

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thanh Hải, Trần Văn Cường. Một số đặc điểm dịch tễ học bệnh nhi tử vong trong 24 giờ đầu tại bệnh viện sản nhi Nghệ An. Tạp chí nghiên cứu và thực hành nhi khoa. 2017;1:21-27.
2. Đỗ Nguyễn Như Huỳnh. Khảo sát đặc điểm trẻ tử vong trong vòng 24 giờ nhập viện tại khoa cấp cứu Bệnh viện Nhi Đồng 1. Luận văn chuyên khoa cấp II. Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch; 2021.
3. Hoàng Trọng Kim, Đỗ Văn Dũng, Nguyễn Phú Lộc. Đặc điểm dịch tễ học của các trường hợp tử vong trong 24 giờ đầu liên quan đến bệnh nhân được chuyển đến từ các cơ sở y tế đến khoa cấp cứu bệnh viện Nhi Đồng 1 từ tháng 3/2003 - 2/2004. Y học Thành Phố Hồ Chí Minh. 2005;9(1):17-21.
4. Trang Giang Sang. Các yếu tố nguy cơ tử vong trong 24 giờ đầu liên quan đến chuyển viện an toàn ở những bệnh nhân tại khoa cấp cứu bệnh viện nhi đồng 1 từ 06/2012 đến 05/2013. Luận văn Thạc sĩ y học. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh; 2013.
5. Trần Nhật Thịnh, Nguyễn Thành Nam, Tạ Văn Trâm. Thực trạng tử vong ở bệnh nhi trong 24 giờ đầu nhập viện tại bệnh viện đa khoa tỉnh Tiền Giang. Tạp chí Y Học Việt Nam. 2023; 530:259-267.
6. Nguyễn Huy Luân. Chuyển viện an toàn cho bệnh nhi. Vũ Minh Phúc. Nhi khoa tập II: Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, năm 2020, trang 702-717.
7. Lee J, Yang WC, Lee EP, et al. Clinical Survey and Predictors of Outcomes of Pediatric Out-of-Hospital Cardiac Arrest Admitted to the Emergency Department. Sci Rep. May 7 2019; 9(1):7032. doi:10.1038/s41598-019-43020-0
8. Topjian AA, Raymond TT, Atkins D, et al. Part 4: Pediatric Basic and Advanced Life Support: 2020 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. Circulation. Oct 20 2020; 142(16_suppl_2): S469-S523. doi:10.1161/CIR.0000000000000901

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH VORICONAZOLE TRONG HUYẾT TƯƠNG BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Dương Ngọc Diễm¹, Nguyễn Tử Thiện Tâm², Nguyễn Thiên Dung²,
Đỗ Thị Kim Yến¹, Nguyễn Anh Duy¹, Trương Thị Thúy Lan¹,
Trần Thị Hồng Kim¹, Nguyễn Thị Nguyệt Thu¹, Lý Xuân Quang⁴,
Văn Thị Hải Hà⁴, Đặng Nguyễn Đoàn Trang^{2,3*}

TÓM TẮT

Mục tiêu. Xây dựng và thẩm định phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) xác định nồng độ voriconazole (VRC) trong huyết tương. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.** Nồng độ VRC được xác định ở bước sóng 255 nm bằng cột XDB RP C18 (150x4,6mm, 5 µm) sử dụng pha động gồm nước: acetonitril (60:40 v/v) với tốc độ dòng 1 mL/phút. Kỹ thuật được thẩm định và ứng dụng trên lâm sàng được mô tả qua một ca bệnh nam 66 tuổi nhiễm Aspergillus xâm lấn tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. **Kết quả.** Kỹ thuật HPLC giúp phát hiện chính xác nồng độ VRC với độ đúng, độ chính xác, độ chọn lọc và độ ổn định cao. Phương pháp có độ tuyến tính cao ($R^2 = 0,9997$) trong khoảng 0,25 – 10 µg/mL. Nồng độ VRC có tương quan chặt chẽ với hiệu quả và độc tính trên thần kinh thị giác và trên gan. **Kết luận.** Kỹ thuật xác định nồng độ VRC bằng HPLC cho phép phát hiện nhanh, đặc hiệu và

chính xác voriconazole tại giới hạn định lượng 0,25 µg/mL. Kỹ thuật này đã được ứng dụng trên lâm sàng hỗ trợ sử dụng VRC hiệu quả và an toàn. **Từ khóa:** HPLC, TDM, voriconazole, nhiễm nấm xâm lấn

SUMMARY

DEVELOPING A HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY TECHNIQUE FOR THE DETERMINATION OF VORICONAZOLE PLASMA CONCENTRATION

Aims. To develop a novel high-performance liquid chromatography (HPLC) technique to determine VRC concentration in human plasma. **Methods.** The peak of voriconazole (VRC) was detected using an XDB RP C18 (150x4,6mm, 5µm) column, a mobile phase of water: acetonitrile (60:40 v/v), at a flow rate of 1 mL/min. We also report a case of a 66-year-old male to demonstrate the application of this technique in clinical practices at the University Medical Center Ho Chi Minh City. **Results.** The HPLC method showed good accuracy, specificity, selectivity, and stability. A linear response ($R^2 = 0,9997$) was observed in the range of 0,25–10µg/mL. There was a strong correlation between VRC concentration and clinical efficacy as well as toxicity. **Conclusions.** The novel technique allowed rapid detection of VRC in human plasma with a lower limit of quantification of 0.25 µg/mL. We have successfully applied this technique in clinical practices to maximize efficacy and minimize toxicity. **Keywords:** HPLC, TDM, voriconazole,

