

thương nhu mô não, chưa có giá trị gợi ý đến tổn thương nhu mô như các nghiên cứu của các tác giả, điều này có thể giải thích do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi còn nhỏ và tỷ lệ gặp của các triệu chứng liệt vận động và rối loạn ý thức trong nhóm nghiên cứu thấp.

Khi đánh giá mối liên quan giữa triệu chứng lâm sàng khi vào viện và số xoang có huyết khối, chúng tôi thấy thấy không có mối liên quan giữa các triệu chứng lâm sàng khi vào viện với nhóm có huyết khối ở một xoang hay có huyết khối ở nhiều xoang kết quả này cũng giống trong nghiên cứu của Trịnh Tiến Lực năm 2020.<sup>5</sup>

## V. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

Nghiên cứu trên 38 bệnh nhân huyết khối tĩnh mạch não chúng tôi nhận thấy: Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là  $42,4 \pm 14,8$  tuổi, nữ có độ tuổi mắc trẻ hơn nam và tỷ lệ nam/ nữ là 1,2. Triệu chứng lâm sàng của bệnh rất đa dạng và không đặc hiệu, nhiều nhất là nhức đầu chiếm 94,7%. Tổn thương nhồi máu não chiếm 31,6%, chảy máu não 21,1% và nhồi máu não chuyển dạng chảy máu 18,4%. Vị trí huyết khối thường gặp ở những xoang lớn, trong đó hay gặp nhất là xoang dọc trên 73,7%, xoang ngang 63,2% và xoang sigma 47,4.

Các triệu chứng nhức đầu, liệt nửa người, liệt dây thần kinh sọ, nôn- buồn nôn, nhìn mờ, rối loạn ngôn ngữ, rối loạn ý thức và dấu hiệu màng não không có sự liên quan đến tổn thương nhu mô não. Sự khác biệt về số bệnh nhân có các triệu chứng này trên hai nhóm bệnh nhân không có ý nghĩa thống kê. Triệu chứng co giật có liên quan đến tổn thương nhu mô não. Không có mối liên quan giữa các triệu chứng lâm sàng khi vào viện với nhóm có huyết khối ở một hay nhiều xoang.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **G. S, F. B, D. BR, et al.** Diagnosis and Management of Cerebral Venous Thrombosis: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011;42:1158-1192.
2. **P. C, Ferro J. M., Lindgren A. G., et al.** Causes and Predictors of Death in Cerebral Venous Thrombosis. *Stroke*. 2005;36:1720-1725.
3. **Coutinho JM, Ferro JM, Canhao P, et al.** Cerebral venous and sinus thrombosis in women. *Stroke*. 2009;40(7):2356-2361.
4. **Lê Văn Thịnh**, Nhận xét một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị huyết khối tĩnh mạch não. *Tạp san Hội Thần kinh học Việt Nam*, 2, 10. 2010;
5. **Trịnh Tiến Lực**, Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và hình ảnh học của bệnh nhân huyết khối tĩnh mạch não Luận án Tiến sĩ y học, Đại học y hà nội. 2020;

## HOÀN THIỆN KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM DIHYDRORHODAMINE (DHR) TRONG ĐÁNH GIÁ GIẢM CHỨC NĂNG OXY HÓA CỦA BẠCH CẦU TRUNG TÍNH

Nguyễn Thanh Bình<sup>1,2</sup>, Trần Thị Thúy Hạnh<sup>1</sup>,  
Tạ Thị Thoa<sup>2</sup>, Lê Đức Minh<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Hoàn thiện quy trình xét nghiệm DHR đánh giá chức năng oxy hóa của bạch cầu trung tính và xác định giá trị tham chiếu phòng xét nghiệm của kỹ thuật này. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên mẫu máu ngoại vi của 30 trẻ bình thường (không mắc các bệnh lý ảnh hưởng đến chức năng BCTT) và 02 trẻ đã được chẩn đoán xác định bệnh u hạt mạn tính tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 2 năm 2021 đến tháng 6 năm 2021. **Kết quả:** Nồng độ hóa chất tối ưu cho quy trình xét nghiệm DHR là PMA: 228 nM; DHR:

1000ng/mL. Giá trị tham chiếu phòng xét nghiệm của chỉ số kích thích (SI) xét nghiệm DHR là  $SI = 87,5 - 404,7$ . **Kết luận:** Đã hoàn thiện quy trình và nồng độ hóa chất tối ưu của xét nghiệm DHR và xác định được giá trị tham chiếu phòng xét nghiệm chỉ số SI của xét nghiệm này tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

