chúng tôi vẫn xem xét dùng thuốc kháng kết tập tiểu cầu đơn để duy trì sự ổn định của giá đỡ nội mạch và vẫn kiểm soát huyết áp để hạn chế xuất huyết tiến triển.

## V. KẾT LUẬN

Khi biến chứng xuất huyết hiện diện sẽ liên quan đến kết cục lâm sàng xấu của bệnh nhân sau đặt giá đỡ động mạch cảnh trong đoạn ngoài sọ trong nhồi máu não cấp.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO


1. **Đặng Minh Đức, Đỗ Đức Thuần, Phạm Đình Đài và cs.** Kết quả lấy huyết khối bằng dụng cụ cơ học điều trị đột quỵ nhồi máu não cấp do tắc Tandem. Tạp chí Y - Dược học Quân sự. 2020; 2:49-54.
2. **Allard J, Delvoye F, Pop R, et al.** 24-Hour Carotid Stent Patency and Outcomes After Endovascular Therapy: A Multicenter Study. 2023; 54(1):124-131.
3. **Arba F, Rinaldi C, Caimano D, et al.** Blood-Brain Barrier Disruption and Hemorrhagic Transformation in Acute Ischemic Stroke: Systematic Review and Meta-Analysis. Front Neurol. 2020; 11(594613.
4. **Da Ros V, Scaggiante J, Pitocchi F, et al.** Mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke with tandem occlusions: impact of extracranial carotid lesion etiology on endovascular management and outcome. Neurosurg Focus. 2021; 51(1):E6.
5. **Goyal M, Menon B K, van Zwam W H, et al.** Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials. Lancet. 2016; 387(10029):1723-1731.
6. **K.Feil, M.Herzberg, F.Dorn, et al.** Tandem Lesions in Anterior Circulation Stroke: Analysis of the German Stroke Registry-Endovascular Treatment. Stroke. 2021; 52(4):1265-1275..
7. **M.Marko, P.Cimflova, A.Y.Poppe, et al.** Management and outcome of patients with acute ischemic stroke and tandem carotid occlusion in the ESCAPE-NA1 trial. J Neurointerv Surg. 2022; 14(5):1-5.
8. **Zhu F, Labreuche J, Haussen D C, et al.** Hemorrhagic Transformation After Thrombectomy for Tandem Occlusions. Stroke. 2019; 50(2):516-519.


# XÂY DỰNG QUY TRÌNH REAL-TIME PCR ĐA MỒI XÁC ĐỊNH 3 CHỦNG VI KHUẨN LÂY TRUYỀN QUA ĐƯỜNG TÌNH DỤC THƯỜNG GẶP: CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEAE, TREPONEMA PALLIDUM

**Hoàng Hải Yến[1], Nguyễn Thị Thu Hường[1], Phạm Thế Vương[1], Nguyễn Thị Vân Anh[1], Lê Thị Nga[1], Trần Tuấn Anh[2], Nguyễn Mạnh Trí[1]**


## TÓM TẮT

**Mục tiêu**: Xây dựng quy trình real-time PCR đa mồi phát hiện 3 chủng vi khuẩn lây nhiễm qua đường sinh dục thường gặp gồm: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum từ dịch phết cổ tử cung. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**: 3 mẫu chứng chuẩn của 3 chủng vi khuẩn Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum và 39 mẫu bệnh phẩm dịch phết cổ tử cung của những phụ nữ viêm âm đạo đến khám tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội từ 8/2023 đến 12/2023. **Kết quả**: Quy trình real-time PCR đa mồi cho kết quả tốt trong khoảng nhiệt độ gắn mồi $56^0$C đến $62^0$C với chu kì ngưỡng từ 16,82 đến 20,12; thời gian gắn mồi từ 20 đến 60 giây có chu kỳ ngưỡng từ 17,02 đến 19,48. Giới hạn phát hiện (LOD) của quy trình với cả 3 chủng vi khuẩn là $10^2$ copies/phản ứng, với tỉ lệ phát hiện 100%. Trong khi đó, ở nồng độ 1 copy/phản ứng, khả năng phát hiện của Neisseria gonorrhoeae là 95% và Chlamydia trachomatis là 100%. Kết quả đối chiếu song song cho thấy sự tương đồng hoàn toàn trên 39 bệnh nhân giữa hai phương pháp, với 11 mẫu dương tính Neisseria gonorrhoeae, 18 mẫu dương tính Chlamydia trachomatis và 10 mẫu âm tính với cả 3 tác nhân. **Kết luận:** Xây dựng thành công quy trình real-time PCR đa mồi có đủ điều kiện để xét nghiệm phát hiện đồng thời 3 chủng vi khuẩn: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum từ dịch phết cổ tử cung. ***Từ khóa:*** real-time PCR đa mồi, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum



