

NHỮNG PHÁT TRIỂN GẦN ĐÂY CỦA THIẾT BỊ XÉT NGHIỆM NHANH (POCT) DỰA TRÊN CÔNG NGHỆ VI LƯU TRONG TÀM SOÁT BỆNH TRUYỀN NHIỄM

NGÔ XUÂN YẾN^{1*}

Tóm tắt

Các vi sinh vật gây bệnh là nguồn gốc của các bệnh truyền nhiễm, có thể lan từ người này sang người khác và khắp cộng đồng, đe dọa đến sức khỏe của mọi người và có thể cả nền kinh tế của quốc gia. Các công cụ chẩn đoán hiệu quả là cần thiết để cung cấp hướng dẫn chính xác và kịp thời cho việc xác định trường hợp mầm bệnh, phá vỡ sự lây lan, quản lý và tìm nguồn điều trị phù hợp. Các xét nghiệm tại chỗ (POC) hoạt động như một “radar” cá nhân bằng cách cung cấp kết quả tức thời cho bệnh nhân. Công nghệ vi lưu hay vi sinh lỏng đã và đang nổi lên như một trong những giải pháp tiềm năng nhất, bởi vì nó có thể cung cấp tích hợp và thu nhỏ hóa của hầu hết các mô-đun chức năng được sử dụng trong chẩn đoán phòng thí nghiệm chỉ trong một chip di động. Vì vậy, bài báo này sẽ cung cấp tổng quan những cải tiến gần đây của thiết bị xét nghiệm tại chỗ dựa trên công nghệ vi lưu trong việc phát hiện các bệnh truyền nhiễm.

Từ khóa: bệnh truyền nhiễm, công nghệ vi lưu, xét nghiệm tại chỗ.

Abstract

Pathogenic microorganisms are the source of infectious diseases, which can spread from person to person and across populations, endangering both the general public's health and possibly the nation's economy. For the purpose of accurately and promptly guiding case identification, transmission disruption, and the administration of suitable treatment, effective diagnostic tools are required. Point of care (POC) tests function as a personal “radar” by providing actionable results close to the patient. Microfluidic technologies have emerged as one of the most potential solutions, which offers the integration and miniaturization of the majority of functional modules utilized in central laboratory diagnostics into a portable chip. Thus, this paper will provide recent advances in novel microfluidic-based POC technologies in the context of detection of infectious diseases.

Keywords: infectious diseases, microfluidic technologies, point of care (POC) tests.

¹ Trường Đại học Cửu Long

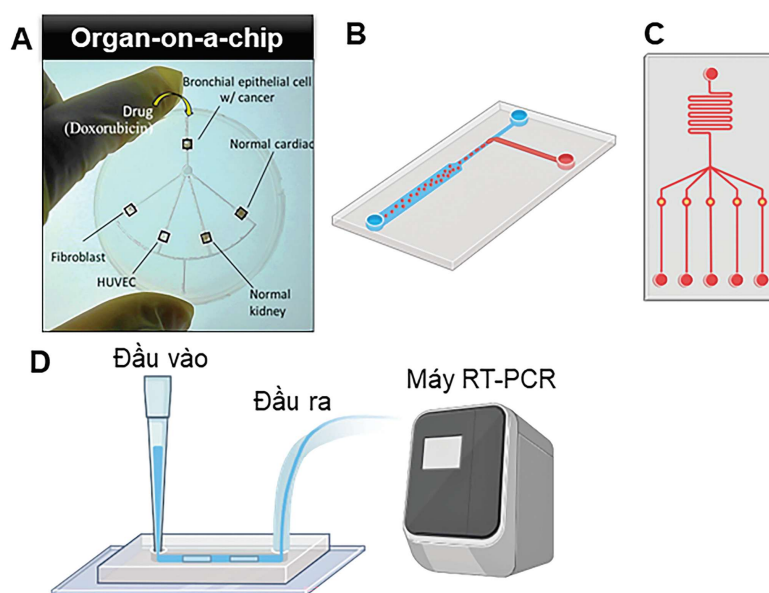
* Người chịu trách nhiệm về bài viết: Ngô Xuân Yến

