yu-Dong et al. (2020), "Clinical characteristics and outcomes of 112 cardiovascular disease patients infected by 2019-nCoV", *Zhonghua xin xue guan bing za zhi*. 48(6), p. 450-455.
126. Pérez-Lago Laura et al. (2021), "Epidemiological, clinical and genomic snapshot of the first 100 B. 1.1. 7 SARS-CoV-2 cases in Madrid", *Journal of travel medicine*. 28(4), p. taab044.
127. Petersen LR., Samira S, and Vuong N. (2020), "Lack of antibodies to SARS-CoV-2 in a large cohort of previously infected persons [manuscript published online ahead of print 4 November 2020]", *Clin Infect Dis*.
128. Petersen Lyle R. et al. (2021), "Lack of antibodies to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in a large cohort of previously infected persons", *Clinical Infectious Diseases*. 73(9), p. e3066-e3073.
129. Phan Lan T. et al. (2020), "Importation and human-to-human transmission of a novel coronavirus in Vietnam", *New England Journal of Medicine*. 382(9), p. 872-874.

130. Pijls Bart G. et al. (2021), "Demographic risk factors for COVID-19 infection, severity, ICU admission and death: a meta-analysis of 59 studies", *BMJ open*. 11(1), p. e044640.
131. Puhach Olha, Meyer Benjamin and Eckerle Isabella (2023), "SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics", *Nature Reviews Microbiology*. 21(3), p. 147-161.
132. Ranjan Prashant et al. (2021), "Bioinformatics analysis of SARS-CoV-2 RBD mutant variants and insights into antibody and ACE2 receptor binding", *BioRxiv*, p. 2021.04.03.438113.
133. Reid Alison, Ronda-Perez Elena, and Schenker Marc B (2021), "Migrant workers, essential work, and COVID-19", *American Journal of Industrial Medicine*. 64(2), p. 73-77.
134. Safety Occupational and Administration Health (2021), "Protecting workers: Guidance on mitigating and preventing the spread of COVID-19 in the workplace", *Occupational Safety and Health Administration*.
135. Sama Izhah E. and Voors Adriaan A. (2020), "Men more vulnerable to COVID-19: explained by ACE2 on the X chromosome?", *European Heart Journal*. 41(32), p. 3096-3096.
136. Sardar Rahila et al. (2020), "Comparative analyses of SAR-CoV2 genomes from different geographical locations and other coronavirus family genomes reveals unique features potentially consequential to host-virus interaction and pathogenesis", *BioRxiv*, p. 2020.03.21.001586.
137. Shakiba Maryam et al. (2020), "Seroprevalence of COVID-19 virus infection in Guilan province, Iran", *MedRxiv*.
138. Sheikhi Farnaz et al. (2022), "Estimation of the basic reproduction number of Alpha and Delta variants of COVID-19 pandemic in Iran", *PLoS One*. 17(5), p. e0265489.
139. Shen Ye et al. (2020), "Community outbreak investigation of SARS-CoV-2 transmission among bus riders in Eastern China", *JAMA internal medicine*. 180(12), p. 1665-1671.
140. Shi Heshui et al. (2020), "Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study", *The Lancet infectious diseases*. 20(4), p. 425-434.
141. Sikkema Reina S. et al. (2020), "COVID-19 in health-care workers in three hospitals in the south of the Netherlands: a cross-sectional study", *The Lancet Infectious Diseases*. 20(11), p. 1273-1280.
142. Silveira Mariângela F. et al. (2020), "Population-based surveys of antibodies against SARS-CoV-2 in Southern Brazil", *Nature Medicine*. 26(8), p. 1196-1199.

143. Sim Malcolm R. (2020), The COVID-19 pandemic: major risks to healthcare and other workers on the front line, chủ biên, BMJ Publishing Group Ltd, p. 281-282.
144. Singh Devika and Yi Soojin V. (2021), "On the origin and evolution of SARS-CoV-2", *Experimental & Molecular Medicine*. 53(4), p. 537-547.
145. Slot Ed et al. (2020), "Herd immunity is not a realistic exit strategy during a COVID-19 outbreak".
146. Song Yang et al. (2021), "COVID-19 cases from the first local outbreak of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 variant in China presented more serious clinical features: a prospective, comparative cohort study", *medRxiv*.
147. Starr Tyler N. et al. (2020), "Deep mutational scanning of SARS-CoV-2 receptor binding domain reveals constraints on folding and ACE2 binding", *cell*. 182(5), p. 1295-1310. e20.
148. Stringhini Silvia et al. (2020), "Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study", *The Lancet*. 396(10247), p. 313-319.
149. Sun Chanjuan and Zhai Zhiqiang (2020), "The efficacy of social distance and ventilation effectiveness in preventing COVID-19 transmission", *Sustainable cities and society*. 62, p. 102390.
150. Tanaka Hideo et al. (2021), "Increased transmissibility of the SARS-CoV-2 Alpha variant in a Japanese population", *International journal of environmental research and public health*. 18(15), p. 7752.
151. Team Eurosurveillance Editorial (2020), "Note from the editors: World Health Organization declares novel coronavirus (2019-nCoV) sixth public health emergency of international concern.", *Euro. Surveill*. 25, 200131e.
152. Tian Dandan et al. (2021), "The global epidemic of the SARS-CoV-2 delta variant, key spike mutations and immune escape", *Frontiers in immunology*. 12, p. 751778.
153. USCDC (2023), *SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions*, accessed on 26 Nov-2023, at website <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>.
154. Van Doremalen Neeltje et al. (2020), "Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1", *New England journal of medicine*. 382(16), p. 1564-1567.
155. Van Elslande Jan et al. (2021), "Longitudinal follow-up of IgG anti-nucleocapsid antibodies in SARS-CoV-2 infected patients up to eight months after infection", *Journal of Clinical Virology*. 136, p. 104765.

156. Van Loon Welmoed et al. (2021), "Emergence of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 lineage at outpatient testing site, Berlin, Germany, January–March 2021", *Emerging Infectious Diseases*. 27(7), p. 1931.
157. Vetter Pauline et al. (2020), Clinical features of covid-19, British Medical Journal Publishing Group.
158. Viveiros Anissa et al. (2022), "Sex-and age-specific regulation of ACE2: Insights into severe COVID-19 susceptibility", *Journal of molecular and cellular cardiology*. 164, p. 13-16.
159. Wang Dawei et al. (2020), "Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China", *Jama*. 323(11), p. 1061-1069.
160. Wang Yu et al. (2020), "Reduction of secondary transmission of SARS-CoV-2 in households by face mask use, disinfection and social distancing: a cohort study in Beijing, China", *BMJ global health*. 5(5), p. e002794.
161. Washington Nicole L. et al. (2021), "Emergence and rapid transmission of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 in the United States", *Cell*. 184(10), p. 2587-2594. e7.
162. Whaley Christopher M. et al. (2021), "Assessing the association between social gatherings and COVID-19 risk using birthdays", *JAMA internal medicine*. 181(8), p. 1090-1099.
163. WHO (2020), *Laboratory testing of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases: interim guidance, 17 January 2020*, accessed at website <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330676>.
164. WHO (2020), *Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report-7* accessed on 26 June-2022, at website <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200127-sitrep-7-2019--ncov.pdf>.
165. WHO (2020), *Weekly epidemiological update - 29 December 2020*, accessed on 07 July-2021, at website <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---29-december-2020>.
166. WHO (2022), "Novel Coronavirus Advice for Public".
167. WHO (2022), *Weekly epidemiological update on COVID-19 - 6 July 2022*, accessed on 07 July-2022, at website <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---6-july-2022>.
168. WHO (2023), "COVID-19 weekly epidemiological update, edition 138, 13 April 2023".

169. WHO (2023), *Weekly epidemiological update on COVID-19 - 25 August 2023*, accessed at website: [https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-18-25 August 2023](https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-18-25-August-2023).
170. WHO (2023), *WHO COVID-19 dashboard*, accessed at website <https://data.who.int/dashboards/covid19/variants>.
171. Williams Hermione, Hutchinson Danielle and Stone Haley (2021), "Watching Brief: The evolution and impact of COVID-19 variants B. 1.1. 7, B. 1.351, P. 1 and B. 1.617", *Global Biosecurity*. 3(1).
172. Windsor-Shellard Ben and Butt Asim (2020), "Coronavirus (COVID-19) related deaths by occupation, England and Wales: deaths registered between 9 March and 25 May 2020", *Office for National Statistics, UK. Online, available: https://www.ons.gov.uk* [Accessed 3 February 2021].
173. Wise Jacqui (2021), Covid-19: The E484K mutation and the risks it poses, British Medical Journal Publishing Group.
174. Wölfel Roman et al. (2020), "Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019", *Nature*. 581(7809), p. 465-469.
175. Wordometer (2021), *Coronavirus*, accessed on 7 July-2022, at website <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
176. Wu, Di et al. (2020), "The SARS-CoV-2 outbreak: what we know", *International journal of infectious diseases*. 94, p. 44-48.
177. Wu Fan et al. (2020), "Author Correction: A new coronavirus associated with human respiratory disease in China", *Nature*. 580(7803), p. E7-E7.
178. Wu Zunyou and McGoogan Jennifer M. (2020), "Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention", *Jama*. 323(13), p. 1239-1242.
179. Xu Xin et al. (2020), "Seroprevalence of immunoglobulin M and G antibodies against SARS-CoV-2 in China", *Nature medicine*. 26(8), p. 1193-1195.
180. Yadav Pragya D. et al. (2022), "Neutralization of variant under investigation B. 1.617. 1 with sera of BBV152 vaccinees", *Clinical Infectious Diseases*. 74(2), p. 366-368.
181. Yan Danying et al. (2021), "Characteristics of viral shedding time in SARS-CoV-2 infections: a systematic review and meta-analysis", *Frontiers in public health*. 9, p. 652842.
182. Young Barnaby Edward et al. (2020), "Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore", *Jama*. 323(15), p. 1488-1494.

183. Zhang Hu et al. (2020), "Clinical characteristics of coronavirus disease (COVID-19) patients with gastrointestinal symptoms: A report of 164 cases", *Digestive and Liver Disease*. 52(10), p. 1076-1079.
184. Zhu Huaping et al. (2020), "Clinical analysis of 10 neonates born to mothers with 2019-nCoV pneumonia", *Translational pediatrics*. 9(1), p. 51.
185. Zuckerman Neta S. et al. (2021), "A unique SARS-CoV-2 spike protein P681H variant detected in Israel", *Vaccines*. 9(6), p. 616.
186. Liu Zhuoming et al. (2021), "Identification of SARS-CoV-2 spike mutations that attenuate monoclonal and serum antibody neutralization", *Cell host & microbe*. 29(3), p. 477-488. e4.
187. Moelling Karin (2021), "Within-host and between-host evolution in SARS-CoV-2—new variant's source", *Viruses*. 13(5), p. 751.
188. Wang, Pengfei et al. (2021), "Increased resistance of SARS-CoV-2 variant P. 1 to antibody neutralization", *Cell host & microbe*. 29(5), p. 747-751. e4.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. PHIẾU CUNG CẤP THÔNG TIN