*[1]Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội*
*[2]Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương*
Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Hải Yến
Email: trangnhi0109@gmail.com


Ngày nhận bài: 10.4.2024
Ngày phản biện khoa học: 14.5.2024
Ngày duyệt bài: 26.6.2024



## SUMMARY

### DEVELOPMENT OF A MULTIPLEX REAL-TIME PCR ASSAY FOR THE DETECTION OF THREE COMMON SEXUALLY TRANSMITTED PATHOGENS: CHLAMYDIA TRACHOMATIS, NEISSERIA GONORRHOEAE, AND TREPONEMA PALLIDUM

**Objective:** To establish a multiplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of three common sexually transmitted pathogens: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, and Treponema pallidum. **Subjects and Methods:** Three reference strains of C. trachomatis, N. gonorrhoeae, and T. pallidum. 39 clinical specimens of cervical swabs from women with vaginitis who visited Hanoi Obstetrics and

Gynecology Hospital from August to December 2023. **Results:** The multiplex real-time PCR assay performed well within the annealing temperature range of 56°C to 62°C and annealing time of 20 to 60 seconds. The limit of detection (LOD) of the assay for all three pathogens was $10^2$ copies/reaction with a 100% detection rate. At a concentration of 1 copy/reaction, the detection rate of N. gonorrhoeae was 95% and C. trachomatis was 100%. Comparative analysis showed complete concordance between the two methods in all 39 patients: 11 samples positive for N. gonorrhoeae, 18 samples positive for C. trachomatis, 10 samples negative for all three pathogens. **Conclusion:** The successfully developed multiplex real-time PCR assay is applicable for the simultaneous detection of C. trachomatis, N. gonorrhoeae, and T. pallidum with high efficiency and accuracy. ***Keywords:*** multiplex real-time PCR, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh lây truyền qua đường tình dục (STDs - sexually transmitted diseases) là một trong những bệnh cấp tính phổ biến nhất trên thế giới. Bệnh lây truyền qua đường tình dục có thể gây ra các tình trạng cấp tính như viêm cổ tử cung, viêm niệu đạo, lở loét bộ phận sinh dục dẫn đến các biến chứng nghiêm trọng và lâu dài, bao gồm viêm vùng chậu, chửa ngoài tử cung, vô sinh, đau vùng chậu mãn tính, bệnh tim mạch ở người lớn, tử vong sơ sinh, đẻ non, mù lòa hoặc tàn tật nặng ở trẻ sơ sinh và tăng nguy cơ nhiễm và lây truyền HIV[1]. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) tuyên bố STDs là một trong năm loại bệnh phổ biến trên thế giới tìm kiếm sự trợ giúp y tế nhiều nhất. Theo ước tính của WHO, năm 2020 có 218 triệu ca nhiễm mới với 1 trong 3 tác nhân lây truyền qua đường tình dục trên toàn cầu như: Chlamydia trachomatis (129 triệu), Neisseria gonorrhoeae (82 triệu) và Treponema pallidum (7,1 triệu)[1,2]. Phần lớn nhiễm các tác nhân lây truyền qua đường tình dục (STIs - sexually transmitted infections) đều có các triệu chứng không điển hình, rất khó chẩn đoán. Vì vậy, phát triển các phương pháp sàng lọc và chẩn đoán nhiễm STIs nhanh chóng, chính xác có độ nhạy, độ đặc hiệu cao sẽ giúp các thầy thuốc có sự lựa chọn phương pháp điều trị kịp thời, hạn chế được sự lây lan STIs ra cộng đồng, góp phần ngăn chặn được các biến chứng nghiêm trọng và di chứng lâu dài cho phụ nữ và trẻ sơ sinh trên toàn thế giới.