PHẦN NỘI DUNG

1. Giới thiệu về công nghệ vi lưu

Thiết bị vi lưu hay vi dòng chảy (microfluidic) là một hệ thống có các kênh vi mô để cung cấp việc xử lý và điều khiển chính xác các mẫu chất lỏng có dung tích nhỏ từ microlit đến nanolit [1]. Hệ thống các vi kênh có thể được hình dung như hệ thống các mạch máu nhỏ trong cơ thể, vì vậy hệ thống

này đang được ứng dụng rộng rãi trong công nghệ mô phỏng sinh học trong y sinh [2]. Ứng dụng của mô hình công nghệ này khá phổ biến trong các lĩnh vực chế tạo vật liệu, y sinh như là phản ứng sinh hóa, công nghệ mô tế bào... Một trong những ứng dụng phổ biến của công nghệ vi lưu là các hệ thống “lab-on-a-chip” (một tích hợp phòng thí nghiệm trong một con chip nhỏ) và “organ-on-a chip” (mô phỏng cơ quan người trong một con chip nhỏ) (Hình 1A).



Hình 1. (A) Hệ thống “organ-on-a-chip” trong một chip vi lưu. (B-C) Ảnh minh họa cấu tạo hình học của chip đang được sử dụng: cấu trúc chữ T (B), cấu trúc chữ Y (C). (D) Sơ đồ hoạt động của chip: mẫu thử được đưa vào đầu vào (inlet) và trải qua xử lý trong chip; sau đó mẫu được xử lý được đưa ra khỏi kênh ở đầu ra (outlet) và được nối với thiết bị phân tích mẫu ví dụ như RT-PCR. Các hình minh họa được tạo bằng BioRender.com.

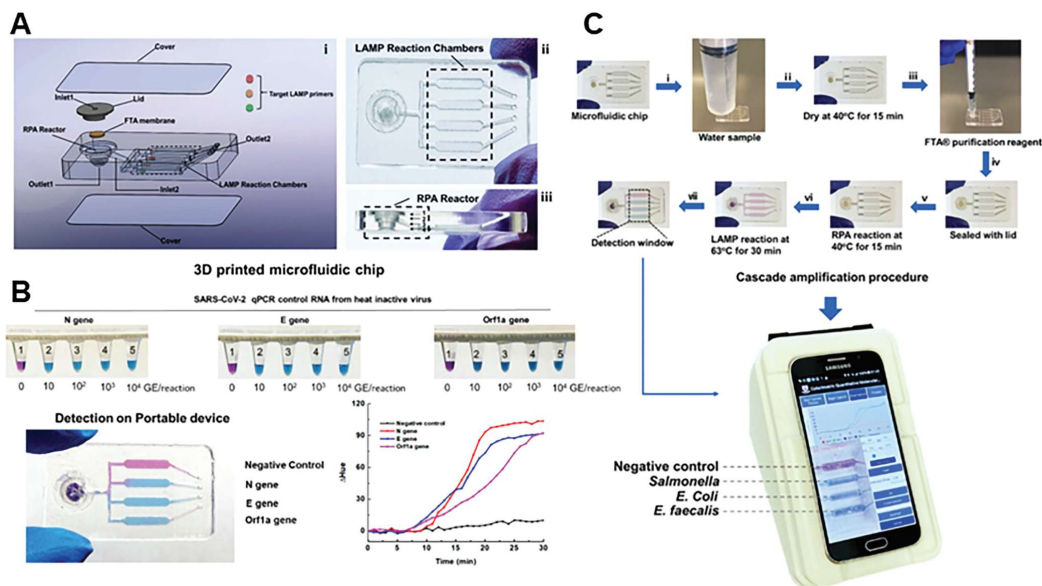
Trong một chip vi lưu, các kênh vi mô có chức năng chứa các thành phần lọc đặc hiệu (kháng thể hoặc kháng nguyên hoặc enzyme, vv.), nơi phân tách, pha trộn, làm sạch và phát hiện các chất phân tích mục tiêu được thực hiện đồng thời. Do đó, công nghệ này có tốc độ phát hiện chất phân tích nhanh, độ nhạy cao và giới hạn dưới phát hiện siêu thấp. Trong lĩnh vực y sinh, công nghệ vi lưu cho phép