Mã số: CL2 -

Phần I. THÔNG TIN CHUNG

(Anh/chị khoanh tròn vào câu trả lời đúng với mình và điền thông tin vào chỗ trống)

| Câu hỏi | Trả lời | Mã |
|--|--|----|
| Họ và tên (Viết chữ in hoa) | | A1 |
| Năm sinh? (Ghi năm sinh) | | A2 |
| Giới tính | 1. Nữ 2. Nam | A3 |
| Địa chỉ? (ghi rõ địa chỉ) | Thôn/Tổ dân phố Xã/Phường..... Huyện/Quận..... Tỉnh/Thành phố | A4 |
| Quốc tịch? | 1. Việt Nam 2. Khác, ghi rõ..... | A5 |
| Dân tộc? | 1. Dân tộc Kinh 2. Dân tộc Khác, ghi rõ..... | A6 |
| Trình độ học vấn cao nhất? | 1. Tiểu học 2. Trung học cơ sở 3. Trung học phổ thông 4. Cao đẳng/trung cấp/dạy nghề 5. Đại học/Sau đại học | A7 |
| Tình trạng hôn nhân? | 1. Chưa lập gia đình 2. Đã lập gia đình 3. Chưa kết hôn nhưng sống chung 4. Ly thân/ly hôn 5. Góa vợ/chồng 6. Khác, ghi rõ..... | A8 |
| Hiện tại chị có đang mang thai? Nếu có thì mang thai tháng thứ mấy? (Câu hỏi dành cho nữ giới) | 1. Có, tháng thứ..... 2. Không/Không biết | A9 |

Phần II. THÔNG TIN VỀ CÔNG VIỆC, ĐI LẠI, TIẾP XÚC

(Anh/chị khoanh tròn vào lựa chọn của mình)

| Câu hỏi | Trả lời | Mã |
|---|--|-----|
| Anh chị làm việc tại phân xưởng/bộ phận nào? | Ghi rõ | B1 |
| Quá trình làm việc anh/chị có đeo khẩu trang không? | 1. Có → nếu Có, chuyển câu B3 2. Không → nếu Không, chuyển câu B4 | B2 |
| Anh/chị thường sử dụng loại khẩu trang nào trong quá trình làm việc? | 1. Khẩu trang y tế 2. Khẩu trang vải 3. Loại khác, (ghi rõ) | B3 |
| Khoảng cách tại nơi làm việc giữa anh/chị với người khác là bao nhiêu mét? | 1. Dưới 01 mét 2. Từ 01-02 mét 3. Trên 02 mét | B4 |
| Thời gian làm việc mỗi ngày của anh chị là bao nhiêu giờ? | 1. < 8 giờ 2. Từ 8-12 giờ 3. Trên 12 giờ | B5 |
| Anh chị thường làm gì khi được giải lao giữa ca? (anh/chị có thể chọn nhiều phương án trả lời) | 1. Không được giải lao 2. Nói chuyện với đồng nghiệp 3. Đọc tin tức trên điện thoại 4. Đi uống nước tại căn tin 5. Khác, ghi rõ..... | B6 |
| Khi đi làm tại nhà máy, anh chị thường dùng bữa trưa tại đâu? | 1. Tại bếp ăn nhà máy 2. Mang cơm đến ăn tại nơi làm việc 3. Ăn tại quán cơm bên ngoài nhà máy 4. Khác, ghi rõ..... | B7 |
| Nơi anh chị sinh sống? | 1. Nhà riêng 2. Nhà trọ 3. Nhà chung với bố/mẹ/anh/em 4. Khác, ghi rõ..... | B8 |
| Số người sống cùng nhà/nơi ở với anh/chị? |người | B9 |
| Khi đi từ nhà tới nhà máy và từ nhà máy về nhà, anh/chị chủ yếu sử dụng phương tiện nào? | 1. Đi bộ 2. Phương tiện cá nhân (xe đạp/máy/ô tô) 3. Phương tiện công cộng (bus) 4. Xe đưa đón của nhà máy | B10 |
| Trên đường đi làm và về nhà, anh chị có đeo khẩu trang không? | 1. Có đeo 2. Không đeo | B11 |
| Trong một ngày, anh/chị rửa tay bằng xà phòng/nước rửa tay nhanh bao nhiêu lần? | 1. Dưới 5 lần 2. Từ 5-10 lần 3. Trên 10 lần | B12 |

| | | |
|--|--|-----|
| Tại nơi làm việc của anh/chị có trang bị nước rửa tay nhanh/dung dịch sát khuẩn? | <ol style="list-style-type: none"> 1. Có 2. Không | B13 |
| Anh/chị đã từng tiếp xúc hoặc chăm sóc người ốm (có một trong những triệu chứng như sốt, ho, đau họng, khó thở, viêm phổi) từ 01/12/2020 đến nay? | <ol style="list-style-type: none"> 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | B14 |
| Từ 01/12/2020 đến nay, anh/chị có tiếp xúc với người mắc hoặc nghi mắc COVID-19 hay không? | <ol style="list-style-type: none"> 1. Có 2. Không 3. Không biết | B15 |
| Anh/chị tiếp xúc với người mắc hoặc nghi mắc COVID-19 trong những hoàn cảnh nào? (anh/chị có thể chọn nhiều đáp án) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Sống cùng nhà 2. Cùng ăn uống 3. Đi cùng xe ô tô 4. Làm việc cùng phân xưởng, bộ phận 5. Đi du lịch/ công tác cùng nhóm 6. Liên hoan/sinh nhật/đám cưới hỏi 7. Đến thăm gia đình 8. Chăm sóc tại bệnh viện 9. Khác (ghi rõ):..... | B16 |
| Anh/chị được phân loại thành F mấy? | <ol style="list-style-type: none"> 1. F0 - Ca bệnh COVID-19 2. F1 - Người tiếp xúc gần 3. F2 - Người tiếp xúc gần với F1 4. F3,4 | B17 |
| Anh/chị có phải cách ly tập trung không? | <ol style="list-style-type: none"> 1. Có 2. Không -> nếu Không, chuyển câu B20 | B18 |
| Anh/chị phải cách ly tại vị trí nào? (Anh/chị có thể chọn nhiều phương án) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Tại bệnh viện,.....ngày 2. Tại khu cách ly tập trung,.....ngày 3. Tại gia đình,.....ngày 4. Vị trí khác,.....ngày | B19 |
| Từ 01/12/2020 đến nay, anh/chị đã tham gia những sự kiện nào sau đây? (Anh/chị có thể chọn nhiều phương án) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Đám cưới, ăn hỏi 2. Liên hoan nhóm 3. Đám hiếu 4. Đi họp phụ huynh 5. Đi thăm người ốm tại bệnh viện 6. Khác, ghi rõ..... | B20 |

Phần III. TIỀN SỬ, BỆNH SỬ

1. Tiền sử

(Khoanh tròn vào câu trả lời của anh/chị 1 hoặc 2 hoặc 3).

| Câu hỏi | Câu trả lời | Mã |
|--|---|----|
| Anh/chị đã từng hoặc đang mắc bệnh nào dưới đây? | | C1 |
| Sốt xuất huyết | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Ung thư | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Tiểu đường | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Tăng huyết áp | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| HIV/AIDS | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Bệnh tim mạn tính | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Hen suyễn (cần dùng thuốc) | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Bệnh phổi mạn tính | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Bệnh gan mạn tính | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Bệnh về máu mạn tính | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Bệnh thận mạn tính | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Bệnh mạn tính khác | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | |
| Trong vòng 12 tháng trở lại đây, anh/chị có hút thuốc lá hay không? | 1. Có 2. Không 3. Không biết/ không nhớ | C2 |

2. Bệnh sử (Khoanh tròn vào câu trả lời của anh/chị- 1 hoặc 2 hoặc 3)

Từ 01/12/2020 đến nay, anh/chị đã từng xuất hiện triệu chứng nào dưới đây?

| Triệu chứng | Câu trả lời | Mã |
|--------------------------------|-----------------------------|-----|
| Sốt (>37 ⁰ C) | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D1 |
| Ớn lạnh | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D2 |
| Mệt mỏi | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D3 |
| Đau cơ, đau khớp | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D4 |
| Ho | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D5 |
| Đau rát họng | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D6 |
| Khó thở | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D7 |
| Đau tức ngực | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D8 |
| Chảy nước mũi/ngạt mũi/hắt hơi | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D9 |
| Đau đầu | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D10 |
| Chóng mặt | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D11 |
| Mất ngủ/ mất vị giác | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D12 |
| Đau bụng | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D13 |
| Buồn nôn/nôn | 1. Có 2. Không 3. Không nhớ | D14 |

| | | | | |
|---|--|----------|--------------|-----|
| Tiêu chảy | 1. Có | 2. Không | 3. Không nhớ | D15 |
| Ngứa mắt | 1. Có | 2. Không | 3. Không nhớ | D16 |
| Chảy nước mắt | 1. Có | 2. Không | 3. Không nhớ | D17 |
| Đau mắt | 1. Có | 2. Không | 3. Không nhớ | D18 |
| Khi có (các) triệu chứng nêu trên, anh/chị có phải đi đến cơ sở y tế/bệnh viện để khám hoặc điều trị? | 1. Có, khoảng.....lần (ghi số lần đi khám) | 2. Không | 3. Không nhớ | D19 |

3. THÔNG TIN XÉT NGHIỆM

| Câu hỏi | Câu trả lời | Mã |
|---|---|----|
| Kết quả xét nghiệm RT-PCR (Câu hỏi dành cho người được công bố là ca bệnh COVID-19) | | |
| Anh/chị đã từng được xét nghiệm DƯƠNG TÍNH với COVID-19? | 1. Có 2. Không -> KẾT THÚC | E1 |
| Nếu đã được xét nghiệm, tổng số lần xét nghiệm COVID-19 của anh/chị tính đến nay? | Xét nghiệm..... lần | E2 |
| Anh/chị được xét nghiệm DƯƠNG TÍNH lần đầu tiên ngày nào? | 1. Ngày...../...../2021 2. Không nhớ | E3 |
| Anh/chị được điều trị tại bệnh viện nào? | Ghi rõ,..... | E4 |
| Ngày anh/chị được xét nghiệm ÂM TÍNH ? | 1. Ngày...../...../2021 2. Không nhớ | E5 |
| Kết quả xét nghiệm ELISA (Dành cho nhóm nghiên cứu) | | |
| Ngày xét nghiệm ELISA lần 1 | Ngày...../...../2021 | E6 |
| Kết quả xét nghiệm lần 1 | | E7 |
| Ngày xét nghiệm ELISA lần 2 | Ngày...../...../2021 | E8 |
| Kết quả xét nghiệm lần 2 | | E9 |

Xin chân thành cảm ơn anh/chị đã trả lời phỏng vấn./.

Phụ lục 2
GIẤY CHẤP THUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG
Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học
IRB -VN01057/ IORG 0008555
No: HĐDD - 20/2022

Hà Nội, ngày 28 tháng 10 năm 2022

GIẤY CHỨNG NHẬN
Chấp thuận của Hội đồng đạo đức cơ sở

Hồ sơ mới

Hồ sơ chỉnh sửa

Hồ sơ gia hạn

Đề cương sau đây đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương xem xét và chấp thuận theo Quy tắc chung và các quy định của pháp luật hiện hành về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học.

- Tên nghiên cứu: Một số đặc điểm dịch tễ, yếu tố liên quan và căn nguyên vi rút của vụ dịch Covid-19 tại Nhà máy POYUN tỉnh Hải Dương, năm 2021.
- Chủ nhiệm đề tài: NCS. Phan Tân Dân
- Tổ chức chủ trì: Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương
- Địa điểm triển khai: Nhà máy POYUN (Chí Linh, Hải Dương), các cơ sở điều trị bệnh nhân COVID-19 của tỉnh Hải Dương.
- Đối tượng: Ca bệnh COVID-19, các trường hợp tiếp xúc gần và đối tượng nguy cơ khác.
cỡ mẫu: 1.183 đối tượng.
- Thời gian nghiên cứu: 01/2021 – 12/2023
- Các tài liệu sau đây đã được chấp thuận để sử dụng trong nghiên cứu:

| TT | Tên tài liệu | Phiên bản | Ngày |
|----|---------------------|-----------|------------|
| 1. | Đề cương nghiên cứu | 01 | 28/10/2022 |

Giấy chứng nhận có giá trị từ ngày ký đến ngày 28 tháng 10 năm 2023. *duy*

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

GS. TS. Vũ Sinh Nam



PHÓ VIỆN TRƯỞNG

Trần Như Dương

Phụ lục 3

PHIẾU CUNG CẤP THÔNG TIN CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Tên nghiên cứu: Một số đặc điểm dịch tễ học và huyết thanh học của vụ dịch COVID-19 ở nhà máy POYUN tỉnh Hải Dương, tháng 01/2021 - 05/2021.