¹Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh

²Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

³Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

⁴Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Đặng Nguyễn Đoàn Trang

Email: trang.dnd@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 18.11.2024

Ngày phản biện khoa học: 23.12.2024

Ngày duyệt bài: 22.01.2025

invasive fungal diseases

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Voriconazole (VRC) là thuốc kháng nấm đầu tay trong điều trị và dự phòng nhiễm nấm xâm lấn do *Aspergillus* và *Candida* với tương quan nồng độ - hiệu quả và nồng độ - độc tính được thiết lập rõ ràng⁽⁷⁾. Nồng độ đáy tối ưu được khuyến nghị trong các hướng dẫn điều trị thông thường là 1 – 5,5 µg/mL. Tuy nhiên, độc tính trên gan được ghi nhận với tỷ lệ cao hơn trên người châu Á do có khoảng 15-20% dân số có kiểu hình CYP2C19 chuyển hóa chậm dẫn đến nguy cơ quá liều. Do đó trên người bệnh (NB) châu Á, cần điều chỉnh nồng độ đáy VRC < 4 µg/mL để hạn chế nguy cơ độc gan⁽⁵⁾.

Dược động học của VRC có sự khác biệt rất lớn giữa các cá thể và giữa các giai đoạn bệnh khác nhau trên cùng một NB, đặc trưng bởi sự không tuyến tính và bão hòa chuyển hóa chủ yếu bởi enzyme CYP2C19 và CYP3A4. Ngoài ra, tương tác thuốc cũng là một yếu tố dẫn đến sự biến thiên lớn của nồng độ VRC. Do đó, các hướng dẫn điều trị hiện tại khuyến nghị theo dõi nồng độ VRC trong trị liệu (TDM) để đảm bảo đạt hiệu quả điều trị cao nhất và hạn chế tối thiểu độc tính khi dùng thuốc^{(4), (5), (7)}.

Hiện tại, có 3 phương pháp được dùng để xác định nồng độ VRC: thử nghiệm vi sinh vật, sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và sắc ký lỏng ghép khối phổ hai lần (LC/MS-MS). Phương pháp thử nghiệm vi sinh vật là lựa chọn thay thế cho phương pháp sắc ký khi phòng thí nghiệm không có thiết bị chuyên dụng do có chi phí thấp, tuy nhiên, chưa được tiêu chuẩn hóa và có độ chính xác thấp⁽¹⁾. Ngược lại, LC/MS-MS có độ nhạy cao nhưng giá thành thiết bị và chi phí vận hành rất cao⁽⁶⁾.

Hiện tại, HPLC là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất vì có độ nhạy đủ để xác định nồng độ VRC trong huyết tương với chi phí phù hợp. Tuy nhiên, theo sự khảo sát của nhóm nghiên cứu, tính đến thời điểm hiện tại vẫn chưa có cơ sở nào thực hiện định lượng nồng độ VRC tại Việt Nam. Do đó, nghiên cứu này tiến hành xây dựng một phương pháp HPLC đơn giản, đặc hiệu và tối ưu hóa để có thể định lượng nồng độ VRC trong huyết tương đồng thời trình bày ứng dụng của phương pháp thông qua một ca lâm sàng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hóa chất, dung môi. Chất chuẩn: Voriconazole (Y0001395). Nguồn gốc: Công ty Sigma. Số lô: 03-21623 (HD: 21/06/2025). Hàm lượng: 99,9% C₁₆H₁₄F₃N₅O (Nguyên trạng).

Dung môi: methanol (MeOH), acetonitril (ACN)

dùng trong phân tích HPLC (JT. Baker, Thụy Sĩ).

Huyết tương âm: từ người khỏe mạnh không chứa thuốc (drug-free human plasma). Nguồn gốc: Bệnh viện truyền máu huyết học TP.HCM.

Trang thiết bị. Máy sắc ký lỏng UFLC Shimadzu (Nhật Bản): Bộ kiểm tra hệ thống CBM-20A; Bơm LC-20AD; Bộ tiêm mẫu tự động SIL-20AC HT; Buồng cột CTO-20AS VP; Đầu dò PDA SPD-M20A; Phần mềm xử lý dữ kiện Lcsolution.

Phương pháp nghiên cứu

Điều kiện sắc ký: Cột XDB RP 5 µm C18 110Å, 150 x 4,6 mm (5 µm). Nhiệt độ cột: 25°C, tốc độ dòng 1 mL/phút. Đầu dò PDA với bước sóng phát hiện 255 nm. Thể tích tiêm: 20 µL.

Pha động bao gồm nước và acetonitril (60:40, v/v).

Chuẩn bị dung dịch chuẩn và thử: Dung dịch huyết tương âm: ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút, loại cặn, thu huyết tương.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chuẩn gốc VRC: Hòa tan 5 mg VRC vào bình định mức 5 mL thêm nước, siêu âm 5 phút, thêm methanol vừa đủ (nồng độ 1 mg/mL).

Dung dịch chuẩn gốc VRC trung gian: Hút và pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc, thêm huyết tương âm đến vạch để được dung dịch có nồng độ 50 µg/mL.