phân tích nhiều xét nghiệm y tế trên một con chip với lượng mẫu nhỏ, chẳng hạn như xét nghiệm axit nucleic; sản xuất các hạt có kích thước micromet và nanomet, ứng dụng chúng làm hệ thống phân phối thuốc, tạo ra các dạng bào chế có sinh khả dụng cao và có tác dụng nhắm mục tiêu như liposome. Đối với nghiên cứu sinh học tế bào, các vi mạch có kích thước tương tự như các tế bào sinh học, vì vậy các

chip vi dòng cho phép thao tác dễ dàng với từng tế bào. Trong khi đó, công nghệ này còn được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác như công nghệ phản ứng vi điện hóa, làm mát bộ vi xử lý, v.v. Việc tích hợp của thiết bị vi sinh lỏng với các kỹ thuật phân tích như điện hóa, fluorescence, SERS, SPR, vv. để tạo ra một tín hiệu định lượng, bán định lượng hoặc màu sắc có thể dễ dàng xác định sự hiện diện của các chất phân tích mục tiêu [3-5]. Các chip vi lưu được tạo ra bằng cách đúc hoặc khắc từ các khuôn mẫu vật liệu như silic, thủy tinh, hoặc polymer như poly(dimethyl siloxane) (PDMS), poly(methyl methacrylate) (PMMA),... Trong đó PDMS là vật liệu phổ biến được sử dụng nhiều trong các chip vi đặc tính dễ tạo khuôn, tạo kiểu vi kênh với nhiều chi tiết kích cỡ micromet với độ chính xác cao, độ ổn định hóa hóa cao, trong suốt và không độc hại. Tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất của PDMS là khả năng chịu dung môi hữu cơ kém. Nó có thể

bị biến đổi khi tương tác với các dung môi hydrocarbon thơm hay dung dịch amin và acid mạnh [6,7]. Các vật liệu thay thế đang được xem xét sử dụng gần đây như nhựa nhiệt dẻo (PMMA) hoặc nhựa nhiệt dẻo có tính đàn hồi như TPEs [8,9]. Các chip vi lưu được thiết kế gồm các vi kênh trong một khối polymer gắn trên mặt phẳng. Một số thiết kế đơn giản có cấu trúc hình chữ T, chữ Y hay chữ thập. Tùy vào từng ứng dụng của chip, các thiết kế khác nhau sẽ quy định cơ chế tương tác của các dòng chất lỏng trong các vi kênh. Các chất lỏng sẽ được tiêm vào hoặc dẫn ra thông qua các lỗ nhỏ gọi là đầu vào (inlet) hoặc đầu ra (outlet) (Hình 1B-D). Các con chip vi lưu thường được kết hợp với các hệ thống bên ngoài để đẩy dòng chảy một cách chủ động và có kiểm soát như bơm nhu động, bơm xilanh...[10].