Phiên bản: 1.0

Ngày: 14/3/2021

Đơn vị chủ trì: Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, số 1 Yecxanh, Hà Nội, Việt Nam

Nghiên cứu viên chính:

I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU

1. Mục đích tiến hành nghiên cứu

Như anh/chị đã biết hiện nay dịch bệnh Viêm đường hô hấp cấp do chủng mới của vi rút Corona (COVID-19) đang xuất hiện và lây lan nhanh trên địa bàn thành phố Chí Linh nói riêng, tỉnh Hải Dương nói chung. Ngành y tế Hải Dương đang thực hiện rất quyết liệt các biện pháp để kiểm soát dịch, trong đó có các hoạt động xét nghiệm để sàng lọc ra những người đã bị nhiễm vi rút hoặc đã từng nhiễm trước đây. Việc này sẽ giúp tìm ra nguồn gốc nơi xuất phát của vi rút và có ý nghĩa rất quan trọng cho công tác phòng, chống dịch tại Hải Dương cũng như các địa phương khác trên cả nước. Dựa trên các mẫu thu thập từ anh/chị thì Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương sẽ thực hiện thêm một số xét nghiệm và phân tích để tìm ra nguồn gốc của vi rút, xác định các khu vực có nguy cơ cao của bệnh, và xác định những người có nguy cơ mắc bệnh cao hơn những người khác. Do đó, chúng tôi cung cấp thêm thông tin để anh/chị hiểu về những gì chúng tôi sẽ làm trên mẫu anh/chị sẽ cung cấp cho cơ quan y tế tỉnh Hải Dương. Ngoài ra, chúng tôi cũng sẽ hỏi thêm một số thông tin để có thể phân tích sâu hơn. Ngoài anh/chị sẽ có khoảng 2.000 người nữa tại Nhà máy được cung cấp thông tin và đưa vào nghiên cứu.

2. Các bước tiến hành

Anh/chị sẽ được cung cấp thông tin về nghiên cứu.

Các mẫu bệnh phẩm anh/chị sẽ được lấy theo đề nghị của Trung tâm y tế thành phố Chí Linh và CDC tỉnh Hải Dương cho xét nghiệm sàng lọc COVID-19.

Chúng tôi sẽ hỏi thêm anh/chị một số câu hỏi thông qua một phiếu câu hỏi tự điền. Kết quả xét nghiệm sàng lọc và khẳng định (sinh học phân tử trên mẫu dịch họng) sẽ được các đơn vị y tế Hải Dương thực hiện và trả kết quả theo quy định của tỉnh. Kết quả xét nghiệm từ nghiên cứu này (xét nghiệm huyết thanh học trên mẫu máu) sẽ không được trả lại cho từng người tham gia nghiên cứu mà sẽ được sử dụng để phân tích tổng thể và đưa ra kết luận cho toàn bộ 2.000 người tham gia nghiên cứu và khuyến nghị cho công tác kiểm soát dịch tại Hải Dương cũng như các địa phương khác trên cả nước.

3. Các nguy cơ và bất lợi khi tham gia nghiên cứu này

Việc tham gia nghiên cứu này không làm tăng thêm nguy cơ cho anh/chị so với các hoạt động đang thực hiện bởi ngành y tế thành phố Hải Dương. Vì cho dù có tham gia nghiên cứu này hay không thì anh/chị vẫn được đề nghị cung cấp mẫu dịch họng và mẫu máu theo đề nghị của ngành y tế địa phương. Việc chúng tôi làm thêm trong nghiên cứu này chỉ là lấy thêm một số thông tin và thực hiện thêm xét nghiệm trên các mẫu anh/chị sẽ cung cấp cho ngành y tế địa phương.

4. Quyền lợi của người tham gia nghiên cứu

Tất cả các xét nghiệm nghiên cứu tiến hành cho anh/chị đều miễn phí.

5. Bồi thường/điều trị khi có tổn thương liên quan đến nghiên cứu:

Mặc dù nghiên cứu này không làm tăng thêm nguy cơ, nhưng nếu có tổn hại sức khỏe được xác định là gây ra bởi nghiên cứu, anh/chị và/hoặc con của anh/chị sẽ được chăm sóc y tế miễn phí cho những tổn hại sức khỏe đó.

6. Người liên hệ:

Nếu có bất cứ câu hỏi nào trong quá trình tham gia nghiên cứu, anh/chị có thể liên hệ: Điện thoại.

Hoặc Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương. Thư ký Hội đồng: PGS.TS Nguyễn Thị Thùy Dương, SĐT: 0243.9721.923.

8. Tính bảo mật thông tin

Anh/chị sẽ được cấp một mã số nghiên cứu, mã số này sẽ được sử dụng thay cho tên trong các tài liệu nghiên cứu và số liệu phân tích.

Thông tin của anh/chị sẽ được bảo mật tuyệt đối và sẽ không được chia sẻ với ai ngoài thành viên nhóm nghiên cứu. Kết quả của nghiên cứu sẽ được công bố vì những mục đích có lợi cộng đồng và khoa học. Chúng tôi sẽ công bố kết quả nghiên cứu trên các tạp chí khoa học hay qua các bài trình bày tại các hội thảo. Tuy nhiên, thông tin cá nhân của anh/chị sẽ không xuất hiện trên bất kỳ ấn phẩm hay bài trình bày nào. Chúng tôi sẽ lưu giữ các biểu mẫu nghiên cứu có chứa thông tin cá nhân của anh/chị ở nơi bảo mật. Chỉ những người làm việc trong nghiên cứu được phép xem các biểu mẫu này. Chúng tôi sẽ giữ các mẫu này phục vụ nghiên cứu trong tối đa 10 năm dưới sự giám sát của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học./.

Phụ lục 4
PHIẾU CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU HUYẾT THANH HỌC
SARS-COV-2 TẠI NHÀ MÁY POYUN - TỈNH HẢI DƯƠNG

Mã đối tượng: **CL2 -**

Tôi đồng ý

Xác nhận rằng:

- Tôi đã đọc và hiểu các thông tin được cung cấp về khảo sát này. Tôi đã được các cán bộ khảo sát giải thích về khảo sát này và các thủ tục tuyển chọn vào cuộc khảo sát.
- Tôi đã có cơ hội được hỏi các câu hỏi về khảo sát này và tôi hài lòng với các câu trả lời và giải thích đưa ra. Tôi biết cần liên hệ với ai nếu có thêm bất kỳ thắc mắc nào.
- Tôi đã có thời gian và cơ hội để cân nhắc tham gia vào khảo sát này.
- Tôi đã nhận được bản cung cấp thông tin có các thông tin về khảo sát này.
- Tôi hiểu rằng tôi có quyền rút khỏi khảo sát vào bất cứ thời điểm nào vì bất cứ lý do gì. Tôi hiểu rằng tôi không từ bỏ bất cứ quyền hợp pháp nào khi ký tên vào Phiếu chấp thuận tham gia khảo sát này.
- Tôi hiểu rằng các đại diện của Nhà tài trợ, và người đại diện được ủy quyền của họ, kiểm toán viên và các cơ quan quản lý trong nước và nước ngoài có thể xem xét các phần trong hồ sơ y tế của tôi có liên quan tới việc tôi tham gia khảo sát này. Tôi cho phép các cá nhân này có quyền tiếp cận hồ sơ y tế của tôi.
- Tôi đồng ý cho phép thu thập và chuyển giao dữ liệu cá nhân đã được mã hóa của tôi bao gồm các dữ liệu nhạy cảm như giới tính, chủng tộc, nguồn gốc sắc tộc và sức khỏe cho Nhà tài trợ và cho các cơ quan quản lý nếu phù hợp. Tôi đồng ý cho phép lưu trữ dữ liệu cá nhân đã được mã hóa của tôi.
- Tôi đồng ý cho phép thu thập và sử dụng các thông tin về tình trạng sức khỏe, kết quả xét nghiệm; và mẫu sinh học của tôi cho các mục đích của khảo sát này.
- Tôi đã nhận thức được rằng những thông tin về khảo sát này có thể được xuất bản trong các tạp chí y học và trang web công cộng để phục vụ cho mục đích khoa học, nhưng những thông tin nhận dạng về tôi đều được giấu kín.

- Tôi đồng ý tham gia vào khảo sát này.
- Tôi sẽ được nhận một bản gốc của Phiếu chấp thuận đã ký này.

Người tham gia vào khảo sát:

Họ và tên người tình nguyện _____

Chữ ký _____

Thời gian ký: Hồigiờ.....phút, ngày/...../2021

Phần dành cho điều tra viên

Tôi đã cung cấp các thông tin cho người tình nguyện tham gia khảo sát về bản chất và mục đích của khảo sát, và những rủi ro cũng như lợi ích liên quan đến việc tham gia vào khảo sát. Tôi đã giải đáp bất kỳ thắc mắc nào của (các) cá nhân này và chúng tôi luôn luôn sẵn sàng giải đáp các thắc mắc của họ trong tương lai. Tôi cũng chứng nhận rằng chúng tôi không tiến hành bất cứ quy trình khảo sát nào của đề cương này cho tới sau khi ký phiếu chấp thuận này.

Chữ ký và họ tên của điều tra viên: _____

Ngày ký:

Phụ lục 5
DANH SÁCH 182 CA BỆNH COVID-19

| TT | Mã NC | Giới | Năm sinh | Huyện | Tỉnh |
|-----------|--------------|-------------|-----------------|--------------|-------------|
| 1 | CL2-0002 | Nu | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 2 | CL2-0007 | Nu | 1986 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 3 | CL2-0013 | Nu | 1993 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 4 | CL2-0017 | Nu | 1996 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 5 | CL2-0021 | Nu | 2001 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 6 | CL2-0052 | Nam | 1996 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 7 | CL2-0056 | Nu | 1995 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 8 | CL2-0287 | Nam | 1999 | Kim_Thanh | Hai_Duong |
| 9 | CL2-0312 | Nu | 2001 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 10 | CL2-0323 | Nam | 1993 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 11 | CL2-0325 | Nam | 1988 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 12 | CL2-0330 | Nam | 1994 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 13 | CL2-0334 | Nam | 1995 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 14 | CL2-0338 | Nam | 1997 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 15 | CL2-0344 | Nu | 1984 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 16 | CL2-0349 | Nu | 1995 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 17 | CL2-1467 | Nu | 1987 | Kim_Thanh | Hai_Duong |
| 18 | CL2-1469 | Nu | 1989 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 19 | CL2-1471 | Nam | 1987 | Kim_Thanh | Hai_Duong |
| 20 | CL2-1473 | Nam | 1982 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 21 | CL2-1475 | Nam | 1981 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 22 | CL2-1476 | Nam | 1996 | Kim_Thanh | Hai_Duong |
| 23 | CL2-1477 | Nu | 1971 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 24 | CL2-1480 | Nu | 1994 | Kinh_Mon | Hai_Duong |