Hiện tại các phương pháp chẩn đoán truyền thống như xét nghiệm soi tươi trực tiếp, nuôi cấy, xét nghiệm máu phát hiện kháng nguyên chỉ có thể phát hiện được một loại tác nhân gây bệnh và có độ nhạy, độ đặc hiệu thấp, thời gian trả kết quả sẽ kéo dài nếu muốn phát hiện nhiều tác nhân gây bệnh. Vì vậy, nên lựa chọn một loại xét nghiệm có thể phát hiện đồng thời nhiều tác nhân gây bệnh trong cùng một phản ứng có độ chính xác cao, giúp đơn giản hóa quy trình chẩn đoán, rút ngắn thời gian trả kết quả và chi phí thấp nhằm đưa ra phác đồ điều trị sớm là việc làm hết sức cần thiết. Cho đến nay, xét nghiệm sinh học phân tử như multiplex PCR hoặc Realtime RCR được coi là một phương pháp có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn so với kỹ thuật nuôi cấy tác nhân thông thường[3–6], có thể phát hiện nhiều tác nhân gây bệnh trong cùng một phản ứng.

Kỹ thuật Realtime PCR đa mồi phát triển từ kỹ thuật Realtime PCR truyền thống khi sử dụng cùng lúc nhiều cặp mồi, nhiều đầu dò để xác định nhiều tác nhân gây bệnh trong một phản ứng nên hiện nay được phát triển và lựa chọn hàng đầu trong chẩn đoán các tác nhân gây bệnh trên lâm sàng, trong đó có các vi khuẩn, nấm gây bệnh lây truyền qua đường tình dục. Ưu điểm của kỹ thuật này là có độ nhạy, độ đặc hiệu cao, phát hiện đồng thời nhiều tác nhân gây bệnh, quá trình vận chuyển, lưu trữ, bảo quản mẫu không quá phức tạp như soi tươi hay nuôi cấy truyền thống, rất hữu ích trong việc phát hiện sớm các tác nhân gây bệnh. Tuy nhiên, việc nghiên cứu thiết lập các cặp mồi, đầu dò trong từng bước để phục vụ xây dựng quy trình, tìm ra các điều kiện phù hợp cho kỹ thuật Realtime PCR đa mồi như nhiệt độ gắn mồi, lựa chọn được Master mix (buffer, dNTPs, $MgCl_2$) có độ nhạy cao là hết sức công phu và tốn nhiều công sức.

Hiện tại, có rất nhiều bộ kit hóa chất thương mại trên thị trường như kit multiplex real-time PCR của Roch, Abbott, Seegene, Clart.... được giới thiệu để chẩn đoán nhiễm STIs, tuy nhiên có một số hạn chế nhất định như giá thành tăng cao tùy thuộc vào việc phát hiện càng nhiều tác nhân gây bệnh trong một phản ứng (từ 2 tác nhân), không chủ động về nguồn cung cấp hóa chất.

Trên cơ sở đó, nghiên cứu "Xây dựng quy trình quy trình real-time PCR đa mồi phát hiện 3 chủng vi khuẩn lây nhiễm qua đường sinh dục thường gặp: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum từ dịch phết cổ tử cung" tại Việt Nam là vô cùng cần thiết.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu gồm 3 mẫu chuẩn của 3 chủng vi khuẩn Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum (Vircell) và 39 mẫu bệnh phẩm dịch phết cổ tử cung của những

phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ bị viêm sinh dục.

- ***Tiêu chuẩn lựa chọn***: Mẫu chuẩn của 3 tác nhân Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum (Vircell); Phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ từ 18-49 tuổi, đồng ý tham gia nghiên cứu, đang bị viêm sinh dục hoặc có triệu chứng nghi ngờ mắc bệnh lây truyền qua đường tình dục.

- ***Tiêu chuẩn loại trừ:*** Phụ nữ không thuộc độ tuổi sinh đẻ; Không đồng ý tham gia nghiên cứu

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

- Thu thập và xử lý các mẫu bệnh phẩm và các mẫu chứng chuẩn (Vircell).

- Thiết kế các cặp mồi và các đầu dò đặc hiệu cho 3 chủng vi khuẩn: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum.

- Xây dựng quy trình real-time PCR đa mồi phát hiện 3 loại vi khuẩn.

- Đánh giá độ nhạy và giới hạn phát hiện của quy trình real-time PCR đa mồi dựa trên các mẫu chứng chuẩn.