2. Ứng dụng của công nghệ microfluidic trong xét nghiệm nhanh POCT

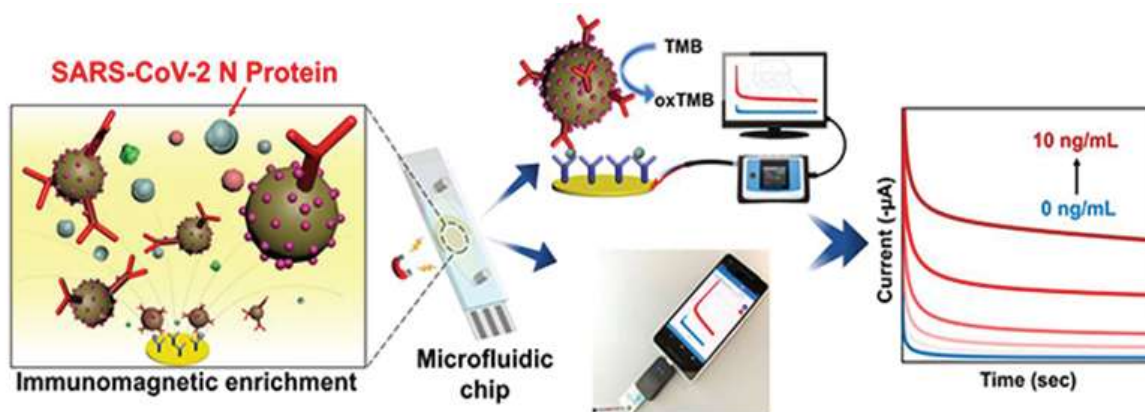


Hình 2. Ứng dụng của chip vi lưu in 3D để phát hiện virus SARS-CoV-2 trong nước. (A). Sơ đồ thiết kế của chip được in 3D bằng acrylic và lớp phủ chống thấm bằng nhựa PVA. (B). Phát hiện đa phân vùng của các gene E, N, và Orf1a của SARS-CoV-2 bằng phản ứng RT-LAMP trong cùng một thiết bị vi lưu in 3D. (C). Sơ đồ sử dụng chip để phát hiện đa vi khuẩn trong cùng một mẫu nước. Bản quyền từ tài liệu [13].

Vào những năm 2000s, những phát triển trong kỹ thuật chế tạo vi mô và nano đã tăng tốc quá trình chuyển đổi từ các hệ thống đơn giản sang các mẫu thử lab-on-a-chip. Các hệ thống vi lưu hiện nay bao gồm tích hợp xử lý mẫu, pha trộn chất thử hay dung môi, quá trình phân tách và phát hiện. Một trong những nghiên cứu đã phát triển phát hiện fluorescence thông qua một mô-đun cảm biến vi sinh lỏng để nhận diện vi sinh vật. Mạng lưới các kênh vi mô đó được thiết kế trong khuôn PDMS bao gồm các cảm biến vi sinh, kết hợp với kỹ thuật lai phân tử (DNA/RNA hybridization), và với kỹ thuật khuếch đại tín hiệu liposome (Hình 1D). Các kỹ thuật đó được sử dụng như một dạng cảm biến sinh học [11].

Trong thập kỷ qua, các thiết bị phân tích dựa trên giấy vi sinh lỏng (μ -PADs) đã trở thành loại thiết bị chẩn đoán POC mới. Các thiết bị này là các chip vi lưu dựa trên loại giấy này với tính năng nhẹ, mỏng, linh hoạt,

dễ cháy (có thể sử dụng một lần), tương thích với mẫu sinh học, và có thể điều chỉnh hóa học [12]. Một báo cáo gần đây bởi nhóm nghiên cứu do Yin và các cộng sự đã phân tích virus SARS-CoV-2 trong nước thải thông qua việc cảm biến hiện màu (colorimetric) được thực hiện bằng cách sử dụng một thiết bị vi lưu được in 3D tích hợp với kỹ thuật khuếch đại DNA đẳng nhiệt thông qua vòng LAMP. Thiết bị này cho phép trích xuất axit nucleic trên chip được hỗ trợ bởi màng polymer FTA. Hơn nữa, việc khuếch đại và tạo ra tín hiệu colorimetric đồng thời diễn ra trong vùng phản ứng để định lượng virus SARS-CoV-2. Hệ thống này cung cấp nền tảng phát hiện multiplex cho các đoạn gen E, N, và OrF1a của virus SARS-CoV-2 cũng như các vi khuẩn khác. Một phác thảo của chip vi sinh lỏng tích hợp, quy trình phát hiện của họ, và một cái nhìn colorimetric của hỗn hợp phản ứng trên một thiết bị được in 3D được hiển thị trong Hình 2 [13].