| | | | | | |
|----|----------|-----|------|--------------|------------|
| 25 | CL2-1483 | Nu | 1997 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 26 | CL2-1485 | Nam | 1990 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 27 | CL2-1490 | Nu | 1988 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 28 | CL2-1491 | Nu | 1986 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 29 | CL2-1496 | Nu | 1977 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 30 | CL2-1500 | Nu | 1982 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 31 | CL2-1501 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 32 | CL2-1503 | Nu | 1990 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 33 | CL2-1507 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 34 | CL2-1510 | Nu | 1991 | Tp.Hai_Duong | Hai_Duong |
| 35 | CL2-1514 | Nu | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 36 | CL2-1516 | Nu | 1983 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 37 | CL2-1518 | Nu | 1986 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 38 | CL2-1520 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 39 | CL2-1521 | Nu | 1986 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 40 | CL2-1523 | Nu | 1989 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 41 | CL2-1524 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 42 | CL2-1525 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 43 | CL2-1529 | Nu | 1984 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 44 | CL2-1530 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 45 | CL2-1534 | Nam | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 46 | CL2-1537 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 47 | CL2-1540 | Nam | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 48 | CL2-1542 | Nu | 2002 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 49 | CL2-1543 | Nu | 1980 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 50 | CL2-1547 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 51 | CL2-1549 | Nam | 1999 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 52 | CL2-1552 | Nu | 1985 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |

| | | | | | |
|----|----------|-----|------|------------|------------|
| 53 | CL2-1558 | Nu | 2001 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 54 | CL2-1568 | Nam | 1990 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 55 | CL2-1569 | Nu | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 56 | CL2-1575 | Nu | 1991 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 57 | CL2-1581 | Nam | 1983 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 58 | CL2-1584 | Nam | 1998 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 59 | CL2-1662 | Nu | 1994 | Kim_Thanh | Hai_Duong |
| 60 | CL2-1673 | Nu | 1989 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 61 | CL2-1674 | Nam | 1996 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 62 | CL2-1675 | Nam | 1999 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 63 | CL2-1679 | Nam | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 64 | CL2-1686 | Nu | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 65 | CL2-1687 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 66 | CL2-1696 | Nu | 1991 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 67 | CL2-1698 | Nu | 1993 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 68 | CL2-1699 | Nu | 1997 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 69 | CL2-1705 | Nu | 1996 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 70 | CL2-1730 | Nu | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 71 | CL2-1732 | Nu | 1990 | Khoai_Chau | Hung_Yen |
| 72 | CL2-1735 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 73 | CL2-1736 | Nu | 2000 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 74 | CL2-1748 | Nu | 1986 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 75 | CL2-1764 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 76 | CL2-1784 | Nu | 2002 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 77 | CL2-1787 | Nu | 1987 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 78 | CL2-1795 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 79 | CL2-1806 | Nu | 1982 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 80 | CL2-1821 | Nu | 1987 | Chi_Linh | Hai_Duong |

| | | | | | |
|-----|----------|-----|------|------------|-------------|
| 81 | CL2-1911 | Nu | 1986 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 82 | CL2-1923 | Nu | 1984 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 83 | CL2-1925 | Nu | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 84 | CL2-1930 | Nu | 1985 | Dong_Hy | Thai_Nguyen |
| 85 | CL2-1949 | Nu | 1987 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 86 | CL2-1956 | Nu | 2000 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 87 | CL2-1959 | Nu | 1990 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 88 | CL2-2014 | Nu | 2000 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 89 | CL2-2047 | Nu | 1994 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 90 | CL2-2048 | Nu | 1982 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 91 | CL2-2081 | Nam | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 92 | CL2-2114 | Nu | 1983 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 93 | CL2-2182 | Nu | 1981 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 94 | CL2-2189 | Nu | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 95 | CL2-2192 | Nu | 1986 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 96 | CL2-2196 | Nu | 1993 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 97 | CL2-2200 | Nu | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 98 | CL2-2224 | Nu | 1983 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 99 | CL2-2236 | Nam | 1993 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 100 | CL2-2238 | Nu | 1992 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 101 | CL2-2249 | Nu | 1988 | Thanh_Ha | Hai_Duong |
| 102 | CL2-2264 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 103 | CL2-2291 | Nu | 2001 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 104 | CL2-2302 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 105 | CL2-2308 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 106 | CL2-2312 | Nu | 1996 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 107 | CL2-2315 | Nu | 2000 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 108 | CL2-2320 | Nu | 2000 | Chi_Linh | Hai_Duong |

| | | | | | |
|-----|----------|-----|------|------------|------------|
| 109 | CL2-2323 | Nu | 1989 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 110 | CL2-2330 | Nu | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 111 | CL2-2334 | Nu | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 112 | CL2-2378 | Nu | 1983 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 113 | CL2-2395 | Nu | 1997 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 114 | CL2-2425 | Nam | 1996 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 115 | CL2-2433 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 116 | CL2-2437 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 117 | CL2-2439 | Nam | 1994 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 118 | CL2-2456 | Nu | 1993 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 119 | CL2-2467 | Nu | 1994 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 120 | CL2-2485 | Nu | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 121 | CL2-2518 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 122 | CL2-2524 | Nu | 1986 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 123 | CL2-2542 | Nu | 1983 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 124 | CL2-2543 | Nu | 1993 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 125 | CL2-2551 | Nu | 1984 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 126 | CL2-2553 | Nu | 1981 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 127 | CL2-2590 | Nu | 1990 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 128 | CL2-2596 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 129 | CL2-2620 | Nam | 1994 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 130 | CL2-2627 | Nu | 1987 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 131 | CL2-2628 | Nu | 1985 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 132 | CL2-2641 | Nu | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 133 | CL2-2643 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 134 | CL2-2645 | Nu | 1990 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 135 | CL2-2646 | Nu | 1999 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 136 | CL2-2650 | Nu | 1990 | Chi_Linh | Hai_Duong |

| | | | | | |
|-----|----------|-----|------|------------|------------|
| 137 | CL2-2658 | Nam | 1997 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 138 | CL2-2666 | Nam | 1995 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 139 | CL2-2668 | Nu | 1988 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 140 | CL2-2674 | Nu | 1997 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 141 | CL2-2684 | Nam | 2000 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 142 | CL2-2685 | Nu | 1984 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 143 | CL2-2687 | Nam | 1997 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 144 | CL2-2691 | Nu | 2002 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 145 | CL2-2693 | Nu | 1976 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 146 | CL2-2700 | Nu | 1991 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 147 | CL2-2746 | Nam | 2002 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 148 | CL2-2747 | Nu | 2001 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 149 | CL2-2751 | Nam | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 150 | CL2-2754 | Nam | 1998 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 151 | CL2-2781 | Nam | 2001 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 152 | CL2-2814 | Nu | 2001 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 153 | CL2-2850 | Nu | 1994 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 154 | CL2-2853 | Nu | 1993 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 155 | CL2-2954 | Nu | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 156 | CL2-2962 | Nu | 1982 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 157 | CL2-2982 | Nu | 2002 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 158 | CL2-3034 | Nu | 1980 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 159 | CL2-3159 | Nam | 1996 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 160 | CL2-3167 | Nam | 2001 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 161 | CL2-3171 | Nu | 1989 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |
| 162 | CL2-3180 | Nam | 1991 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 163 | CL2-3194 | Nam | 1988 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 164 | CL2-3203 | Nam | 1991 | Dong_Trieu | Quang_Ninh |

| | | | | | |
|-----|----------|-----|------|----------|-----------|
| 165 | CL2-3212 | Nam | 1999 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 166 | CL2-3231 | Nu | 1995 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 167 | CL2-3235 | Nu | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 168 | CL2-3263 | Nu | 1994 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 169 | CL2-3265 | Nu | 1991 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 170 | CL2-3273 | Nu | 1985 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 171 | CL2-3287 | Nu | 1990 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 172 | CL2-3295 | Nam | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 173 | CL2-3300 | Nam | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 174 | CL2-3308 | Nam | 1997 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 175 | CL2-3366 | Nam | 1993 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 176 | CL2-3370 | Nam | 1983 | Kinh_Mon | Hai_Duong |
| 177 | CL2-3377 | Nam | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 178 | CL2-3386 | Nam | 1991 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 179 | CL2-3397 | Nu | 1974 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 180 | CL2-3401 | Nam | 1978 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 181 | CL2-3416 | Nu | 1992 | Chi_Linh | Hai_Duong |
| 182 | CL2-5487 | Nu | 1989 | Chi_Linh | Hai_Duong |

Phụ lục 6

QUY TRÌNH REALTIME RT-PCR CHẨN ĐOÁN SARS-COV-2

1. Mục đích

Quy trình xét nghiệm chẩn đoán SARS-Cov-2 (COVID-19) đưa ra tiêu chuẩn xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền SARS-Cov-2 bằng phương pháp chẩn đoán phân tử Realtime RT-PCR.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình xét nghiệm này được áp dụng cho việc xác định SARS-Cov-2 trong mẫu bệnh phẩm đường hô hấp trên và đường hô hấp dưới (dịch họng, dịch tỵ hầu, dịch mũi, dịch nội khí quản...)

3. Nguyên lý

Dựa trên xét nghiệm phát hiện vật liệu di truyền bằng phương pháp sinh học phân tử. ARN tổng số được tách từ mẫu bệnh phẩm lâm sàng nghi nhiễm SARS-Cov-2. Sau đó, ARN được cho vào hỗn hợp sinh phẩm RT-PCR với mỗi, probe đặc hiệu để khuếch đại đoạn gen đích cần phát hiện trên gen E (gen vỏ - Envelop), gen RdRp (Polymerase) và gene N (Nucleocapsid). Phương pháp này sử dụng một mẫu dò phát huỳnh quang (probe) có khả năng phát hiện sản phẩm PCR đặc hiệu trong quá trình tổng hợp sản phẩm

4. Hoá chất, sinh phẩm, thiết bị

4.1. Hóa chất

- Cồn tuyệt đối

4.2. Sinh phẩm

- **QIAamp viral RNA mini kit:** Qiagen-52904: 50 test hoặc 52906: 250 test

- **SuperScript™III Platium One-Step:** sinh phẩm dùng trong phản ứng realtime RT-PCR

+ SuperScript™III RT/Platinum Taq Mix (100ul)

+ 2x Reagent mix (chứa 0.4uM mỗi loại dNTP và 6mM MgSO₄)

+ 50mM MgSO₄ (1ml)

+ ROX Reference Dye (100ul)

+ Nước cất tinh sạch

- Bộ môi cho phản ứng:

| STT | Tên môi | | Trình tự |
|-----|-----------|---------------|--|
| 1 | RdRP gene | RdRP_SARSr-F2 | GTGARATGGTCATGTGTGGCGG |
| | | RdRP_SARSr-R1 | CARATGTTAAASACACTATTAGCATA |
| | | RdRP_SARSr-P2 | FAM- CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC- BBQ |
| 2 | E gene | E_Sarbeco_F1 | ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT |
| | | E_Sarbeco_R2 | ATATTGCAGCAGTACGCACACA |
| | | E_Sarbeco_P1 | FAM- ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG- BBQ |
| 3 | N gene | N_Sarbeco_F1 | CACATTGGCACCCGCAATC |
| | | N_Sarbeco_R2 | GAGGAACGAGAAGAGGCTTG |
| | | N_Sarbeco_P1 | FAM- ACTTCCTCAAGGAACAACATTGCCA- BBQ |

W is A/T; R is G/A; M is A/C ; FAM, 6-carboxyfluorescein; BBQ, blackberry quencher

4.3. Chứng chuẩn

- Chứng dương (Positive control – POS): Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương
- Chứng âm (No Template Control - NTC): sử dụng nước cất
- Chứng âm tách chiết (Negative Extraction Control – NEC): sử dụng môi trường vận chuyển sạch và được tách chiết cùng với mẫu bệnh phẩm.