- Áp dụng quy trình real-time PCR đa mồi trên các mẫu bệnh phẩm viêm âm đạo và đối chiếu kết quả song song với bộ sinh phẩm đạt chứng nhận IVD (PANA RealTyper STD).

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng thí nghiệm kết hợp nghiên cứu mô tả cắt ngang

- Số liệu thu thập được xử lý trên phần mềm thống kê y sinh học SPSS 20.0.

**2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 8/2023 đến tháng 12/2023

- Địa điểm tiến hành: Trung tâm Sàng lọc, Chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội.

**2.4. Đạo đức nghiên cứu.** Nghiên cứu được chấp thuận của Hội đồng đạo đức của Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội, quyết định số 1373 CN/BVPS – TT ĐT CĐT ngày 04/11/2022.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

**3.1. Kết quả thiết kế, đánh giá các cặp mồi và đầu dò**

***Bảng 3.1. Các cặp mồi và đầu dò phát hiện 3 loại vi khuẩn Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum***

| Tên mồi/đầu dò | Trình tự nucleotide |
|---|---|
| Neisseria.G_qF | GGTCTTGGTTTCCAACAGGT |
| Neisseria.G_qR | GAGCTGGACGACTTGAAACA |
| Chlamydia.T_qF | ATCATCTTTGCGGTTGCGTG |
| Chlamydia.T_qR | AGTACAAACGCCTAGGGTGC |
| Treponema.P_qF | AGGTTCAAGGAATTCGGTTCT |
| Treponema.P_qR | AAGACACACGGGATAGGACAC |
| Neisseria.G_P | FAM-CAGAGAGCCGAAGCAGAGCG-ZEN/Iowa Black FQ* |
| Chlamydia.T_P | YAK-CCTGTGACCTTCATTATGTCGGAG -ZEN/Iowa Black FQ* |
| Treponema.P_P | Texas Red-X-CCCTCTTCTACTGGGCCACTACCTTC -ZEN/Iowa Black FQ* |

***Nhận xét:*** Trình tự các cặp mồi và đầu dò phát hiện 3 chủng Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum được thiết kế trên dựa trên trình tự chuẩn mang accession number tương ứng là CP003910.1, CP015307.1 và CP021113.1 từ GenBank của NCBI. Các đầu dò sử dụng tiêu chuẩn quencher phức hợp "ZEN/Iowa Black FQ" của IDT.

***Bảng 3.2. Kết quả đánh giá đặc tính vật lý của các cặp mồi và đầu dò***

| Tên mồi/đầu dò | Chiều dài (nu) | %GC | Tm (°C) | Hairpin (ΔG) | Self-dimer (ΔG) |
|---|---|---|---|---|---|
| Chlamydia.T_qF | 20 | 50 | 56,5 | -1,04 | -5,16 |
| Chlamydia.T_qR | 20 | 55 | 57,3 | -0,14 | -1,34 |
| Neisseria.G_qF | 20 | 50 | 60 | -1,19 | -3,07 |
| Neisseria.G_qR | 20 | 50 | 60 | 0,13 | -1,94 |
| Treponema.P_qF | 21 | 42,9 | 54 | -0,68 | -1,94 |
| Treponema.P_qR | 21 | 52,4 | 56,5 | 0 | -3,61 |
| Neisseria.G_P | 20 | 65 | 66 | -1,43 | -3,61 |
| Chlamydia.T_P | 24 | 50 | 64,5 | -0,27 | -3,61 |
| Treponema.P_P | 26 | 57,7 | 61,2 | -0,5 | -3,07 |

***Nhận xét:*** Chiều dài của mồi từ 20 đến 21 nu (nucleotide); %GC từ 42,9% đến 55% và Tm từ 54°C đến 60°C. Chiều dài của đầu dò từ 20 đến 26 nu; %GC từ 50% đến 65% và Tm từ 61,2°C đến 66 °C. Các chỉ số hairpin (ΔG) của cả mồi và đầu dò đều lớn hơn -2 và chỉ số self-

dimer (ΔG) đều lớn hơn -5.