**Từ khóa:** xét nghiệm DHR, bệnh u hạt mạn tính, chức năng oxy hóa của bạch cầu trung tính, Bệnh viện Nhi Trung ương.

### SUMMARY

#### VERIFICATION OF DHR TEST FOR EVALUATING OF NEUTROPHIL OXIDATIVE BURST FUNCTION

**Objective:** To verify Dihydrorhodamine (DHR) testing process to evaluate neutrophil oxidative bursts function and determind the laboratory reference value of Stimulate Index of this test. **Subjects and Methods:** A cross-sectional descriptive study on peripheral blood samples of 30 healthy children and 02

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Nhi Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thanh Bình

Email: nguyenthanhbinh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.3.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.5.2022

Ngày duyệt bài: 27.5.2022

CGD patients who were diagnosed by whole genome sequencing to detect the gene mutation at the National Children's Hospital from February, 2021 to June, 2021. **Result:** The optimal chemical concentration for DHR test is PMA: 228 nM; DHR: 1000 ng/mL. The laboratory reference value of Stimulate Index (SI) is = 87.5 – 404.7. **Conclusion:** The DHR test technical uses an optimal chemical concentration suitable to evaluate neutrophil oxidative bursts function.

**Keyword:** DHR test, Chronic Granulomatous Disease; Neutrophil Oxidative Bursts Function; Vietnam National Children's Hospital.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bạch cầu trung tính (BCTT) là tế bào thực bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch của cơ thể. Chức năng tiêu diệt kháng nguyên được thực hiện thông qua 2 cơ chế là (1) cơ chế phụ thuộc enzym và (2) cơ chế oxy hóa thông qua gốc tự do của các thể oxy hoạt động [1]. Các thể oxy hoạt động được tạo ra bên trong các phagolysosom bởi hệ thống enzym oxidase NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate). Phức hợp enzym này được cấu tạo từ 5 cấu phần là các protein mã hóa bởi các gen nằm trên các nhiễm sắc thể khác nhau [6]. Khi một cấu phần nào đó của enzym oxidase NADPH bị biến đổi do đột biến gen có thể dẫn tới giảm chức năng oxy hóa của BCTT, ảnh hưởng đến khả năng tiêu diệt vi khuẩn, xuất hiện bệnh cảnh lâm sàng là bệnh u hạt mạn tính (UHMT). Bệnh UHMT là một bệnh suy giảm miễn dịch bẩm sinh hiếm gặp, tỷ lệ mắc ước tính khoảng 1/200000 trẻ sinh sống [7]. Bệnh nhân thường xuất hiện các triệu chứng nhiễm trùng nặng, tái diễn, biểu hiện ở nhiều cơ quan trong những năm đầu đời như viêm hạch bạch huyết, viêm phổi, áp xe phổi, áp xe gan, nhiễm trùng huyết, các u hạt do tăng tình trạng đáp ứng viêm ở da, đường tiêu hóa, dẫn đến tỷ lệ tử vong cao [2]. Gần đây, xét nghiệm này đã được chấp nhận trên toàn thế giới trong sàng lọc và hỗ trợ chẩn đoán bệnh u hạt mạn tính. Phương pháp này có độ nhạy cao, dễ thực hiện và chi phí hợp lý [6].

Bệnh viện Nhi Trung ương là bệnh viện tuyến cuối của chuyên ngành Nhi khoa. Đã có nhiều bệnh nhân nghi ngờ bệnh UHMT được điều trị tại bệnh viện. Tuy nhiên cho tới nay chưa có xét nghiệm nào dùng để sàng lọc bệnh lý này tại Bệnh viện Nhi Trung ương nói riêng và ở Việt Nam nói chung. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: *Hoàn thiện kỹ thuật xét nghiệm DHR đánh giá chức năng oxy hóa của BCTT và xác định giá trị tham chiếu phòng xét nghiệm của xét nghiệm này tại Bệnh viện Nhi Trung ương.*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

\*Mẫu máu ngoại vi của 30 trẻ đến khám và điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 4/2021 – 10/2021.