4.4. Dụng cụ lấy mẫu

- Dụng cụ cho lấy mẫu
- + Dây nhựa mềm cho thu thập dịch đường hô hấp dưới (nếu có)
- + Tấm bông cán mềm và cán cứng vô trùng
- + Đè lưới
- + Tuýp 15ml hình chóp (chứa 2-3ml môi trường vận chuyển)

- + Túi/hộp để đóng gói bệnh phẩm
- + Băng, gạc có tẩm chất sát trùng
- + Trang phục bảo hộ (quần áo mũ giày khẩu trang...)
- + Bình lạnh bảo quản mẫu
- + Bơm tiêm 5 ml, vô trùng
- + Tuýp 5ml lấy máu (không có chất chống đông)
- + Dây garo, bông, cồn búp ghi ...
- + Găng tay, khẩu trang (N95)
- Dụng cụ cho xét nghiệm
- + Tuýp 0.1 hoặc 0.2 ml có nắp dành cho realtime RTPCR
- + Tuýp 1.5 ml vô trùng
- + Tuýp 2.0 ml vô trùng
- + Tuýp 2.0 ml bảo quản mẫu ở -20°C

5. Quy trình xét nghiệm

5.1. Quy trình xử lý mẫu ban đầu (Tách chiết ARN)

5.1.1. Chuẩn bị sinh phẩm

- Đệm AW1

- + Thêm 125 ml Ethanol (96-100%) vào chai đệm AW1 chứa 95ml AW1.
- + Đánh dấu trên nắp chai đã thêm ethanol và ghi ngày tháng năm chuẩn bị đệm AW1 trên chai.

- + Bảo quản ở nhiệt độ phòng theo hạn sử dụng của kit tách chiết.

- Đệm AW2

- + Thêm 160 ml ethanol 96 - 100% vào chai AW2 chứa 66ml AW2.
- + Đánh dấu trên nắp chai đã thêm ethanol và ghi ngày, tháng, năm chuẩn bị đệm AW2 trên chai.

- + Bảo quản ở nhiệt độ phòng theo hạn sử dụng của kit tách chiết.

5.1.2. Tách chiết mẫu

(1) Kiểm tra độ đồng nhất 560 µl đệm AVL có chứa chất mang ARN trong tuýp 2 ml.

(2) Thêm 140 µl mẫu vào 560 µl dung dịch ly giải vi rút AVL có chất mang ARN

(3) Trộn bằng máy trộn khoảng 15 giây, để tạo một hỗn dịch đồng nhất giữa mẫu và đệm AVL, ủ ở nhiệt độ phòng 10 phút đảm bảo các hạt vi rút bị ly giải hoàn toàn, ARN của vi rút bị ly giải được gắn vào chất mang ARN.

(4) Ly tâm nhanh tuýp hỗn hợp khoảng 10 giây bằng máy ly tâm MICROFUGE để tất cả các dung dịch không dính trên nắp tuýp. Thêm 560µl Ethanol (96-100%) vào mỗi tuýp, trộn đều bằng máy trộn trong 15 giây, Ethanol sẽ rửa các sợi ARN.

(5) Ly tâm nhanh khoảng 10 giây.

(6) Cho 630 µl hỗn dịch trên vào cột QIAamp, ly tâm 8.000 vòng trong 1 phút. Tất cả ARN sẽ được gắn trên bề mặt màng Silicagel với sự có mặt của chất mang ARN. Chuyển cột sang tuýp 2ml mới.

(7) Mở nắp cột QIAamp, lặp lại bước 6.

(8) Mở nắp cột QIAamp, thêm 500µl đệm AW1. Đóng nắp và ly tâm 8.000 vòng trong 1 phút. Chuyển cột spin sang tuýp 2ml sạch và loại bỏ tuýp có chứa dịch lọc. AW 1 có tác dụng loại bỏ các thành phần không phải là ARN có trên mặt màng Silicagel.

(9) Mở nắp cột QIAamp, thêm 500µl đệm AW2. Đóng nắp và ly tâm trong khoảng từ 12.000 vòng đến 14.000 vòng trong 3 phút. Chuyển cột QIAamp sang tuýp 2ml sạch và loại bỏ tuýp có chứa dịch lọc. Và ly tâm thêm 1 phút ở tốc độ từ 12.000 vòng đến 14.000 vòng để loại bỏ hoàn toàn đệm AW2.

(10) Chuyển cột spin QIAamp vào tuýp ly tâm sạch 1.5ml và loại bỏ tuýp chứa dịch lọc cũ.

(11) Mở nắp cột spin QIAamp, thêm 60µl đệm AVE và ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút. Ly tâm 8.000 vòng trong 1 phút để toàn bộ ARN tách khỏi màng Silicagel. Sau khi ly tâm toàn bộ ARN của mẫu sẽ được thu hồi trong dịch lọc.

(12) Lưu giữ ở -20°C hoặc -80°C trong thời gian 6 tháng.

5.2. Phản ứng Realtime RT-PCR

5.2.1. Thành phần phản ứng

Gene E

| Sinh phẩm | Thể tích 1 mẫu (uL) | Số lượng phản ứng (N) | Thể tích cần pha |
|----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| 2x Reaction Mix | 12.5 | 12.5xN | |
| MgSO4 | 0.4 | 0.4xN | |
| Môi xuôi, 10uM (E_Sarbeco_F1) | 1 | 1.0xN | |

| | | |
|-----------------------------------|-----------|--------|
| Môi ngược, 10uM (E_Sarbeco_R2) | 1 | 1.0 xN |
| Probe, 10 uM (E_Sarbeco_P1) | 0.5 | 0.5xN |
| SSIII/Taq EnzymeMix | 1 | 1.0xN |
| Nước cất tinh sạch | 3.6 | 3.6xN |
| ARN mẫu | 5 | |
| Tổng số | 25 | |

Gene RdRp và N

| Sinh phẩm | Thể tích 1 mẫu (uL) | Số lượng phản ứng (N) | Thể tích cần pha |
|---------------------|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| 2x Reaction Mix | 12.5 | 12.5xN | |
| MgSO4 | 0.4 | 0.4xN | |
| Môi xuôi, 10uM | 1.5 | 1.5xN | |
| Môi ngược, 10uM | 2.0 | 2.0 xN | |
| Probe, 10uM | 0.5 | 0.5xN | |
| SSIII/Taq EnzymeMix | 1 | 1.0xN | |
| Nước cất tinh sạch | 2.1 | 2.1xN | |
| ARN mẫu | 5 | | |
| Tổng số | 25 | | |

Môi gen RdRp (RdRP_SARSr-F2, RdRP_SARSr-R1, RdRP_SARSr-P2)

Môi gen N (N_Sarbeco_F1, N_Sarbeco_R2, N_Sarbeco_P1)

5.2.2. Chu kỳ nhiệt

| Nhiệt độ (°C) | Thời gian | Chu kỳ lặp |
|----------------------|------------------|-------------------|
| 55 | 10:00 | |
| 94 | 03:00 | |
| 94 | 0:15 | } x 45 chu kì |
| 58 | 0:30 | |

5.2.3. Nhận định kết quả

- Kết quả được chấp nhận khi:

+ Chứng âm: không có tín hiệu huỳnh quang.

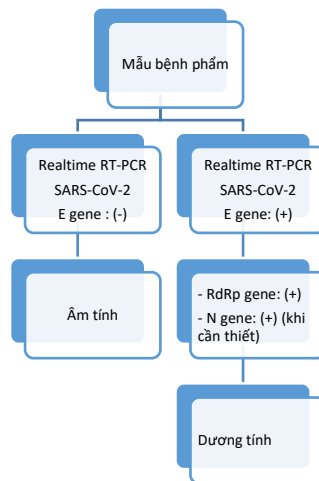
+ Chứng âm tách chiết: không có tín hiệu huỳnh quang.

+ Chứng dương: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận trước hoặc tại chu kỳ thứ 35 của phản ứng.

- Mẫu dương tính: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận trước hoặc tại chu kỳ thứ 37 của phản ứng.

- Mẫu âm tính: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận tại hoặc sau chu kỳ thứ 40 của phản ứng.

- Mẫu nghi ngờ: tín hiệu huỳnh quang được thu nhận sau chu kỳ 37 và trước chu kỳ 40 của phản ứng.



6. Tài liệu tham khảo

1. QIAamp Viral RNA Mini Handbook, 2016.
2. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR (Berlin Jan 13th, 2020).
3. Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR (Berlin, Jan 17th 2020).

Phụ lục 7

QUY TRÌNH GIẢI TRÌNH TỰ GEN VI RÚT SARS-COV-2

1. Mục đích

Quy trình giải trình tự gen SARS-CoV-2 thực hiện với mục đích xác định đặc tính di truyền học của SARS-CoV-2 bằng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới NGS.

2. Phạm vi áp dụng

Quy trình xét nghiệm này được áp dụng cho việc xác định trình tự nucleotide bộ gen SARS-CoV-2 trong mẫu bệnh phẩm đường hô hấp và trong dung dịch nuôi cấy trên tế bào.

3. Nguyên lý

Đầu những năm 2000, công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới đã được phát triển với nhiều hệ thống khác nhau nhằm mục đích giải trình tự các đoạn DNA có kích thước lớn, như nhiễm sắc thể hay hệ gen sinh vật. Trong đó, GTTG Illumina là hệ thống xác định trình tự gen thành công và phổ biến nhất. Illumina đọc trình tự nucleotide thông qua quá trình sinh tổng hợp trên cả 2 sợi DNA được gắn bản (flowcell), không sử dụng môi đặc hiệu. Tín hiệu phát quang được thu thập dưới dạng chụp ảnh. Các nucleotide sau đó được sắp xếp và ghép đoạn theo phần mềm phân tích dữ liệu của hệ thống Illumina.

4. Đặc trưng kỹ thuật

Phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới Illumina thực hiện giải trình tự nucleotide bộ gen vi rút SARS-CoV-2 từ bệnh phẩm lâm sàng và từ chủng phân lập với độ chính xác 99%.

5. Nguyên vật liệu và trang thiết bị

Nguyên vật liệu và trang thiết bị theo từng bước thực hiện tại mục 10.

6. Kiểm soát chất lượng

6.1. Yếu tố ảnh hưởng

- Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm như: lấy bệnh phẩm, chuẩn bị bệnh phẩm, thuốc thử, hiệu chuẩn thiết bị, điều kiện môi trường, tay nghề của nhân viên.

- Nhằm hạn chế và nâng cao chất lượng xét nghiệm, các thủ tục và quy trình đều được hướng dẫn trực tiếp cho nhân viên xét nghiệm, đồng thời, sinh phẩm - hóa

chất thuốc thử đều được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất và vẫn còn hạn sử dụng.

6.2. Kiểm soát nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Nguyên vật liệu và trang thiết bị đóng vai trò quan trọng trong công tác xét nghiệm, vì vậy vật liệu và thiết bị sử dụng trong xét nghiệm phải được bảo quản tối ưu theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Các tủ 4⁰C hoặc tủ -20⁰C chứa hóa chất, sinh phẩm phải được theo dõi hàng ngày; trang thiết bị phải được đảm bảo điều kiện độ ẩm thoáng khí, nhiệt độ <31⁰C và độ ẩm <95%.