**3.2. Kết quả khảo sát quy trình real-time PCR đa mồi**

***Bảng 3.3. Kết quả khảo sát nhiệt độ bắt cặp/kéo dài***

| Thử nghiệm | Nhiệt độ gắn mồi, đầu dò (°C) | Chu kì ngưỡng (Ct) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | CT* | NG** | TP*** |
| 1 | 56 | 18,02 | 17,62 | 20,12 |
| 2 | 58 | 17,90 | 17,32 | 19,63 |
| 3 | 60 | 17,57 | 16,82 | 19,78 |
| 4 | 62 | 17,89 | 16,93 | 19,83 |

*: Chlamydia trachomatis, **: Neisseria gonorrhoeae, ***: Treponema pallidum

***Nhận xét:*** Kết quả cho thấy nhiệt độ gắn mồi từ 56°C đến 62°C, mẫu chuẩn dương Neisseria gonorrhoeae có chu kì ngưỡng từ 16,82 đến 17,62; mẫu chuẩn dương Chlamydia trachomatis có chu kì ngưỡng từ 17,57 đến 18,02; mẫu chuẩn dương Treponema pallidum có chu kì ngưỡng từ 19,63 đến 20,12.

***Bảng 3.4. Kết quả khảo sát thời gian bắt cặp/kéo dài***

| Thử nghiệm | Thời gian gắn mồi và kéo dài chuỗi (giây) | Chu kì ngưỡng (Ct) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | CT* | NG** | TP*** |
| 1 | 20 | 18,25 | 17,08 | 19,05 |
| 2 | 30 | 18,04 | 17,06 | 19,16 |
| 3 | 40 | 18,16 | 17,02 | 19,48 |
| 4 | 50 | 18,23 | 17,01 | 19,32 |
| 5 | 60 | 18,18 | 17,16 | 19,22 |

*: Chlamydia trachomatis, **: Neisseria gonorrhoeae, ***: Treponema pallidum

***Nhận xét:*** Kết quả cho thấy, thời gian gắn mồi và kéo dài từ 20 đến 60 giây, mẫu chuẩn dương Neisseria gonorrhoeae có chu kì ngưỡng từ 17,02 đến 17,16; mẫu chuẩn dương Chlamydia trachomatis có chu kì ngưỡng từ 18,04 đến 18,25; mẫu chuẩn dương Treponema pallidum có chu kì ngưỡng từ 19,05 đến 19,48.

**3.3. Kết quả đánh giá quy trình real-time PCR đa mồi**

***Bảng 3.5. Kết quả đánh giá giới hạn phát hiện (LOD)***

| Tác nhân | Số lần lặp lại mẫu chứng chuẩn | | | | LOD (copy/phản ứng) |
|---|---|---|---|---|---|
| | $10^3$ | $10^2$ | $10^1$ | 1 | |
| Neisseria gonorrhoeae | 3/3(100%) | 20/20(100%) | 20/20(100%) | 19/20(95%) | 1 |
| Chlamydia trachomatis | 3/3(100%) | 20/20(100%) | 20/20(100%) | 20/20(100%) | 1 |
| Treponema pallidum | 3/3(100%) | 20/20(100%) | 8/20(40%) | 1/20(5%) | $10^2$ |

***Nhận xét:*** Để tính toán giới hạn phát hiện (LOD), dải nồng độ mẫu chuẩn dương gồm $10^3$, $10^2$, $10^1$, $10^0$ copy/phản ứng của mỗi tác nhân được dùng làm khuôn cho phản ứng realtime PCR. Lặp lại phản ứng 3 lần đối với nồng độ $10^3$ copy/phản ứng và 20 lần đối với các nồng độ thấp hơn. Kết quả cho thấy, Neisseria gonorrhoeae dương tính 19/20 lần (95%) và Chlamydia trachomatis dương tính 20/20 (100%) lần ở nồng độ 1 copy/phản ứng; Treponema pallidum dương tính 20/20 lần (100%) ở nồng độ $10^2$ copy/phản ứng. Ở nồng độ thấp hơn, chỉ có 5-40% số lần dương tính.

***Bảng 3.6. Kết quả áp dụng và so sánh với bộ sinh phẩm thương mại***

| Mẫu bệnh phẩm | | Bộ sinh phẩm thương mại | Quy trình real-time PCR đa mồi |
|---|---|---|---|
| Neisseria gonorrhoeae | Âm tính | 28 | 28 |
| | Dương tính | 11 | 11 |
| Chlamydia trachomatis | Âm tính | 21 | 21 |
| | Dương tính | 18 | 18 |
| Treponema pallidum | Âm tính | 39 | 39 |
| | Dương tính | 0 | 0 |

***Nhận xét:*** Trong số 39 mẫu bệnh phẩm sử dụng để so sánh với bộ sinh phẩm thương mại (PANA RealTyper™ STD Kit, Hàn Quốc), có 11 mẫu dương tính Neisseria gonorrhoeae, 18 mẫu dương tính Chlamydia trachomatis và 10 mẫu âm tính với cả 3 tác nhân. Kết quả đối chiếu song song cũng cho thấy sự tương đồng hoàn toàn trên 39 bệnh nhân giữa hai phương pháp.

## IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu này sử dụng hai phần mềm là Primer-BLAST được phát triển bởi NCBI và Primer3 được phát triển bởi Viện Y khoa Howard Hughes. Đây là hai phần mềm mã nguồn mở giúp thiết kế các cặp mồi và đầu dò để phát hiện đặc hiệu 3 tác nhân vi khuẩn: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum. Kết quả trong bảng 3.2 đánh giá đặc tính vật lý bằng công cụ OligoAnalyzer (IDT) cho thấy các mồi đều nằm trong khoảng tiêu chuẩn với chiều dài thực tế 20 đến 21 nucleotide, đảm bảo rằng các mồi không kết cặp tạo cấu trúc ảnh hưởng tiêu cực đến phản ứng real-time PCR[7]. Bên cạnh đó, các đầu dò với quencher phức hợp "ZEN–Iowa Black FQ" cho ưu điểm vượt trội về việc giảm huỳnh quang nền và tăng cường độ tín hiệu điểm cuối[8].

Trên cơ sở các mồi và đầu dò đảm bảo tiêu chuẩn vật lý, việc xây dựng quy trình real-time

PCR đa mồi được thực hiện trên các mẫu chứng chuẩn từ hãng Vircell để đảm bảo độ tin cậy của quy trình xét nghiệm. Kết quả khảo sát nhiệt độ gắn mồi từ 56°C đến 62°C trên 3 mẫu chuẩn dương cho thấy chu kỳ ngưỡng dao động từ 16,82 đến 20,12 (Bảng 3.3). Một quy trình real-time PCR tiêu chuẩn với 45 chu kì phản ứng thì khoảng chu kỳ ngưỡng từ 16 đến 20 nằm ở giai đoạn sớm, tín hiệu rõ ràng cho việc phát hiện và khẳng định tác nhân mục tiêu[7,8]. Như vậy có thể thấy rằng quy trình real-time PCR đa mồi cho phép phát hiện tương đối rõ ràng 3 chủng vi khuẩn (Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum) trong dải nhiệt độ gắn mồi từ 56°C đến 62°C.

Trong khi đó, thời gian gắn mồi và kéo dài chuỗi của một quy trình real-time PCR tiêu chuẩn là 60 giây[7,8]. Tùy thuộc vào tác nhân nghiên cứu và thiết kế ban đầu, thời gian này có thể dao động từ 5 giây đến 60 giây, bởi hiệu suất tổng hợp tối đa của enzyme polymerase có thể đạt tới 100 bp/giây. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát dải thời gian gắn mồi và kéo dài từ 20 giây đến 60 giây. Kết quả trên Bảng 3.4 cho thấy chu kỳ ngưỡng dao động từ 17,02 đến 19,48. Như đã đề cập ở trên thì chu kì ngưỡng từ 16 đến 20 là lý tưởng cho một quy trình xét nghiệm dựa trên real-time PCR.

Quy trình real-time PCR đa mồi sau tối ưu hóa các điều kiện cần được đánh giá về độ nhạy và giới hạn phát hiện thông qua việc khảo sát giới hạn phát hiện với dải nồng độ mẫu chứng chuẩn. Nồng độ mẫu chứng chuẩn khảo sát từ 1 đến $10^3$ copies/phản ứng. Số liệu Bảng 3.5 ghi nhận tại nồng độ 1 copy/phản ứng của chứng chuẩn Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và nồng độ $10^2$ copies/phản ứng của chứng chuẩn Treponema pallidum lên tín hiệu dương tính trên 95% số lần lặp lại. Kết quả đánh giá giới hạn phát hiện của quy trình real-time PCR đa mồi tương đối khả quan với khả năng phát hiện ở nồng độ 1 copy/phản ứng cho 2 tác nhân vi sinh vật Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và nồng độ $10^2$ copies/phản ứng cho Treponema pallidum. Ngưỡng phát hiện này cũng tương đương với các nghiên cứu đã công bố[5–7].