Các dung dịch chuẩn: Hút và pha loãng từ dung dịch chuẩn trung gian, thêm huyết tương âm đến vạch để được dãy chuẩn có nồng độ là 0,25 - 0,5 - 1 - 2 - 5 - 10 µg/mL.

Các dung dịch chuẩn kiểm soát (QC): Hút và pha loãng từ dung dịch chuẩn trung gian, thêm huyết tương âm đến vạch để được các chuẩn kiểm soát có nồng độ là 0,25 - 0,35 - 1,25 - 7,5 µg/mL.

Dung dịch mẫu thử: Mẫu máu NB sau khi thu thập được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút, tách lấy huyết tương.

Phương pháp xử lý mẫu: Hút 500 µl huyết tương, thêm 500 µl nước cho qua cột SPE (30 mg, 1 mL- Waters Oasis cartridges). Rửa cột bằng 1 mL ACN 5%. Đẩy VRC bằng 1 mL MeOH. Thổi khô bằng khí nitơ. Thêm 0,2 mL pha động. Lọc qua màng lọc millipore 0,45 µm.

Phương pháp tính kết quả: Căn cứ vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ dung dịch thử, đường hồi quy thu được từ các dung dịch VRC chuẩn, tính hàm lượng (phần trăm) trong mẫu thử.

Thẩm định phương pháp phân tích. Thẩm định phương pháp phân tích được thực hiện theo hướng dẫn của Hội đồng Quốc tế về đồng bộ hóa các yêu cầu kỹ thuật đối với dược phẩm dùng cho con người (ICH) thông qua đánh

giá các thông số: độ chọn lọc/độ đặc hiệu, độ tuyến tính, giới hạn định lượng, độ đúng, độ chính xác và độ ổn định⁽²⁾.

Độ chọn lọc của phương pháp được thực hiện bằng cách phân tích 6 mẫu huyết tương âm khác nhau và mẫu huyết tương âm thêm chuẩn nồng độ 1 µg/mL.

Độ tuyến tính được thực hiện bằng cách phân tích 2 dãy đường chuẩn trong 3 ngày khác nhau. Mỗi dãy có 6 điểm chuẩn từ 0,25-10 µg/mL và mỗi điểm chuẩn lặp lại 2 lần. Các điểm chuẩn không vượt quá 15% và giới hạn định lượng dưới (LLOQ) không vượt quá 20%.

Giới hạn định lượng dưới (LLOQ) được thực hiện bằng cách phân tích 6 mẫu huyết tương âm thêm VRC tại nồng độ thấp nhất của đường chuẩn (0,25 µg/mL). Mỗi nồng độ lặp lại 5 lần. LLOQ là nồng độ thấp nhất có thể định lượng mà tại đó cho tín hiệu trên nhiễu (S/N) là 5:1 với độ chính xác < 20%.

Các mẫu VRC có nồng độ được kiểm soát trong huyết tương âm được sử dụng để theo dõi độ đúng, độ chính xác và độ ổn định của VRC. Các mẫu QC có nồng độ: 0,25 - 0,35 - 1,25 - 7,5 µg/mL.

Độ đúng và độ chính xác trong cùng ngày được thực hiện lặp lại 6 lần tại mỗi mức nồng độ của mẫu QC. Độ đúng và độ chính xác giữa các ngày được phân tích trong 6 ngày, mỗi mức nồng độ thực hiện lặp lại 2 lần/ngày. Tại các mức nồng độ giá trị không vượt quá 15%, riêng LLOQ không vượt quá 20%.

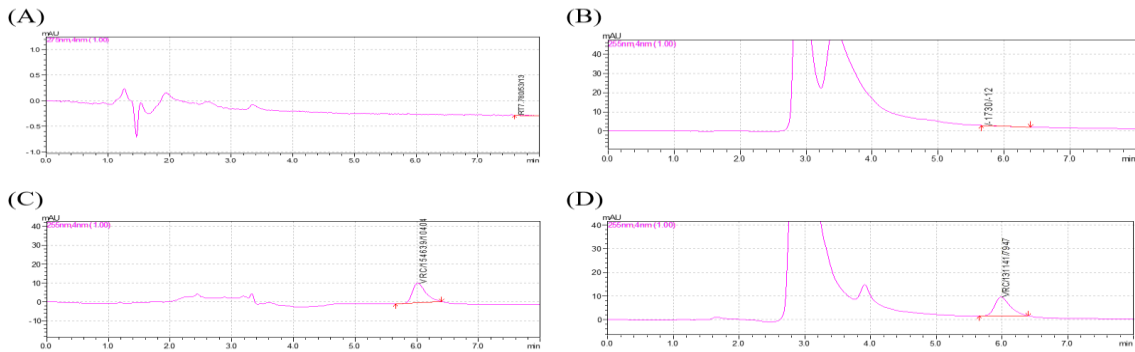
Độ ổn định được thực hiện ở các mẫu QC có nồng độ thấp và cao được bảo quản tại 4°C và -20°C. Mẫu ở 4°C được kiểm tra sau 1-3-7 ngày. Mẫu ở -20°C được kiểm tra sau 1-2-3 tháng. Mỗi mẫu được phân tích 2 lần. Nồng độ mẫu sau bảo quản được so sánh với nồng độ từ các mẫu QC mới pha và phân tích đồng thời. Tại các mức nồng độ giá trị không vượt quá 15%.