6.3. Kiểm soát mẫu bệnh phẩm

- Loại mẫu: dịch tị hầu, dịch họng, dịch mũi, dịch nội khí quản theo yêu cầu tại quy trình thu thập, vận chuyển, bảo quản bệnh phẩm nghi nhiễm SARS-CoV-2

- Tiêu chí loại bỏ: không đạt yêu cầu về thu thập, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm theo quy trình thu thập, vận chuyển, bảo quản bệnh phẩm nghi nhiễm SARS-CoV-2

6.4 Kiểm soát thông qua các thông số

| Thông số | Mô tả | Tỉ lệ cần đạt |
|-----------------------|--|----------------------|
| %Q30 Read 1 | Tỷ lệ % đọc base của Read 1 với điểm Q30 | >70% |
| %Q30 Read 2 | Tỷ lệ % đọc base của Read 2 với điểm Q30 | >70% |
| %Cluster PF | Tỷ lệ % cluster đạt chất lượng | 65-95% |
| %Occupancy | Tỷ lệ % của giếng trên flow cell có chứa cluster | 50-95% |
| Projected Total Yield | Số lượng base dự kiến được xác định cho lần chạy | >1.5GB |

7. Nội dung

7.1. Tách chiết RNA

Theo hướng dẫn của nhà sản xuất

+ **QIAamp viral RNA mini kit:** Qiagen-52904: 50 test hoặc 52906: 250 test

+ **High Pure Viral RNA Kit:** Roche - High Pure Viral RNA Kit

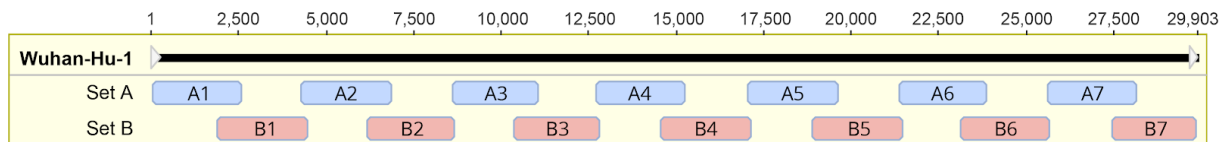
11858882001 100 test

7.2. Tổng hợp sợi DNA hỗ trợ (cDNA) và tinh sạch

Sinh phẩm

| Sinh phẩm | | Mã | Nhiệt độ bảo quản |
|---|---------------|----------|-------------------|
| SuperScript IV VILO Master Mix (tạo cDNA) | | 11756050 | -20°C |
| Platinum SuperFi II Green PCR Master Mix (PCR sợi đôi DNA) | | 12369050 | -20°C |
| Primer (5uM) (Primer tổng hợp 14 đoạn của genome virus SARS-CoV-2) | | | -20°C |
| Qubit™ dsDNA HS Assay Kit | Qubit Buffer | Q32854 | Nhiệt độ phòng |
| | Qubit reagent | | Nhiệt độ phòng |
| | Standard 1 | | 4°C |
| | Standard 2 | | 4°C |

Primer chạy PCR như sau



| PCR | PRIMER | SEQUENCE (5'-3') | LENGTH (nt) |
|-----|-----------------|---------------------------------|-------------|
| A1 | SARS2_A1F_31 | ACCAACCAACTTTCGATCTCTTGT | 2562 |
| | SARS2_A1R_2569 | GCTTCAACAGCTTCACTAGTAGGT | |
| A2 | SARS2_A2F_4295 | ACAGTGCTTAAAAAGTGTAAGTG CC | 2579 |
| | SARS2_A2R_6847 | ACAGTATTCTTTGCTATAGTAGTCGG C | |
| A3 | SARS2_A3F_8596 | ACTTGTGTTCTTTTTGTTGCTGC | 2479 |
| | SARS2_A3R_11049 | GAACAAAGACCATTGAGTACTCTGG A | |
| A4 | SARS2_A4F_12711 | TACGACAGATGTCTTGTGCTGC | 2536 |

| | | | |
|----|-----------------|-----------------------------------|------|
| | SARS2_A4R_15225 | TAACATGTTGTGCCAACCACCA | |
| A5 | SARS2_A5F_16847 | ACTATGGTGATGCTGTTGTTTACCG | 2432 |
| | SARS2_A5R_19254 | ACCAGGCAAGTTAAGGTTAGATAGC | |
| A6 | SARS2_A6F_21358 | ACAAATCCAATTCAGTTGTCTTCCTA TTC | 2490 |
| | SARS2_A6R_23823 | TGTGTACAAAACTGCCATATTGCA | |
| A7 | SARS2_A7F_25602 | ACTAGCACTCTCCAAGGGTGTT | 2571 |
| | SARS2_A7R_28146 | AGGTTCCCTGGCAATTAATTGTAAAA GG | |
| B1 | SARS2_B1F_1876 | ATCAGAGGCTGCTCGTGTTGTA | 2575 |
| | SARS2_B1R_4429 | AGTTTCCACACAGACAGGCATT | |
| B2 | SARS2_B2F_6287 | TGGTGTATACGTTGTCTTTGGAGC | 2565 |
| | SARS2_B2R_8828 | CACTTCTCTTGTTATGACTGCAGC | |
| B3 | SARS2_B3F_10363 | TGTTTCGCATTCAACCAGGACAG | 2440 |
| | SARS2_B3R_12780 | CCTACCTCCCTTTGTTGTGTTGT | |
| B4 | SARS2_B4F_14546 | AGGAATTACTTGTGTATGCTGCTGA | 2607 |
| | SARS2_B4R_17131 | ACACTATGCGAGCAGAAGGGTA | |
| B5 | SARS2_B5F_18897 | TGTTAAGCGTGTTGACTGGACT | 2559 |
| | SARS2_B5R_21428 | TGACCTTCTTTTAAAGACATAACAGC AG | |
| B6 | SARS2_B6F_23123 | CCAGCAACTGTTTGTGGACCTA | 2551 |
| | SARS2_B6R_25647 | AGGTGTGAGTAAACTGTTACAAACA AC | |
| B7 | SARS2_B7F_27447 | TCACTACCAAGAGTGTGTTAGAGGT | 2420 |
| | SARS2_B7R_29837 | TTCTCCTAAGAAGCTATTAATAATCACA G | |

Chuẩn bị Primer pool: 5ul primer Forward +5ul primer Reverse + 190 ul H₂O.

Thiết bị, dụng cụ

- Máy PCR, Vortex, spin down
- Máy đo nồng độ DNA/RNA Qubit 4.0
- Tuýp 0.5 ml đo nồng độ Qubit - Q32856
- Đầu tip, pipet, giá, găng tay

Các bước tiến hành

cDNA single strand:

| Reagent | x 1 (µl) |
|-------------------------------------|----------|
| SuperScript IV VILO Master Mix (5X) | 5 |
| H2O | 15 |
| RNA | 5 |
| Total | 25 |

Chương trình nhiệt

| Step | Temp (°C) | Time (mm:ss) |
|-------------|-----------|--------------|
| Priming | 25 | 10:00 |
| Extension | 50 | 20:00 |
| Denature RT | 85 | 5:00 |
| Hold | 4 | ∞ |

PCR 14 đoạn đặc hiệu

| | x 1 (µl) |
|---|----------|
| Platinum SuperFi II Green PCR Master Mix (2X) | 10 |
| H2O | 6.5 |
| Primer pool (5uM) | 2 |
| Single strand cDNA | 1.5 |
| TOTAL | 20 |

Chương trình nhiệt

| Step | Temp (°C) | Time (mm:ss) | Cycles |
|----------------|-----------|--------------|--------|
| Hot start | 98 | 2:00 | 1X |
| Denaturation | 98 | 00:15 | 40X |
| Annealing | 65 | 00:30 | |
| Extension | 72 | 02:00 | |
| Final extesion | 72 | 5:00 | 1X |
| Hold | 4 | ∞ | |

Điện di kiểm tra sản phẩm PCR

Tất cả các mẫu đều được điện di trên agarose gel 5%. Thể tích mẫu lấy là 3-5ul, điện di gel hai hàng lược, 100V-135V trong 10 phút.

Tinh sạch sản phẩm cDNA second strand

| | x 1 (µl) | |
|---------------------|-----------------|---------------|
| Sản phẩm PCR | 10 | 37 °C/30 phút |
| EXOSAP IT | 4 | 80 °C/15 phút |

Đo nồng độ sản phẩm cDNA second strand sau tinh sạch sử dụng Qubit kit

- Lập danh sách mẫu, sử dụng biểu mẫu đo nồng độ Qubit (ISEQ-BM01)
- Chuẩn bị ống Qubit = số mẫu + 2 standard
- Pha Qubit working Solution: pha loãng Qubit reagent theo tỉ lệ 1:200 sử dụng Qubit Buffer. Pha cho mỗi lần sử dụng, không pha sẵn, pha theo số mẫu và 2 standard mỗi lần đo
- Pha loãng 1/10 các tube mẫu để đo
- Mix mẫu đo theo bảng sau:

| | N=1 | N = (n+2) |
|--------------------------------------|-----------------|------------------|
| <i>Qubit working solution</i> | | |
| Qubit reagent | 1 | n+2 |
| Qubit buffer | 199 | 199 (n + 2) |
| <i>Mix</i> | | |
| | Standard | Sample |
| Qubit working solution | 190 ul | 197 ul |
| Template | 10 ul | 3 ul |
| Tổng thể tích | 200 ul | 200 ul |

- Vortex mỗi tube 2-3 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng trong 2 phút (tránh ánh sáng trực tiếp)
- Khởi động máy đo Qubit, chọn chế độ tương ứng với mục đích đo
- Đo standard 1 và standard 2
- Đo Sample, chọn đơn vị quy đổi ng/ul và chọn thể tích template (2ul)
- Đo lần lượt các mẫu, ghi kết quả đo được vào biểu mẫu.

7.3. Chuẩn bị thư viện

7.3.1 Gắn Taqment

Sinh phẩm

| Nextera XT Kit - FC-131-2001 | Nhiệt độ bảo quản | |
|---|-------------------|--|
| Genomic DNA/PCR Amplicon (0.2 ng/μl) | -20°C | |
| Ultrapure DNase/RNase-free Water | 4°C | |
| Amplicon Tagment Mix (ATM) Tagment DNA Buffer (TD) | -20°C Box 1 of 2 | Rã đông trên đá |
| Neutralize Tagment Buffer (NT) | 4°C Box 2 of 2 | Kiểm tra kết tủa, vortex trước khi sử dụng |

Thiết bị, dụng cụ

- Máy PCR, Vortex, spin down
- Tuýp 0.2 ml hoặc phiến 96 giếng
- Đầu tip, pipet, giá, găng tay

Chuẩn bị mẫu

- Yêu cầu mẫu DNA có nồng độ **0.2ng/ul**, pha loãng mẫu bằng nước theo công thức **$C1 \times V1 = C2 \times V2$**
- Ước tính số lượng mẫu tối đa có thể chạy cho 1 cartridge theo kích thước mẫu.