**Tiêu chuẩn lựa chọn:** 2ml máu lấy đúng quy trình, chống đông bằng EDTA của các bệnh nhân không có các bệnh lý về huyết học, miễn dịch, nhiễm khuẩn:

- Số lượng và công thức bạch cầu bình thường
- CRP ≤ 5

- Các chỉ số huyết học, sinh hóa cơ bản khác nằm trong giới hạn bình thường (theo sổ tay khoảng tham chiếu giá trị các xét nghiệm, Bệnh viện Nhi Trung ương).

- Thời gian từ khi lấy máu đến khi tiến hành xét nghiệm dưới 2 tiếng

### Tiêu chuẩn loại trừ:

- Có kèm thiếu hụt enzyme G6PD, MPO nặng.
- Tiền sử dùng thuốc acetaminophen trong vòng 24 giờ.

\* Mẫu máu ngoại vi của 02 bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định bệnh UHMT bằng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ gen xác định đột biến.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp chọn mẫu:** Chọn mẫu thuận tiện

**Nguyên lý kỹ thuật xét nghiệm DHR đánh giá chức năng oxy hóa của BCTT:** Bạch cầu trung tính được kích thích bởi Phorbol-12-Myristate-13 Acetate (PMA) để sản xuất ROS (O<sup>2-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Dihydrorhodamine (DHR) là hóa chất không màu thẩm qua màng vào trong tế bào và bị oxy hóa bởi hydrogen peroxide trở thành Rhodamine-123 có màu huỳnh quang xanh lá cây. BCTT bị nhuộm bởi Rhodamine-123 được xác định bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy ở flow bước sóng 488nm (màu FITC).

Vì cường độ huỳnh quang trung bình của Rhodamine-123 đã được chứng minh là tương quan tuyến tính với mức sản xuất các thể oxy hoạt động của BCTT [7], nên kết quả xét nghiệm DHR được đánh giá thông qua chỉ số kích thích (Stimulated index – SI) của quần thể BCTT:

**Thiết kế nghiên cứu và các nồng độ hóa chất thử nghiệm.** Chúng tôi tiến hành thử nghiệm với 3 nồng độ hóa chất PMA và 3 nồng độ hóa chất DHR khác nhau. Mỗi một nồng độ PMA sẽ kết hợp tương ứng với 3 mức nồng độ DHR-123 tổ hợp thành 9 điều kiện thử nghiệm (từ C1 – C9). C0 là ống Blank, không có hóa chất, chỉ có mẫu máu. Thử nghiệm được thực hiện trên 3 mẫu máu khác nhau.

**Bảng 1: Các điều kiện và nồng độ hóa chất thử nghiệm**

|                |            |           |            |            |            |
|----------------|------------|-----------|------------|------------|------------|
|                | <b>PMA</b> | <b>0</b>  | <b>114</b> | <b>228</b> | <b>342</b> |
| <b>DHR-123</b> | <b>nM</b>  | <b>nM</b> | <b>nM</b>  | <b>nM</b>  | <b>nM</b>  |
| 0 ng/mL        | C0         |           |            |            |            |
| 500 ng/mL      |            | C1        | C2         | C3         |            |
| 1000 ng/mL     |            | C4        | C5         | C6         |            |
| 1500 ng/mL     |            | C7        | C8         | C9         |            |

**Các chỉ số nghiên cứu:**

- Tỷ lệ chết của BCTT (%)
- Hình dạng biểu đồ histogram
- + Dạng chuông
- + Dạng lệch về một phía
- + Dạng 2 đỉnh
- Giá trị trung bình chỉ số SI của 30 mẫu máu.

**2.3. Xử lý số liệu.** Số liệu được thu thập xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 10.0.

**2.4. Đạo đức nghiên cứu.** Nghiên cứu tuân thủ các nguyên tắc đảm bảo đạo đức trong nghiên cứu Y học và đã được thông qua Hội đồng Y đức – Bệnh viện Nhi Trung ương số 273/BVNTW-VNCSKTE ngày 4/2/2021.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Lựa chọn điều kiện xét nghiệm tối ưu**