Hình 3. Ví dụ của con chip vi lưu tích hợp với điện thoại thông minh. Con chip có thể thực hiện cảm biến miễn dịch vi sinh học sử dụng hạt nano từ tính cho việc định lượng điện hóa của protein N của SARS-CoV-2. Bản quyền từ tài liệu [18].

Từ những năm 2020 trở lại đây, có sự kết hợp giữa điện thoại thông minh và công nghệ nano để tạo ra các cảm biến nano thông minh. Các cảm biến này có thể giúp người làm xét nghiệm không chuyên sử dụng điện thoại thông minh như là máy đọc các cảm biến hiện màu,

đo huỳnh quang (fluorimetric), hay đo điện-hóa (electrochemical). Các điện thoại thông minh được sử dụng để nhận dạng các biến đổi màu hay huỳnh quang bằng cách chụp ảnh và phân tích qua camera và một ứng dụng độc lập trên android/iOS. Nó cũng có thể phát hiện và

phân tích các biến đổi điện hóa qua camera của điện thoại thông minh và máy cảm biến ảnh CMOS để phân tích dữ liệu chuyên sâu [14,15]. Một nhóm nghiên cứu đã phát triển một cảm biến sinh học “microfluidic all-fiber Fresnel reflection” (FRMB) mới bằng cách kết hợp một hệ thống quang học all-fiber, một chip vi lưu, và một multimode fiber bio-probe. Sử dụng phương pháp phản xạ Fresnel, cả hai loại kháng thể IgM và IgG phản ứng protein gai SARS-CoV-2 có thể phát hiện đặc hiệu trong 7 phút thông qua kháng thể phụ gắn đoạn dò multimode fiber bio-probe. Giới hạn phát hiện cho SARS-CoV-2 IgM và IgG lần lượt là 0,82 ng ml⁻¹ và 0,45 ng⁻¹ [16].

Các cảm biến sinh học dựa trên công nghệ nano cũng đã đạt những thành tựu nhất định. Các hạt nano từ tính (MNPs) được sử dụng nhiều trong các ứng dụng cảm biến sinh học vì chúng có hình dạng và kích thước đồng đều cao, diện tích bề mặt lớn. Hơn nữa, chúng có khả năng kết hợp và bắt giữ các mầm bệnh mục tiêu trong một chip vi lưu. Điều này sẽ cải thiện đáng kể độ nhạy và độ tái lập của các cảm biến sinh học. Ngoài ra, MNPs mang tính kinh tế cao và dễ tổng hợp, do đó, chúng giảm chi phí sản xuất tổng thể của thiết bị [17]. Ví dụ, Li và cộng sự đã đề xuất một thiết bị vi sinh lỏng dựa trên hạt nano từ tính tích hợp với một kỹ thuật điện hóa cho việc phát hiện protein N của virus SARS-CoV-2 trong mẫu huyết thanh. Tại đây, các tác giả đã gắn một hạt nano từ tính lên kháng thể liên kết HRP cũng như một điện cực có thể bắt giữ kháng thể lên điện cực vàng. Việc phát hiện các protein N được thực hiện thông qua kỹ thuật phát hiện amperometric, trong đó, sự điện phân của 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) (TMB liên kết với protein N) tạo ra một tín hiệu điện hóa có khả năng định lượng virus SARS-CoV-2 lên đến mức pg trong mẫu huyết thanh. Cảm

biến sinh học được đề xuất có độ nhạy cao và đặc hiệu đáng kể chỉ có thể phát hiện protein N của virus SARS-CoV-2 ngay cả khi có sự xuất hiện của SARS-CoV-1 và MERS-CoV. Hơn nữa, việc tích hợp cảm biến sinh học với một điện thoại thông minh cầm tay càng trợ giúp hơn cho hệ thống chẩn đoán thông minh (smart diagnosis) trong dịch COVID-19 (Hình 3) [18].