Các bước tiến hành

| | x 1 (μl) | | |
|---------------|-----------------|-------------------------------|---|
| TD | 5 | Pipet mix 10 lần | 55 °C/ 5 phút 10 °C/ ∞ |
| DNA | 3 | | |
| ATM | 2.5 | Pipet mix 10 lần Spin down | Ngay khi nhiệt độ giảm đến 10 °C cho NT |
| NT | 2.5 | | Nhiệt độ phòng 5 phút |
| Tổng thể tích | 13 | | |

7.3.2. Gắn Index

Sinh phẩm

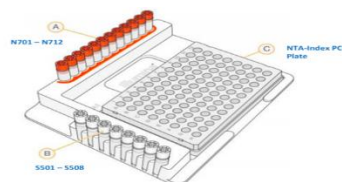
| Nextera XT Kit Materials | Storage | Used |
|---------------------------------|------------------|--|
| Nextera PCR Master Mix (NPM) | -20°C Box 1 of 2 | Rã đông trên đá khoảng 20 phút trước khi sử dụng |
| Index adapters | -20°C | Rã đông ở RT, vortex và spindown trước khi sử dụng |

Thiết bị, dụng cụ

- Máy PCR, Vortex, spin down
- Tuýp 0.2 ml hoặc phiên 96 giếng
- Đầu tip, pipet, giá, găng tay

Các bước thực hiện

- Lựa chọn index phù hợp với số mẫu, ghi sơ đồ index cho từng mẫu.



| | x 1 (µl) |
|-----------------------|--|
| DNA đã Taqment | 13 |
| Index i7 (12 tuýp) | 2.5/ 1 index |
| Index i5 (8 tuýp) | 2.5/ 1 index |
| NPM | 7.5 pipet mix đều hỗn hợp, spin down 1 phút |
| Tổng thể tích | 25 |

| Chu kỳ PCR gắn Index | |
|--|-----------|
| 72 °C/ 3 phút 95 °C/ 30 giây | |
| 95 °C/ 30 giây 55 °C/ 30 giây 72 °C/ 30 giây | 15 chu kỳ |
| 72 °C/ 5 phút 4 °C/ ∞ | |

Sau bước này có thể lưu mẫu ở 2-8°C trong 2 ngày, hoặc lưu trên máy PCR trong 24h

7.3.3. Tinh sạch sản phẩm PCR sau gắn Index

Sinh phẩm

| Sinh phẩm | Nhiệt độ bảo quản | |
|---|-------------------|--|
| AMPure XP beads – A63881 | 2°C - 8°C | Để ở RT 30 phút trước khi sử dụng |
| RSB (Resuspension Buffer) <i>Thay thế: nước dùng trong sinh học phân tử hoặc TRIS-Acetate (10mM pH 8.0), hoặc TE buffer (10mM Tris-Acetate pH8.0, 1 mM EDTA)</i> | -20°C | Rã đông ở RT, giữ trên khay lạnh khi sử dụng |
| Ethanol 80% | | Pha khi sử dụng |

Thiết bị, dụng cụ

- Vortex (tuýp, phiên)
- Tuýp 0.2 ml hoặc phiên 96 giếng
- Giá từ
- Đầu tip, pipet, giá, găng tay

Các bước thực hiện

- Vortex ống AMPure bead, spindown
- Mix sản phẩm PCR và bead theo tỷ lệ 1:1 (25ul sản phẩm PCR+ 25 ul AMPure XP Bead)
 - Vortex tuýp chứa sản phẩm PCR có gắn Index và Bead trên máy trong 2 phút, 1800rpm
 - Ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Nếu hạt bead bắn lên trên nắp tube thì spin down nhẹ.
 - Cho tube lên giá từ và để trong 2 phút hoặc tới khi dung dịch trở nên trong suốt, các hạt từ bám hết lên vị trí tiếp xúc với từ.
 - Hút bỏ toàn bộ dịch nổi mà không chạm vào hạt bead. Nếu chạm vào thì trả lại dung dịch, chờ thêm 2 phút nữa trên giá từ để dung dịch trong suốt rồi hút bỏ dịch nổi.
 - Rửa 2 lần bằng Ethanol 80%
 - o Thực hiện trên giá từ

- Bổ sung 200ul ethanol 80%, không mix
- ủ trong 30 giây
- Dùng pipet hút bỏ dịch
- Có thể sử dụng pipet loại nhỏ để hút bỏ hoàn toàn ethanol
- Để tube mở nắp, khô trong nhiệt độ phòng cho đến khi hạt bead se mặt lại (trong khoảng 5-10 phút tùy điều kiện phòng). Tránh để hạt Bead quá ướt (còn EtOH) hoặc quá khô (đứt gãy DNA)
- Đặt mẫu vào khay, bổ sung 25 ul RSB vào mỗi mẫu
- Sử dụng votex, shaking ở 1800rpm trong 2 phút, spindown
- Ủ ở nhiệt độ phòng trong 2 phút
- Đặt mẫu lên giá từ, đợi dịch trong (khoảng 2 phút)
- Dùng pipet thu hồi 22.5 ul dịch trong chứa DNA đã tinh sạch
- Kiểm tra chất lượng thư viện bằng phương pháp:
 - Qubit kit: các bước thực hiện theo **Đo nồng độ sản phẩm PCR sau tinh sạch sử dụng Qubit kit** mục 9.2
 - Điện di agarose: kiểm tra kích thước band 3 µl/mẫu

Sau bước này có thể lưu mẫu ở -20°C trong 7 ngày

7.3.4. Đồng đều thư viện mẫu giải trình tự gen ISEQ

Sinh phẩm

| Sinh phẩm | Nhiệt độ bảo quản | |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|
| RSB (Resuspension Buffer) | -20°C | Làm tan ở nhiệt độ phòng |

Thiết bị, dụng cụ

- Tuýp 0.2 ml hoặc phiến 96 giếng
- Đầu tip, pipet, giá, găng tay
- Bảng tính excel

Các bước tiến hành

- Đồng đều thư viện sử dụng phương pháp **Standard Normalization** của Illumina.
 - Dựa vào kết quả đo nồng độ Qubit và kích thước band thư viện điện di agarose, tính lượng mẫu và RSB cần để pha loãng thư viện mỗi mẫu về nồng độ **1-2 nM**
 - Công thức tính như sau: $C1 \times V1 = C2 \times V2$
 - $nM = 10^6 \times [\text{nồng độ mẫu ng/ul}] / (\text{kích thước trung bình bp} \times 660 \text{ g/mol})$
 - Công thức tính được lập trên bảng excel để sử dụng

| ID | Nồng độ (ng/ul) | Kích thước trung bình | Kích thước phân tử | C1 | V2 | C2 | V1 | RSB=V2-V1 |
|----|-----------------|-----------------------|--------------------|---|------------------|------|--------------------------------|------------------|
| | | | | Nồng độ sau tạo thư viện + tinh sạch (nM) | Tổng thể tích V2 | 2 nM | Thể tích thư viện mỗi mẫu (ul) | Thể tích RSB cần |
| 1 | 9.17 | 500 | 660 | 27.8 | 27.8 | 2 | 2 | 25.8 |
| 2 | 4.42 | 500 | 660 | 13.4 | 13.4 | 2 | 2 | 11.4 |
| 3 | 14.6 | 500 | 660 | 44.2 | 44.2 | 2 | 2 | 42.2 |

- **Pool thư viện** vào một ống, lấy đồng đều thể tích mỗi mẫu.
- **Pha loãng thư viện tổng** về nồng độ **80pM** trong RSB (pha loãng 40X)
 - o Thư viện đã pha loãng phải dùng ngay trong ngày

7.3.5. Đồng đều thư viện mẫu giải trình tự gen MISEQ

Sinh phẩm

| Sinh phẩm | Nhiệt độ bảo quản | |
|--------------------------|-------------------|----------------------|
| HT1(HybridizationBuffer) | -25°C | Làm tan rồi giữ lạnh |
| 2N NaOH | -25°C | |

Thiết bị, dụng cụ

- Tuýp 1.5 ml
- Đầu tip, pipet, giá, găng tay
- Giá từ
- Bể ủ nhiệt

Các bước tiến hành

Chuẩn bị dung dịch 0.2N NaOH

Pha loãng 1/10 để có dung dịch NaOH 0.2N

- 900µL of Nuclease-free water
- 100µL of Stock 2N NaOH

Chuẩn bị thư viện đã làm đồng đều ở nồng độ 4nM. Lấy mỗi mẫu 5 µl ở nồng độ 4nM, trộn đều vào tube 1.5ml để được mẫu pool.

Đo lại nồng độ thư viện này để tính toán các bước sau cho chính xác.

| | x 1 (µl) | |
|---------------|----------|---|
| Mẫu Pool | 5 | Vortex, spin down 1 phút Ủ ở nhiệt độ phòng 5 phút |
| 0.2M NaOH | 5 | |
| HT1 | 990 | |
| Tổng thể tích | 1000 | Nồng độ 20pM |

Pool thư viện và load mẫu

Từ thư viện nồng độ 20pM, pha loãng về các nồng độ chạy máy với bộ sinh phẩm tương ứng bằng hoá chất HT1.

VD:

Thư viện pool theo lý thuyết là 4nM, đo lại được nồng độ 3,67nM.

5ul TV+ 5ul NaOH 0,2N + 990ul HT1 = 1000 ul thư viện nồng độ 18,35pM
545ul thư viện 18,35pM + 455 ul HT1 = 1000ul thư viện nồng độ 10pM chạy

7.4. Giải trình tự ISEQ

Sinh phẩm

| | Nhiệt độ bảo quản | |
|-----------|-------------------|---|
| Cartridge | -20°C | Rã đông trước khi sử dụng |
| Flow cell | 2°C - 8°C | Đề ở nhiệt độ phòng từ 10-15 phút, mở khi sử dụng |

- Rã đông cartridge theo 1 trong 3 phương pháp sau, không kết hợp các phương pháp. Không sử dụng cartridge rã đông nhiều lần.

| Phương pháp | Thời gian | Hướng dẫn |
|-----------------------------|---------------------------------|---|
| Tan trong nước 20°C - 25°C | 6 giờ, không quá 18 giờ | <ul style="list-style-type: none"> ○ Sử dụng 6 lit nước để làm tan cartridge ○ Điều chỉnh nước trong bể ổn nhiệt ở 25°C hoặc trộn nước nóng với nước lạnh trong khoảng nhiệt độ 20°C -25°C ○ Để mặt túi đựng cartridge hướng lên trên và ngập trong nước, để vật nặng ~2kg lên trên để ngăn không cho túi nổi lên trên. ○ Không để nhiều túi đựng cartridge cùng tan trong nước, trường hợp này nên làm tan bằng phương pháp nhiệt độ phòng |
| Trong tủ lạnh 2°C -8°C | 36 giờ, không quá 72 giờ | Đề túi đựng cartridge trong tủ lạnh, mặt túi hướng lên trên, các mặt xung quang đều có không khí lưu thông kể cả mặt đáy. |
| Nhiệt độ phòng, 20°C - 25°C | 9 giờ, không quá 18 giờ | Đề túi đựng cartridge trên bàn trong phòng thí nghiệm, mặt túi hướng lên trên, các mặt xung quang đều có không khí lưu thông kể cả mặt đáy. |

Các bước thực hiện

- Load cartridge:

- Sau khi đã làm tan đông cartridge theo hướng dẫn, mở gói kim loại bọc cartridge. Tránh ánh sáng trực tiếp từ cửa sổ.
- Trộn đều hoá chất trong khay đựng bằng cách lắc 5 lần.
- Gõ khay cartridge lên mặt bàn 5 lần (mặt khay hướng lên trên) cho các hoá chất không còn sót trên thành và mặt trên.
- Dùng đầu tip cắm trực tiếp vào vị trí loading trên cartridge, nhẹ nhàng di chuyển đầu tip vòng tròn để mở rộng vị trí loading
- Dùng pipet hút **20ul Library loading** nhà vào vị trí loading trên cartridge



- Mở gói đựng Flow cell. Sử dụng ngay trong vòng 24 giờ sau khi mở gói. Chỉ chạm vào phần nhựa của flow cell, tránh chạm vào bề mặt kính, sensor...
- Cầm flow cell nằm ngang, mặt nhãn hướng lên trên, cho vào cartridge.



- Thao tác với máy ISEQ xem hướng dẫn sử dụng máy.