Kiểm soát chất lượng nội bộ đã được đánh giá trong 6 tháng. Tất cả các biện pháp kiểm soát đảm bảo nồng độ VRC trong phạm vi lâm sàng theo các yêu cầu quản lý của ICH.

Ứng dụng kỹ thuật vào lâm sàng. Kỹ thuật định lượng VRC trong huyết tương bằng phương pháp HPLC đã được ứng dụng để TDM VRC tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh (BV ĐHYD TPHCM). Chúng tôi trình bày một ca lâm sàng mô tả ứng dụng của kỹ thuật này và sự tương quan giữa nồng độ VRC với hiệu quả và độc tính trên lâm sàng.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xây dựng phương pháp phân tích VRC bằng HPLC. Mẫu huyết tương được xử lý qua cột chiết pha rắn và phân tích bằng HPLC tại bước sóng 255 nm. Pic VRC được phân tách sắc nét, đối xứng, được lưu giữ tốt với thời gian lưu là 6,012 phút và không bị ảnh hưởng bởi độ nhiễu và tạp chất có trong huyết tương người. Sắc ký đồ điển hình thu được từ huyết tương âm, huyết tương âm thêm chuẩn (1 µg/mL) được trình bày trong **Hình 1**.



Hình 1. Sắc ký đồ của (A) Pha động; (B) Huyết tương âm không thêm chuẩn VRC; (C) Chuẩn VRC trong methanol (1 µg/mL); (D) Huyết tương âm thêm chuẩn VRC (1 µg/mL)

Thẩm định phương pháp phân tích. Tính phù hợp hệ thống phân tích

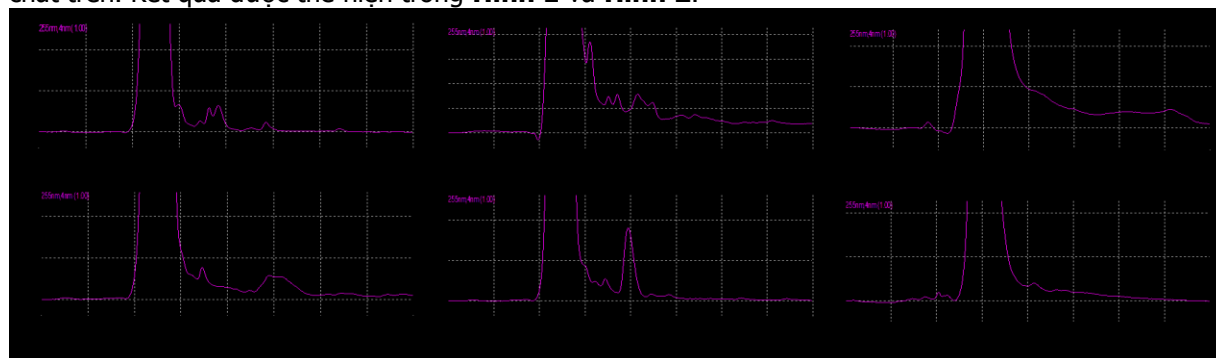
Tính phù hợp hệ thống được thực hiện bằng cách tiêm 6 lần mẫu chuẩn có nồng độ 10 µg/mL trong huyết tương đã xử lý theo quy trình. Kết quả cho thấy phương pháp đạt yêu cầu về tính phù hợp hệ thống phân tích (**Bảng 1**).

Bảng 1. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống

STT	S _{pic} (MAU.min)	t _r (phút)	Số đĩa lý thuyết	Hệ số bất đối xứng
1	253695	6.097	11473	1,125
2	254281	6.106	11415	1,109

3	253631	6.104	11443	1,118
4	252102	6.113	11517	1,117
5	254171	6.106	11458	1,119
6	251388	6.105	11633	1,115
\bar{X}	253211,33	6,105	11489,833	1,117
SD	1185,780	0,005	77,878	0,005
RSD (%)	0,468	0,084	0,6778	0,468

Độ đặc hiệu/Độ chọn lọc. Tiến hành xử lý và phân tích mẫu pha động, huyết tương âm, huyết tương âm thêm chuẩn. Sau khi phân tích, trên sắc ký đồ của huyết tương âm thêm chuẩn có xuất hiện pic của VRC. Dựa trên phổ và thời gian lưu của pic: 6,105 phút cho thấy độ tinh khiết pic của chất phân tích là > 0,99. Bên cạnh đó trên sắc ký đồ của mẫu pha động và huyết tương âm không xuất hiện các đỉnh tương ứng. Như vậy phương pháp có tính đặc hiệu và chọn lọc để phân tích các chất trên. Kết quả được thể hiện trong **Hình 1** và **Hình 2**.

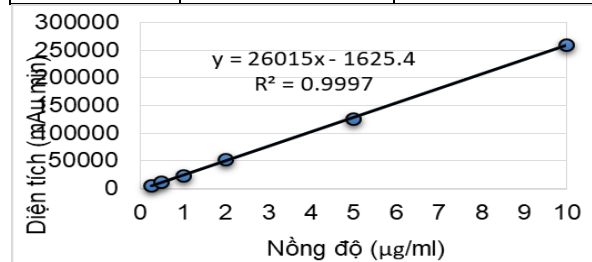


Hình 2. Sắc ký đồ của 6 mẫu huyết tương âm sau khi chiết

Độ tuyến tính. Xây dựng đường tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ VRC. Nồng độ đường tuyến tính của VRC là 0,25 đến 10 µg/mL. Hệ số tương quan là $R^2 = 0,9997 > 0,99$ chứng tỏ có sự tương quan chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic. Phương trình đường tuyến tính là $y = 26015x - 1625,4$ (**Bảng 2** và **Hình 3**). Độ chệch của giá trị LLOQ từ -10,518% đến 18,538% không vượt 20%.