Bên cạnh đó, quy trình real-time PCR đa mồi cũng được đánh giá độ tin cậy thông qua việc đối chiếu kết quả song song trên mẫu bệnh phẩm so với một quy trình xét nghiệm hay bộ sinh phẩm thương mại đã được chứng nhận tiêu chuẩn (IVD). Thử nghiệm được tiến hành trên 39 mẫu bệnh phẩm là dịch phết cổ tử cung từ 39 phụ nữ được chẩn đoán viêm nhiễm đường sinh dục (Bảng 3.6). Kết quả ở cả 2 phương pháp đều cho thấy 11 bệnh nhân dương tính Neisseria gonorrhoeae và 18 bệnh nhân dương tính Chlamydia trachomatis. Trong số 39 mẫu bệnh phẩm có 10 mẫu âm tính với 3 chủng vi khuẩn khảo sát. Điều này có thể giải thích là do bệnh nhân nhiễm các tác nhân vi khuẩn khác hoặc viêm nhiễm không do nguyên nhân vi khuẩn. Kết quả đối chiếu song song cũng cho thấy sự tương đồng hoàn toàn trên 39 bệnh nhân giữa hai phương pháp; cung cấp minh chứng cho độ tin cậy của quy trình real-time PCR đa mồi phát hiện 3 chủng vi khuẩn: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum.

## V. KẾT LUẬN

Xây dựng thành công quy trình real-time PCR đa mồi có đủ điều kiện để xét nghiệm phát hiện đồng thời 3 chủng vi khuẩn: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae và Treponema pallidum từ dịch phết cổ tử cung.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO


1. **Sexually transmitted infections (STIs).** Accessed February 23, 2024. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)
2. **Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A.** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018;68(6):394-424. doi:10.3322/caac.21492
3. **Kim Y, Kim J, Lee KA.** Analytical Performance of Multiplex Real-Time PCR for Six Sexually Transmitted Pathogens. Clin Lab. 2015;61(11):1749-1754. doi:10.7754/clin.lab.2015.150413
4. **Rumyantseva T, Golparian D, Nilsson CS, et al.** Evaluation of the new AmpliSens multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium, and Trichomonas vaginalis. APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand. 2015;123(10):879-886. doi:10.1111/apm.12430
5. **Gaydos CA, Cartwright CP, Colaninno P, et al.** Performance of the Abbott RealTime CT/NG for Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. J Clin Microbiol. 2010; 48(9):3236-3243. doi:10.1128/jcm.01019-10
6. **Performance of the cobas CT/NG Test Compared to the Aptima AC2 and Viper CTQ/GCQ Assays for Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae Journal of Clinical Microbiology.** Accessed February 23, 2024.
7. **Real-time qPCR Guide: Assay Design, Data Analysis, Troubleshooting IDT.** Accessed February 23, 2024.
8. **qPCR Probes PrimeTime IDT.** Integrated DNA Technologies. Accessed February 23, 2024.

# THỰC TRẠNG THỰC HIỆN VIỆC SÀNG LỌC ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG DINH DƯỠNG CHO BỆNH NHÂN NHẬP VIỆN ĐIỀU TRỊ NỘI TRÚ TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ VIỆT ĐỨC NĂM 2023

**Ngô Thị Linh[1], Phạm Đức Long[1], Đặng Đức Huấn[1], Vũ Thu Hà[1],Trịnh Thị Thanh Bình[1], Đỗ Tất Thành[1], Nguyễn Lương Bằng[1]**

## TÓM TẮT

Thực hiện sàng lọc và đánh giá dinh dưỡng cho bệnh nhân nhập viện đã được Bộ y tế yêu cầu trở thành một phần thường quy khi bệnh nhân nhập viện. Năm 2016, bệnh viện Hữu nghị Việt Đức triển khai thực hiện sàng lọc đánh giá tình trạng dinh dưỡng cho bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú bằng mẫu phiếu in sẵn. Tới nay, với sự hỗ trợ của phần mềm bệnh viện, Nhân viên y tế có thể thực hiện nhập số liệu sàng lọc dinh dưỡng trên phần mềm và cho kết quả tình trạng dinh dưỡng của bệnh nhân nhanh chóng. Nghiên cứu của chúng tôi khảo sát việcthực hiện sàng lọc dinh dưỡng cho bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú tại bệnh viện hữu nghị việt đức trong 6 tháng của năm 2023. Kết quả cho thấy: Tỉ lệ thực hiện sàng lọc đánh giá TTDD cho bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú là 89.6%; trong đó 94.8% bệnh nhân được sàng lọc ngay trong vòng 36 giờ nhập viện. Trong số những bệnh nhân nằm viện trên 7 ngày có 63.7% bệnh nhân được sàng lọc đánh giá lại TTDD.