7.5. Giải trình tự MISEQ

Sinh phẩm

| | Nhiệt độ bảo quản | |
|-----------|-------------------|---|
| Cartridge | -20°C | Rã đông trước khi sử dụng |
| Flow cell | 2°C - 8°C | Đề ở nhiệt độ phòng từ 10-15 phút, mở khi sử dụng |

- Rã đông cartridge theo 1 trong 2 phương pháp sau, không kết hợp các phương pháp. Không sử dụng cartridge rã đông nhiều lần.

| Phương pháp | Thời gian | Hướng dẫn |
|---------------------------------|---|---|
| Tan trong nước ở nhiệt độ phòng | <ul style="list-style-type: none"> ○ Với cartridge Miseq v3: 60-90 phút ○ Với cartridge Miseq v2: 60 phút | <ul style="list-style-type: none"> ○ Sử dụng nước cất để làm tan cartridge ○ Điều chỉnh nước đến mức chỉ điểm của cartridge ○ Hết thời gian rã đông, vỗ nhẹ cartridge trên mặt bàn và để khô |
| Trong tủ lạnh 2°C -8°C | Có thể lưu cartridge tại nhiệt độ này trong vòng 1 tuần | Đặt túi đựng cartridge trong tủ lạnh, mặt hướng lên trên. |

Các bước thực hiện

- Load cartridge:

- Sau khi đã làm tan đông cartridge theo hướng dẫn, lật ngược – xuôi cartridge 10 lần để trộn đều hoá chất trong khay đựng.
- Kiểm tra vị trí 1, 2 và 4 trên cartridge các hoá chất không còn kết tủa.
- Vỗ nhẹ cartridge trên bàn để làm vỡ các bọt khí.
- Có thể giữ hoá chất sau khi làm tan tại 2°C - 8°C trong vòng 6h.
- Dùng đầu tip cắm trực tiếp vào vị trí loading trên cartridge, nhẹ nhàng di chuyển đầu tip vòng tròn để mở rộng vị trí loading
- Dùng pipet hút **600ul Library loading** nhà vào vị trí loading trên cartridge

Thao tác với máy MISEQ xem hướng dẫn sử dụng máy.

8. Kết quả và biện luận

Kết quả giải trình tự gen được phân tích sử dụng phần mềm CLC.

9. Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải

Tham khảo Hướng dẫn an toàn VR5.2_QTQL02.

10. Tài liệu tham khảo

1. https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/system_documentation/iseq100/translations/iseq-100-system-guide-1000000036024-vie.pdf
2. nextera-xt-library-prep-reference-guide-15031942-05.pdf
3. iseq-100-sequencing-system-guide-1000000036024-05.pdf
4. bead-based-normalization-tech-note-470-2016-007.pdf

Phụ lục 8

KỸ THUẬT ELISA PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ IgG KHÁNG SARS-COV-2

1. Mục đích

Mô tả chi tiết các bước thực hiện phản ứng ELISA để xác định kháng thể IgM/IgG kháng SARS-CoV-2 trong mẫu bệnh phẩm huyết thanh/huyết tương người

2. Phạm vi áp dụng

Áp dụng cho việc chẩn đoán, nghiên cứu huyết thanh học SARS-CoV-2 tại phòng thí nghiệm.

3. Nguyên lý

Kỹ thuật ELISA gián tiếp (Indirect ELISA) phát hiện kháng thể IgM/IgG kháng SARS-CoV-2 trong huyết thanh/huyết tương bệnh nhân: Kháng thể trong huyết thanh/huyết tương bệnh nhân kết hợp với kháng nguyên SARS-CoV-2 đã được gắn trên miếng 96 giếng (Protein N). Sau thời gian ủ, hỗn hợp kháng nguyên – kháng thể được ủ với kháng thể IgG người có gắn enzyme. Khi thêm cơ chất (substance), enzyme sẽ biến đổi cơ chất và tạo tín hiệu màu có thể xác định được bằng máy đo mật độ quang học – máy đọc ELISA (OD).

4. Định nghĩa và các từ viết tắt

- ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay): Kỹ thuật hấp phụ miễn dịch gắn enzyme

- PTN/PXN: Phòng thí nghiệm/phòng xét nghiệm

5. An toàn

- Tham khảo mục “An toàn” trong các quy trình QTKT-VRCM-05.05.02, QTKT-VRCM-05.05.03, QTKT-VRCM-05.05.04.

- Kỹ thuật ELISA được thực hiện tại phòng thí nghiệm an toàn sinh học cấp 2.

6. Kiểm soát chất lượng

6.1. Yếu tố ảnh hưởng

- Các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả xét nghiệm như: chuẩn bị huyết thanh/huyết tương, thuốc thử, hiệu chuẩn thiết bị, điều kiện môi trường, tay nghề của nhân viên ...

- Nhằm hạn chế và nâng cao chất lượng xét nghiệm, các thủ tục và quy trình đều được hướng dẫn trực tiếp cho nhân viên xét nghiệm đồng thời hóa chất thuốc, thử đều được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất và vẫn còn hạn sử dụng.

6.2. Kiểm soát nguyên vật liệu và trang thiết bị

- Nguyên vật liệu và trang thiết bị đóng vai trò quan trọng trong công tác xét nghiệm, vì vậy vật liệu và thiết bị sử dụng trong xét nghiệm phải được bảo quản tối ưu theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Các tủ 2⁰C- 8⁰C hoặc tủ -20⁰C chứa hóa chất, sinh phẩm phải được theo dõi hàng ngày; trang thiết bị phải được đảm bảo điều kiện độ ẩm thoáng khí, nhiệt độ <30⁰C và độ ẩm <90%.

6.3. Kiểm soát mẫu bệnh phẩm

- Loại mẫu: huyết thanh, máu toàn phần
- Điều kiện bảo quản: 2⁰C - 8⁰C trong vòng 72h mẫu sẽ được chuyển tới PTN
- Tiêu chí loại bỏ: không đạt yêu cầu về thu thập, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm.

6.4. Kiểm soát mẫu chứng

- Giá trị OD của chứng âm và blank < 0,2
- Giá trị OD của chứng dương > 0,4 (IgM) và chứng dương > 0,5 (IgG)

7. Nguyên vật liệu và trang thiết bị

7.1. Điều kiện bảo quản

7.1.1. Hóa chất và sinh phẩm

- Hóa chất sinh phẩm sử dụng phải được bảo quản theo khuyến cáo của nhà sản xuất để đảm bảo tính ổn định của hóa chất/sinh phẩm

- Khi sử dụng sinh phẩm cho pha chế, phải luôn được giữ lạnh và cất lại ngay sau khi dùng xong.

7.1.2. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

- Dụng cụ tiêu hao trong phòng thí nghiệm được bảo quản luôn thông thoáng. Khi sử dụng sẽ được ghi chép thông tin trong biểu mẫu phiếu theo dõi vật tư.

- Trang thiết bị trong phòng thí nghiệm được bảo quản và vận hành trong khoảng nhiệt độ từ 25±5⁰C, độ ẩm từ 45-90%.

7.2. Thành phần bộ sinh phẩm:

Bộ sinh phẩm IVD.CoV-2 do Trung tâm nghiên cứu, Sản xuất vaccine và Sinh phẩm Y tế (Polyvac) sản xuất. Thành phần bao gồm:

- ① Phiến nhựa vi lượng 96 giếng
- ② PBSx20
- ③ Tween 20
- ④ Skim milk

- ⑤ Chứng dương
- ⑥ Chứng âm
- ⑦ Cộng hợp IgG (conjugate)
- ⑧ Cơ chất A
- ⑨ Cơ chất B
- ⑩ Dung dịch dừng phản ứng

7.3. Dụng cụ tiêu hao và trang thiết bị

- (1) Máy đọc phiến vi lượng có khả năng đọc ở bước sóng 450 nm
- (2) Máy rửa phiến
- (3) Máy ly tâm 3000xg
- (4) Tủ ấm 37°C
- (5) Pipette, đầu tip dùng 1 lần kích cỡ 1-1000 μ l
- (6) Tube/phiến 96 giếng để pha loãng mẫu
- (7) Nước cất 2 lần

8. Quy trình thực hiện phản ứng elisa

8.1. Chuẩn bị các chất phản ứng

Bộ sinh phẩm được lấy ra để ở nhiệt độ phòng (20-25°C) trước khi sử dụng

- Pha dung dịch PBS 1x: 50ml PBS20x ② vào chai 1000ml, bổ sung nước cất vừa đủ để tạo ra 1000ml
- Pha dung dịch Tween 20 (10%) ③: 1 ml Tween + 9 ml nước cất
- Pha dung dịch pha loãng: đổ toàn bộ bột trong tube Skim milk ④ vào 100ml PBS 1x, lắc đều để bột tan hoàn toàn, thêm 0,2ml Tween 20 (10%)
- Pha dung dịch rửa PBS-Tween 20: 900ml PBS 1X + 4,5ml Tween 20 (10%)

8.2. Chuẩn bị mẫu

- Chứng dương, chứng âm: 30 μ l chứng dương ④, ⑤ + 270 μ l dung dịch pha loãng (pha loãng 1:10)
- Huyết thanh xét nghiệm: Pha loãng huyết thanh 1:1000 trong dung dịch pha loãng

8.3. Quy trình xét nghiệm

1. Huyết thanh/huyết tương bệnh nhân

- Nhỏ lần lượt 100 μ l huyết thanh/huyết tương bệnh nhân (1:1000 với IgG), dung dịch pha loãng (blank), chứng âm, chứng dương vào mỗi giếng tương ứng
- Đậy nắp phiến, ủ 37°C/60 phút

- Rửa 6 lần liên tiếp bằng dung dịch rửa PBS-Tween 20: Nhỏ 300 μ l/giếng mỗi lần rửa.

2. Cộng hợp

- Pha loãng cộng hợp: 1ml cộng hợp (⑦) + 9 ml dung dịch pha loãng (tỷ lệ 1:10)
- Nhỏ 100 μ l cộng hợp/giếng. Đậy nắp phiến và ủ ở 37°C/60 phút.
- Rửa phiến 6 lần như bước 1.

3. Cơ chất

- Pha cơ chất gồm: 160 μ l cơ chất A (⑧)+ 1000 μ l cơ chất B (⑨)+ 9ml nước cất.
- Nhỏ 100 μ l/ giếng.
- Đậy nắp phiến và ủ ở 37°C/10 phút (tránh ánh sáng).

Lưu ý: Cơ chất phải được sử dụng ngay sau khi pha.

4. Dừng phản ứng

- Nhỏ 100 μ l dung dịch dừng phản ứng (⑩)/giếng.

5. Đọc kết quả

- Đọc kết quả ngay ở bước sóng 450nm sử dụng máy đọc ELISA.

6. Tiêu chuẩn nhận định kết quả

Xét nghiệm được đánh giá là đạt nếu:

- Giá trị OD của chứng âm và Blank < 0,05
- Giá trị OD của chứng dương > 0,4 (IgM) và chứng dương > 0,5 (IgG)

Đánh giá kết quả:

- Giá trị OD của mẫu xét nghiệm > 0,2 thì mẫu được đánh giá là dương tính
- Giá trị OD của mẫu xét nghiệm < 0,18 thì mẫu được đánh giá là âm tính
- Giá trị OD của mẫu xét nghiệm trong khoảng từ 0,18 đến 0,2 thì cần thực hiện lại.

9. Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải: Tham khảo mục “Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải” trong quy trình QTKT-VRCM-05.05.02 của phòng thí nghiệm Cúm – Khoa Virus – Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

10. Tài liệu tham khảo

1. Trung tâm Nghiên cứu sản xuất vaccine và Sinh phẩm Y tế (Polyvac). Hướng dẫn sử dụng bộ trang thiết bị y tế chẩn đoán in vitro phát hiện kháng thể IgM kháng virus SARS-CoV-2 (2020)
2. Trung tâm Nghiên cứu sản xuất vaccine và Sinh phẩm Y tế (Polyvac). Hướng dẫn sử dụng bộ trang thiết bị y tế chẩn đoán in vitro phát hiện kháng thể IgG kháng virus SARS-CoV-2 (2020).