Bảng 2. Đường tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic của chuẩn

Dung dịch	Nồng độ (µg/mL)	S _{pic} (mAU.min)
1	0,25	5081
2	0,5	11893
3	1	23553
4	2	52395
5	5	125401
6	10	259699



Hình 3. Độ tuyến tính của phương pháp

Giới hạn định lượng. Tiến hành xử lý và phân tích 6 mẫu huyết tương âm thêm chuẩn tại nồng độ thấp nhất và cao nhất trong đường chuẩn là 0,25 µg/mL và 10 µg/mL. Giá trị định lượng dưới của mẫu huyết tương âm tại 0,25 µg/mL lớn gấp 5 lần mẫu huyết tương âm với hệ số biến thiên trung bình là 10,216%. Giá trị này không vượt quá giới hạn chấp nhận ở mức 20% tại LLOQ.

Độ đúng và độ chính xác. Độ đúng và độ chính xác được đánh giá ở 4 điểm QC có nồng độ từ 0,25 - 0,35 - 1,25 - 7,5 µg/mL trong 6 ngày. Kết quả cho thấy độ đúng và độ chính xác nằm trong giới hạn cho phép 85-115%, độ chính xác có giá trị RSD (%) không quá 15%; riêng mẫu LLOQ có độ đúng nằm trong giới hạn cho phép 80-120%, độ chính xác trong ngày có giá trị RSD (%) không quá 20% (**Bảng 3**).

Bảng 3. Độ đúng và độ chính xác trong cùng ngày và giữa các ngày

	Nồng độ (µg/mL)			Độ chính xác RSD (%)
	Lý thuyết	Tìm thấy	Độ thu hồi (%)	
Trong cùng ngày (n=6)	0,25	0,223	89,200	1,833
	0,35	0,333	95,143	8,913
	1,25	1,263	101,040	4,440
	7,50	7,259	96,787	4,261
Giữa các ngày	0,25	0,248	99,200	11,217
	0,35	0,342	97,714	8,467

(n=6, d=2)	1,25	1,210	96,800	7,861
	7,50	6,726	89,680	4,860

Chú thích n: số lần lặp lại; d: số ngày

Độ ổn định. Độ ổn định trong quá trình bảo quản ở 4°C và -20°C được đánh giá qua giá trị độ chệch giữa nồng độ lý thuyết và nồng độ tìm thấy. Giá trị độ chệch thấp hơn ± 15% cho thấy nồng độ không có sự suy giảm đáng kể sau thời gian bảo quản. Kết quả được trình bày trong **Bảng 4** và **Bảng 5**.

Bảng 4. Độ ổn định ở 4°C của VRC trong huyết tương người (n = 3)

	Nồng độ (µg/mL)			Độ chính xác RSD (%)
	Lý thuyết	Tìm thấy	Độ thu hồi (%)	
1 ngày	0,350	0,310	88,571	0,1829
	7,500	7,067	94,227	1,4872
3 ngày	0,350	0,316	90,286	2,2472
	7,500	7,286	97,147	2,0494
7 ngày	0,350	0,303	86,571	1,9253
	7,500	6,880	91,733	2,6825

Bảng 5. Độ ổn định đông tan bằng (-20°C) của VRC trong huyết tương người (n = 3)

	Nồng độ (µg/mL)			Độ chính xác RSD (%)
	Lý thuyết	Tìm thấy	Độ thu hồi (%)	
Tan băng 1 lần	0,350	0,321	91,714	11,233
	7,500	7,381	98,413	1,796
Tan băng 2 lần	0,350	0,331	94,571	5,671
	7,500	7,846	104,613	5,306
Tan băng 3 lần	0,350	0,346	98,857	12,564
	7,500	7,750	103,333	2,754

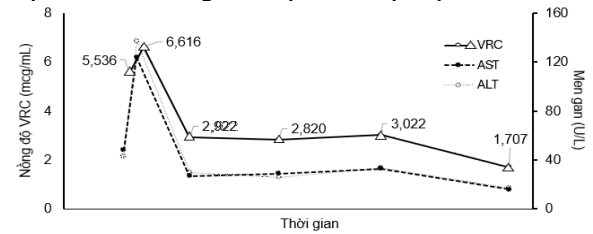
Ứng dụng trên lâm sàng. Ứng dụng phương pháp phân tích VRC bằng HPLC trong TDM trên lâm sàng được mô tả qua một ca bệnh nhiễm nấm Aspergillus xâm lấn đang điều trị bằng VRC.

NB nam, 66 tuổi, chẩn đoán viêm mũi xoang do nấm Aspergillus xâm lấn, phẫu thuật nội soi lấy mô nấm + u hốc mũi + u hốc mắt phải và điều trị ngoại trú tại phòng khám Tai Mũi Họng BV ĐHYD TPHCM từ 30/12/2021 – 03/11/2023. NB tái khám không đều và không tuân thủ dùng thuốc. Ngày 03/11/2023, NB còn đau nhức quanh mắt phải, nhìn mờ và sụp mí tăng dần kèm sốt, rửa mũi thấy dịch trắng đục lẫn vảy, mùi hôi, được chỉ định nhập viện phẫu thuật lần 2 cắt lọc mô hoại tử hốc mắt phải.