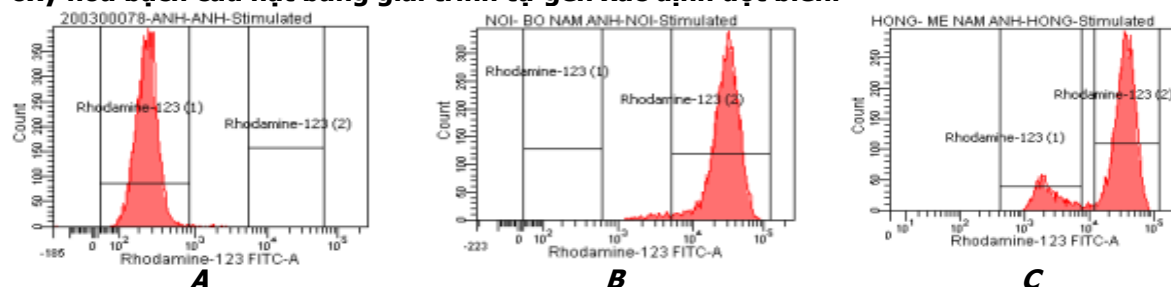
Chỉ số SI cao xuất hiện ở các điều kiện nồng độ hóa chất C5, C6, C7, C8, C9. Ở các điều kiện hóa nồng độ hóa chất thấp hơn có chỉ số SI của mẫu thấp.

**Bảng 2: Hình dạng đồ thị histogram của cường độ huỳnh quang**

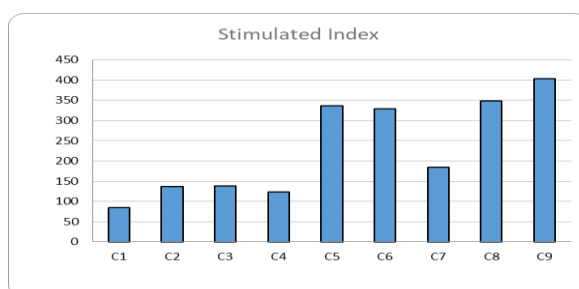
| Điều kiện xét nghiệm | Mẫu 1              | Mẫu 2              | Mẫu 3              |
|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>C1</b>            | Dạng chuông        | Dốc về bên trái    | Dạng răng lược     |
| <b>C2</b>            | Dốc về bên phải    | Dạng chuông        | Dạng chuông        |
| <b>C3</b>            | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> |
| <b>C4</b>            | Hai đỉnh           | Hai đỉnh           | Dạng chuông        |
| <b>C5</b>            | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> |
| <b>C6</b>            | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> |
| <b>C7</b>            | Hai đỉnh           | Hai đỉnh           | Dạng chuông        |
| <b>C8</b>            | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> |
| <b>C9</b>            | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> | <b>Dạng chuông</b> |

Đồ thị dạng chuông điển hình của các mẫu nghiên cứu xuất hiện ổn định ở điều kiện xét nghiệm C3, C5, C6, C8, C9. Các điều kiện nồng độ hóa chất khác đều không có đồ thị cường độ huỳnh quang điển hình khi đếm trên máy đếm tế bào dòng chảy.

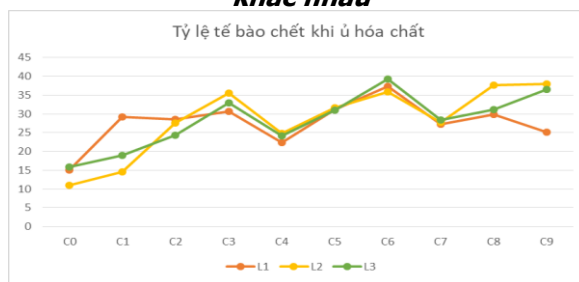
**3.2. Kết quả xét nghiệm DHR trên một số bệnh nhân được chẩn đoán giảm chức năng oxy hóa bạch cầu hạt bằng giải trình tự gen xác định đột biến.**



**Hình 1.** Kết quả xét nghiệm DHR ở bệnh nhân giảm chức năng BCTT do đột biến trên NST giới tính X.



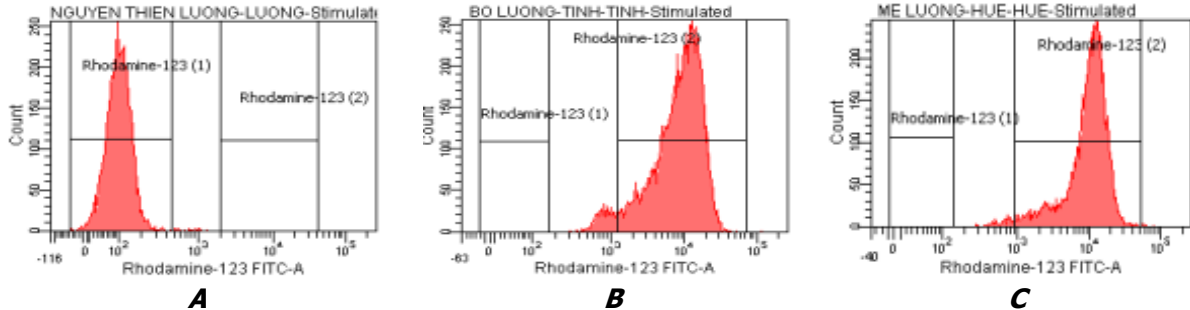
**Biểu đồ 1: Chỉ số SI ở các nồng độ hóa chất khác nhau**