Ngoài ra, việc phát hiện đa khuẩn mầm bệnh chỉ trong một thiết bị sẽ là một bước đột phá để tránh việc sử dụng nhiều cảm biến sinh học và giảm thời gian và chi phí sản xuất. Chen và cộng sự đã đề xuất thiết bị vi sinh lỏng tích hợp với kỹ thuật RT-LAMP cho việc phát hiện ba dòng vi khuẩn *P. hauseri*, *Salmonella* và *E. coli* đồng thời. Các tác giả đã xây dựng chip vi lưu PDMS và bốn khoang nối với nhau có thể đồng thời thực hiện các kỹ thuật tách chiết DNA, tinh sạch, và chuẩn bị mẫu trong một con chip. Phương pháp thử nghiệm này có độ nhạy xuất sắc và một ngưỡng phát hiện LOD rất thấp là 1,6 tế bào. Hơn nữa, tính di động và tính ổn định cao của phương pháp rất có ích cho việc phát hiện mầm bệnh tại chỗ [9,19,20].

3. Ưu nhược điểm của công nghệ vi lưu trong xét nghiệm nhanh

Công nghệ vi lưu mang lại nhiều lợi ích như quy trình tự động hoàn toàn giúp giảm thiểu quy trình thủ công tốn thời gian, từ đó giúp phát hiện nhanh chóng các mầm bệnh. Tính di động, phát hiện đa phân vùng, yêu cầu mẫu thấp và tính tiêu thụ một lần là những thế mạnh để công nghệ này có thể được dùng trong các xét nghiệm tại chỗ và đồng thời giảm chi phí tổng thể của thiết bị [20].

Ngoài ra, công nghệ này đối mặt với nhiều yếu tố thách thức mà giới hạn khả năng áp dụng của chúng. Một nhược điểm chính là khả năng phân tích của mẫu rắn không tan

trong bất kỳ dung môi nào. Các mẫu rắn có thể không được phát hiện do hạn chế của dòng chảy của mẫu hoặc tình trạng tắc mẫu trong các kênh vi sinh lỏng. Ngược lại, một số vật liệu polymer tương tác với các thành phần trong con chip hoặc các chất dung môi. Điều này có thể ảnh hưởng đáng kể đến kết quả, thay đổi độ nhạy và đặc hiệu của chip cảm biến miễn dịch. Những giới hạn trên cần được nghiên cứu thêm, thay đổi và điều chỉnh tùy theo mục đích sử dụng của các con chip.

4. Kết luận

Hiện nay, việc phát triển các hệ thống thông minh như các thiết bị chẩn đoán thông minh, chip vi lưu tích hợp cảm biến sinh học đang thu hút sự chú ý vì vai trò của chúng trong quản lý và kiểm soát mầm bệnh, phát hiện nhanh các vùng truyền nhiễm. Tuy nhiên, việc ứng dụng trong thực tiễn còn nhiều hạn chế cũng như cần nhiều thực nghiệm trong lâm sàng để chứng minh tính hiệu quả và tính linh động của nó. Công nghệ vi lưu tích hợp với các hệ thống cảm biến và giám sát thông minh vẫn là một giải pháp tiềm năng để theo dõi các dấu hiệu quan trọng của các mầm bệnh, và trong việc xác định các ca truyền nhiễm trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Parihar A, Parihar DS, Ranjan P, Khan R. Role of microfluidics-based point-of-care testing (POCT) for clinical applications. *Advanced Microfluidics-Based Point-of-Care Diagnostics*. CRC Press; 2022: 39-60.
- [2] Nguyễn Thanh Hải, Bùi Thanh Tùng, Phạm Thị Minh Huệ, *Phòng sinh học trong y dược học – Hướng nghiên cứu cần đẩy mạnh*, Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Y Dược. 33(1) (2017) 1-4. <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4070>.
- [3] Berlanda SF, Breitfeld M, Dietsche CL, Dittrich PS. Recent advances in microfluidic technology for bioanalysis and diagnostics. *Anal Chem*. 2020;93(1):311-331.
- [4] Fu X, Sun J, Liang R, Guo H, Wang L, Sun X. Application progress of microfluidics-integrated biosensing platforms in the detection of foodborne pathogens. *Trends Food Sci Technol*. 2021;116:115-129.
- [5] Liu W, Yue F, Lee LP. Integrated point-of-care molecular diagnostic devices for infectious diseases. *Acc Chem Res*. 2021;54(22):4107- 4119.
- [6] Goran T. Vladislavljević, Nauman Khalid, Marcos A. Neves, Takashi Kuroiwa, Mitsutoshi Nakajima, Kunihiro Uemura, Sosaku Ichikawa, Isao Kobayashi. *Industrial lab-on-a-chip: Design, applications and scale-up for drug discovery and delivery*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Volume 65, Issues 11–12, 2013, Pages 1626-1663.
- [7] J.C. McDonald and G.M. Whitesides. Poly (dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices, *Accounts of Chemical Research*. 35 (2002) 491–499.
- [8] Y.Chen, L. Zang, G. Chen. Fabrication, modification, and application of poly (methyl methacrylate) microfluidic chips, *Electrophoresis*. 29 (2008) 1801–1814.
- [9] Peng Chen, Chen Chen, Huiying Su, Mengfan Zhou, Shunji Li, Wei Du, Xiaojun Feng, Bi-Feng Liu. Integrated and finger-actuated microfluidic chip for point-of-care testing of multiple pathogens. *Talanta*, Volume 224, 2021, 121844.
- [10] Yen, Tran Thi Hai; Linh, Dang Thuy; Minh Hue, Pham Thi. The Application of Microfluidics in Preparing Nano Drug Delivery Systems. *VNU Journal*