Sau mổ, NB được khởi động VRC truyền tĩnh mạch liều 200 mg mỗi 12 giờ và được định lượng nồng độ đáy VRC vào ngày 5 với kết quả 5,536 µg/mL. Tại ngày 7, NB thỉnh thoảng xuất hiện triệu chứng ảo thị, mắt phải giảm thị trường, không thay đổi thị lực, đồng thời ghi nhận men gan (AST và ALT) tăng gấp 3 lần giới hạn trên.

Triệu chứng ảo giác tự thuyên giảm và khỏi hoàn toàn vào ngày tiếp theo. NB được chuyển VRC đường uống liều 200 mg x 2 và xuất viện điều trị ngoại trú. Tại thời điểm tái khám, NB được kiểm tra lại nồng độ VRC. Với kết quả 6,616 µg/mL cùng với tình trạng tăng men gan đã biết tại thời điểm xuất viện, NB được giảm liều 100 mg x 2, kiểm tra lại nồng độ đáy VRC và men gan vào mỗi lần tái khám.

Trong thời gian điều trị ngoại trú, nồng độ đáy VRC luôn nằm trong khoảng trị liệu (1 – 4 µg/mL) và không ghi nhận thêm bất kỳ phản ứng có hại khác. Hiện tại, lâm sàng NB cải thiện, hết triệu chứng đau đầu, giảm nhìn mờ mắt phải, tổn thương xoang hàm và hốc mắt phải giảm rõ rệt trên MRI. NB có kế hoạch ngưng VRC thuốc tại lần tái khám tiếp theo. Kết quả đo nồng độ VRC và men gan được thể hiện tại **Hình 4**.



Thời gian	03/11	06/11	10/11	14/11	09/12	27/01	23/03	01/06
VRC (mcg/ml)		5,536		6,616	2,922	2,82	3,022	1,707
AST (U/L)	48	32	124		27	29	33	16
ALT (U/L)	43	32	137		30	26	34	17

Hình 4. Nồng độ VRC và men gan của người bệnh trong quá trình điều trị

IV. BÀN LUẬN

Chúng tôi đã phát triển phương pháp xác định nồng độ VRC trong huyết tương của NB đang điều trị bằng đường uống hoặc đường tĩnh mạch VRC và đã được ứng dụng vào lâm sàng tại BV ĐHYD TPHCM. Phương pháp này xác định chính xác nồng độ VRC tại 0,25 µg/mL, thấp hơn 22 lần so với mức VRC có nguy cơ gây độc tính, do đó đảm bảo điều trị hiệu quả và an toàn cho NB.

Xây dựng phương pháp phân tích VRC bằng HPLC. Phương pháp phân tích tốt cần có khả năng phân giải và phát hiện VRC giữa các chất chuyển hóa gây nhiễu, các hợp chất nội sinh đồng rửa giải hoặc các thuốc điều trị dùng đồng thời. Do đó, xử lý mẫu là giai đoạn cần thiết. Trong thực hành hiện tại, rửa protein bằng dung môi hoặc chiết lỏng lỏng là 2 phương pháp cổ điển để chiết VRC từ huyết tương nhưng có nhiều nhược điểm. Rửa protein bằng ACN hoặc MeOH là phương pháp đơn giản nhất nhưng không đặc hiệu và dễ bị nhiễu bởi nhiều thành phần nội sinh xuất hiện trên sắc ký đồ dưới dạng đỉnh. Trong khi đó, chiết lỏng-lỏng có độ đặc

hiệu cao hơn nhưng cần sử dụng một lượng lớn dung môi hữu cơ và cần thời gian chiết lâu hơn. Phương pháp của chúng sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn, với phần lớn các thành phần gây nhiễu sau khi chiết bị loại bỏ, sử dụng ít dung môi hơn và kéo dài tuổi thọ của cột sắc ký⁽⁸⁾.

Thẩm định phương pháp phân tích.

Phương pháp xác định nồng độ VRC trong huyết tương bằng HPLC cho thấy không có pic gây nhiễu sau khi chiết cùng với sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic. Do đó, phương pháp này có thể áp dụng trên lâm sàng trên NB dùng VRC có nồng độ 1-10 µg/mL.

Ngoài ra, các kết quả đo trong cùng ngày và giữa các ngày không vượt quá giới hạn chấp nhận được xác định ở mức ±15% cho mỗi mức nồng độ, chứng tỏ phương pháp được phát triển là đúng và chính xác trong phạm vi nồng độ được nghiên cứu.

Đối với phương pháp phân tích sinh học, giai đoạn xác nhận rất quan trọng giúp đạt được kết quả đáng tin cậy để người làm lâm sàng có thể đưa ra quyết định đúng về liều lượng thuốc để đảm bảo hiệu quả và sự an toàn cho NB. Cả FDA và EMA đều nhấn mạnh tầm quan trọng của các thông số xác nhận phương pháp trên cơ sở đánh giá độ chọn lọc, giới hạn định lượng, độ đúng, độ chính xác, độ ổn định. Các tiêu chí chấp nhận tại LLOQ và các giá trị khác lần lượt là 20% và 15%⁽³⁾. Dữ liệu xác nhận theo phương pháp này đạt được các yêu cầu về quản lý của các cơ quan có thẩm quyền cho thấy khả năng ứng dụng hiệu quả của phương pháp nhằm đảm bảo độ tin cậy của các kết quả phân tích.