***Từ khóa:*** Suy dinh dưỡng, tình trạng dinh dưỡng, sàng lọc, Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức

## SUMMARY

### CURRENT STATUS OF SCREENING AND ASSESSMENT OF NUTRITIONAL STATUS FOR PATIENTS ADMITTED TO VIET DUC UNIVERSITY HOSPITAL IN 2023

Screening and assessment of nutritional status for hospitalized patients has been required by the Ministry of Health to become a routine part of patient admission. In 2016, Viet Duc University Hospital implemented screening and assessment of nutritional status for patients admitted to the hospital by using pre-printed forms. Up to now, with the support of hospital software, medical staff can enter nutritional screening data on the software and quickly provide results of the patient's nutritional status. Our study research the implementation of nutritional screening and assessment for inpatients at Viet Duc University Hospital in 6 months of 2023. The results showed: Rate of implementation of screening and assessment TTDD for inpatients is 89.6%; Of which 94.8% of patients were screened within 36 hours of admission. Among patients hospitalized for more than 7 days, 63.7% of patients were screened and re-evaluated for nutrition status. ***Keywords:*** Malnutrition, nutritional status, screening, Viet Duc University Hospital.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dinh dưỡng là một chỉ tiêu quan trọng trong đánh giá hiệu quả điều trị và chăm sóc người bệnh. Gia tăng suy dinh dưỡng có liên quan tới sự suy nhược cơ, đặc biệt là cơ hô hấp, giảm khả năng miễn dịch, thay đổi cấu trúc và chức năng của ruột, chậm lành vết thương,... Những thay đổi này sẽ kéo theo tăng thời gian nằm viện, tăng chi phí nằm viện, ảnh hưởng nghiêm trọng tới chất lượng cuộc sống người bệnh [1], [2], [3]

Gần đây, việc đảm bảo cung cấp dinh dưỡng thích đáng đã trở thành mối quan tâm lớn trong chăm sóc BN trước và sau mổ. Những bệnh nhân bị suy dinh dưỡng nếu được nuôi dưỡng một cách thích hợp trong vòng 7-10 ngày trước mổ thì kết quả phẫu thuật có thể được cải thiện [4].

Sàng lọc và đánh giá tình trạng dinh dưỡng lúc nhập viện cho bệnh nhân cũng được đưa vào là một trong những tiêu chí chấm điểm bệnh viện về mục dinh dưỡng [1]. Năm 2016, bệnh viện Hữu nghị Việt Đức triển khai thực hiện sàng lọc dinh dưỡng cho toàn bộ bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú.

Để nâng cao chất lượng chăm sóc điều trị người bệnh phẫu thuật chúng tôi tiến hành đề tài: *"Khảo sát việc sàng lọc tình trạng dinh dưỡng cho bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú tại bệnh viện Hữu nghị Việt Đức năm 2023".*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

***Tiêu chuẩn lựa chọn:*** Hồ sơ bệnh án điện tử của bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú tại bệnh viện Hữu nghị việt Đức trong 6 tháng (từ tháng 5/2023 tới tháng 10/2023).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

***Thiết kế nghiên cứu:*** Mô tả cắt ngang

***Thời gian nghiên cứu:*** từ tháng 5/2023 tới tháng 5/2024

***Địa điểm nghiên cứu:*** bệnh viện Hữu nghị Việt Đức

***Chọn mẫu:*** Chọn mẫu toàn bộ hồ sơ bệnh án điện tử của bệnh nhân nhập viện điều trị nội trú từ tháng 5/2023 tới tháng 10/2023 thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu. Cỡ

[1]*Bệnh viện Hữu Nghị Việt Đức*
Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Tất Thành
Email: dotatthanh@gmail.com
Ngày nhận bài: 10.4.2024
Ngày phản biện khoa học: 15.5.2024
Ngày duyệt bài: 26.6.2024