- of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, [S.l.], v. 35, n. 1, june 2019. ISSN 2588-1132.
- [11] Zaytseva NV, Goral VN, Montagna RA, Baeumner AJ. Development of a microfluidic biosensor module for pathogen detection. *Lab Chip*. 2005;5(8):805-811
- [12] Fu E, Lutz B, Kauffman P, Yager P. Controlled reagent transport in disposable 2D paper networks. *Lab Chip*. 2010;10(7):918-920.
- [13] Yin K, Ding X, Xu Z, Li Z, Wang X, Zhao H, Otis C, Li B, Liu C. Multiplexed colorimetric detection of SARS-CoV-2 and other pathogens in wastewater on a 3D printed integrated microfluidic chip. *Sens Actuators B Chem*. 2021 Oct 1;344:130242.
- [14] Liu J, Geng Z, Fan Z, Liu J, Chen H. Point-of-care testing based on smartphone: The current state-of-the-art (2017–2018). *Biosens Bioelectron*. 2019;132:17-37.
- [15] Russell SM, Alba-Patiño A, Barón E, Borges M, Gonzalez-Freire M, de la Rica R. Biosensors for managing the COVID-19 cytokine storm: challenges ahead. *ACS Sens*. 2020;5(6):1506-1513.
- [16] Xu W, Liu J, Song D, Li C, Zhu A, Long F. Rapid, label-free, and sensitive point-of-care testing of anti-SARS-CoV-2 IgM/IgG using allfiber Fresnel reflection microfluidic biosensor. *Microchim Acta*. 2021; 188(8):1-11.
- [17] Rezvani Jalal N, Mehrbod P, Shojaei S, et al. Magnetic nanomaterials in microfluidic sensors for virus detection: a review. *ACS Appl Nano Mater*. 2021;4(5):4307-4328.
- [18] Li J, Lillehoj PB. Microfluidic magneto immunosensor for rapid, high sensitivity measurements of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in serum. *ACS Sens*. 2021;6(3):1270-1278.
- [19] Krafft B, Tycova A, Urban RD, Dusny C, Belder D. Microfluidic device for concentration and SERS-based detection of bacteria in drinking water. *Electrophoresis*. 2021;42(1–2):86-94.
- [20] Parihar A, Yadav S, Sadique MA, et al. Internet-of-medical-things integrated point-of-care biosensing devices for infectious diseases: Toward better preparedness for futuristic pandemics. *Bioeng Transl Med*. 2023; 8(3):e10481. doi:10.1002/btm2.10481.