Ứng dụng lâm sàng. Dựa trên việc áp dụng thực tế, có thể thấy nồng độ VRC có tương quan chặt chẽ với đáp ứng lâm sàng cũng như độc tính trên gan và thị giác. Trên ca bệnh được báo cáo, nồng độ VRC luôn lớn hơn 1 µg/mL giúp tối ưu đáp ứng trị liệu. Nồng độ thuốc cao trong giai đoạn khởi trị có thể là nguyên nhân dẫn đến ảo giác và tăng men gan.

Rối loạn về thần kinh và thị giác, biểu hiện thường gặp nhất là ảo giác, thường xảy ra ở tuần đầu tiên khởi động VRC và có tương quan với nồng độ VRC lớn hơn 4 µg/mL. Ngoài ra, những tác dụng phụ trên thị giác thường tự giới hạn và khỏi hoàn toàn mà không cần giảm liều hoặc ngưng thuốc^{(4), (7)}.

Độc tính trên gan của VRC thường được biểu hiện bởi tăng men gan, tăng bilirubin và trong một số trường hợp hiếm gặp, ứ mật và suy gan cấp. Nồng độ VRC lớn hơn 4 µg/mL được báo cáo là một yếu tố nguy cơ gây độc gan khi sử dụng VRC, đặc biệt trên dân số châu Á. Do đó,

các hướng dẫn theo dõi nồng độ VRC của Nhật và Trung Quốc đều đưa ra khuyến nghị nồng độ mục tiêu 1 – 4 µg/mL để giảm thiểu độc tính trên gan⁽⁵⁾. Trên ca bệnh được báo cáo, men gan tăng hơn gấp 3 lần so với giới hạn trên khi nồng độ VRC vượt ngưỡng trị liệu và trở lại giới hạn bình thường khi giảm liều.

Ứng dụng phương pháp xác định nồng độ VRC bằng HPLC vào ca lâm sàng nhấn mạnh tầm quan trọng của việc theo dõi nồng độ thuốc để đảm bảo tối ưu hiệu quả và giảm thiểu độc tính của VRC.

V. KẾT LUẬN

Phương pháp đề xuất được thực hiện kết hợp giữa chiết pha rắn và phân tích HPLC cho phép phát hiện nhanh, đặc hiệu và chính xác VRC tại LLOQ 0,25 µg/mL trong 8 phút. Phương pháp này đã được ứng dụng vào công tác TDM trên lâm sàng, góp phần sử dụng VRC một cách hiệu quả và an toàn.

CẢM ƠN. Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn và tri ân sâu sắc đến ThS. Nguyễn Tấn Hiệp – Nguyên kỹ thuật viên trưởng khoa Xét nghiệm, BV ĐHYD TPHCM vì những nỗ lực và đóng góp quan trọng của anh trong quá trình xây dựng và triển khai chương trình hợp tác TDM giữa BV ĐHYD TPHCM và Viện Pasteur TPHCM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cendejas-Bueno E, Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A (2013).** Determination of voriconazole serum concentration by bioassay, a valid method for therapeutic drug monitoring for clinical laboratories. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(7):3437-3440.
- ICH Expert Working Group (2022).** Bioanalytical method validation and study sample analysis M10. ICH Harmonised Guideline: Geneva, Switzerland.
- Kaza M, Karażniewicz-Łada M, Kosicka K, et al (2019).** Bioanalytical method validation: new FDA guidance vs. EMA guideline. Better or worse?. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 165:381-385.
- McCreary EK, Davis MR, Narayanan N, et al (2023).** Utility of triazole antifungal therapeutic drug monitoring: Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists: Endorsed by the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Pharmacotherapy*, 43(10):1043-1050.
- Takesue Y, Hanai Y, Oda K, et al (2022).** Clinical Practice Guideline for the Therapeutic Drug Monitoring of Voriconazole in Non-Asian and Asian Adult Patients: Consensus Review by the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. *Clinical Therapeutics*, 44(12):1604-1623.
- Tang PT (2013).** Quantification of antifungal drug voriconazole in serum and plasma by HPLC-UV. *Journal of Drug Metabolism and Toxicology*,

- 4(144), 2.
7. **Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, et al (2018).** Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clinical microbiology and infection*, 24 Suppl 1:e1-e38.
8. **Zufia L, Aldaz A, Ibáñez N, et al. (2023).** Validation of an LC method for therapeutic drug monitoring of voriconazole in patients. *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*, 2:035-043.

NHẬN XÉT KẾT QUẢ CHUYỂN PHÔI ĐÔNG LẠNH NGÀY 5 VÀ NGÀY 6 TẠI BỆNH VIỆN ĐÔNG ĐÔ

Tăng Đức Cường¹, Vũ Thị Hường¹, Vũ Việt Dũng¹,
Nguyễn Phụng Hoàng¹, Đỗ Mạnh Hưng¹,
Đoàn Thị Thu Huyền², Nguyễn Bá Tư², Hồ Sỹ Hùng²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu được thực hiện nhằm nhận xét kết quả chuyển đơn phôi đông lạnh ngày 5 so với ngày 6 tại Bệnh viện Đông Đô. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả hồi cứu trên 442 bệnh nhân (BN) < 35 tuổi, chuyển phôi đông lạnh rất tốt hoặc tốt ngày 5 hoặc ngày 6, không làm sàng lọc phôi từ tháng 01/2022 - 04/2024. **Kết quả:** 345 BN chuyển phôi ngày 5 và 97 BN chuyển phôi ngày 6. Đối với nhóm chuyển phôi ngày 5: đa số được chuyển 2 phôi với chất lượng phôi tốt và khả năng sống là 45,2% và 54,8%. Đối với nhóm chuyển phôi ngày 6: đa số được chuyển 1 phôi và cơ cấu tỷ lệ phôi tốt so với phôi kém là 13,4% so với 86,6%. Tỷ lệ có BHCG dương tính ở nhóm phôi chuyển ngày 5 cao hơn so với nhóm phôi chuyển ngày 6 (85,8% so với 62,7%). Tỷ lệ có thai lâm sàng của nhóm chuyển phôi ngày 5 cao hơn so với nhóm chuyển phôi ngày 6 (71,8% so với 54,4%). Tỷ lệ thai phát triển qua mốc 12 tuần của nhóm chuyển phôi ngày 5 cao hơn so với nhóm chuyển phôi ngày 6 (68,8% so với 45,4%). Tỷ lệ thai sinh hóa của nhóm chuyển phôi ngày 6 cao hơn so với nhóm chuyển phôi ngày 5 (16,5% so với 8,2%). Tỷ lệ thai ngừng phát triển giữa 2 nhóm chuyển phôi ngày 5 và chuyển phôi ngày 6 tương tự nhau (7,6% so với 7,2%). Nhóm chuyển phôi ngày 6 có tỷ lệ thai chửa ngoài tử cung là 2% trong khi ở nhóm chuyển phôi ngày 5 không gặp. Kết quả mô hình hồi quy logistic cho thấy 2 yếu tố có ảnh hưởng độc lập rõ rệt có ý nghĩa thống kê tới kết quả có thai 12 tuần bao gồm số lượng phôi chuyển (OR = 4,2; 95%CI: 2,6-6,8) và chất lượng phôi chuyển (OR = 2,65; 95% CI: 1,6-4,3). **Kết luận:** Tỷ lệ có thai, thai lâm sàng, thai diễn tiến đến 12 tuần của chuyển đơn phôi ngày 5 cao hơn ngày 6, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Do đó, đối với bệnh nhân không có phôi ngày 5 thì việc chuyển phôi ngày 6 vẫn là lựa chọn tốt, đảm bảo kết quả có thai cao. **Từ khóa:** Phôi đông lạnh; Phôi ngày 5 so với ngày 6.

¹Bệnh viện Đông Đô

²Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Tăng Đức Cường

Email: dr.tangduccuong@gmail.com

Ngày nhận bài: 18.11.2024

Ngày phản biện khoa học: 20.12.2024

Ngày duyệt bài: 23.01.2025

SUMMARY

THE RESULTS OF FROZEN EMBRYO TRANSFER ON DAY 5 AND 6 AT DONG DO HOSPITAL

Objectives: To compare the outcomes on the 5th-day of frozen blastocyst-stage embryo transfer with those on the 6th-day day at Dong Do Hospital in Hanoi. **Methods:** A retrospective descriptive study on 442 patients < 35 years of age, with the transfer of very good or good frozen embryos on the 5th or 6th day, without embryo biopsy from January 2022 to April 2024. **Results:** 345 patients were in the 5th-day embryo transfer group, and 97 patients were in the 6th-day embryo transfer group. For the 5th-day embryo transfer group: the majority transferred 2 embryos with good and fair embryo quality was 45.2% and 54.8%, respectively. For the 6th-day embryo transfer group: the majority had 1 embryo transferred with 13.4% of good embryo and 86.6% of fair embryo. The rate of positive BHCG in the embryo transfer group on the 5th-day was higher than in the embryo transfer group on 6th-day (85.8% vs 62.7%). The clinical pregnancy rate of the 5th-day embryo transfer group was higher than that of the 6th-day embryo transfer group (71.8% vs. 54.4%). The percentage of the 12-week mark of a pregnancy in the 5th-day embryo transfer group was higher than the day 6th-day embryo transfer group (68.8% vs. 45.4%). Meanwhile the biochemical pregnancy rate on the 6th day of embryo transfer was higher than that on the 5th day (16.5% vs 8.2). The rate of fetal growth arrest between the 2 groups of 5th-day embryo transfer and 6th-day embryo transfer was similar (7.6% vs 7.2%). The 6th-day embryo transfer group had an ectopic pregnancy rate of 2%, while the day 5 embryo transfer group was 0%. The results of the logistic regression model show that two factors have a clear and statistically significant independent influence on the 12-week mark of a pregnancy included number of transfer embryo OR = 4,2; 95%CI: 2,6-6,8) and the quality of embryo (OR = 2,65; 95% CI: 1,6-4,3). **Conclusion:** Although the pregnancy, clinical pregnancy, and ongoing pregnancy rates were significant higher in the 5th-day group. Therefore, if the patient does not have embryos on the 5th day, a 6th-day embryo transfer is still a good option ensuring high pregnancy rates.

Keywords: Blastocyst transfer; Frozen embryo; the 5th-day embryo versus the 6th-day embryo.