**Biểu đồ 2: Tỷ lệ chết của BCTT**

Trong cả ba mẫu nghiên cứu, tỷ lệ BCTT chết trong ống C0 (Blank) là khoảng 10-15%. Tỷ lệ chết của BCTT thấp và tương tự nhau ở cả 3 mẫu nghiên cứu xuất hiện ở điều kiện thử nghiệm C4, C5, C7.

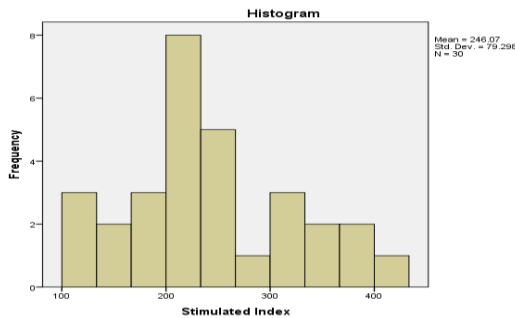
- (A) Bệnh nhân mang đột biến gen CYBB liên kết NST X vị trí c.867G>A có chỉ số SI = 1,4.
- (B) Bố bệnh nhân có chức năng oxy hóa BCTT bình thường
- (C) Mẹ bệnh nhân có 2 quần thể BCTT, một quần thể bình thường và 1 quần thể giảm chức năng oxy hóa.



**Hình 2. Kết quả xét nghiệm DHR ở bệnh nhân giảm chức năng BCTT do đột biến trên NST thường.**

- (A) Bệnh nhân mang đột biến gen NCF2 vị trí c.187dupA, kiểu di truyền đồng hợp tử lặn có chỉ số SI = 1,6
- (B) (C) Bố và mẹ bệnh nhân có chức năng oxy hóa BCTT bình thường.

**3.3. Khảo sát chức năng oxy hóa BCTT ở trẻ bình thường (n=30)**



**Biểu đồ 3: Chỉ số SI của xét nghiệm DHR trên trẻ bình thường**

Giá trị SI trung bình  $\bar{X} \pm SD = 246,07 \pm 79,30$ , phân bố chuẩn với kiểm định Kolmogorov-Smirnova, Sig > 0,05. Khoảng giá trị tham chiếu chỉ số SI là 87,47 – 404,67.

**IV. BÀN LUẬN**

Hiện nay ở Việt Nam chưa có đơn vị hay cơ sở y tế nào triển khai xét nghiệm DHR đánh giá chức năng oxy hóa BCTT để chẩn đoán bệnh UHMT. Các xét nghiệm đã được ứng dụng như Nitroblue Tetrazolium có độ nhạy không cao, phụ thuộc chủ quan của người đọc hoặc xét nghiệm xác định đột biến gene tốn kém và mất nhiều thời gian [5]. Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam phát triển kỹ thuật xét nghiệm DHR trong sàng lọc, chẩn đoán sớm bệnh UHMT, giúp quá trình điều trị và dự phòng hiệu quả hơn. Xét nghiệm DHR đã được phát

triển từ lâu có kỹ thuật đơn và hóa chất đơn giản. Tuy nhiên nó đã được công nhận là một kỹ thuật được áp dụng trên toàn thế giới trong chẩn đoán bệnh UHMT nhờ có độ chính xác cao [5],[8].

Dựa trên nguyên lý và quy trình kỹ thuật đã được công bố trước đây, chúng tôi tiến hành lựa chọn nồng độ hóa chất và điều kiện tối ưu của xét nghiệm để áp dụng tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Kết quả cho thấy, càng tăng nồng độ hóa chất PMA và DHR thì cường độ huỳnh quang từ quần thể BCTT càng mạnh, chỉ số SI tăng theo (Biểu đồ 1). Sự thay đổi cường độ huỳnh quang này phù hợp với đồ thị biểu diễn của Neutrophil/Monocyte Respiratory Burst Assay Kit của Cayman chemical [3], đó là cường độ huỳnh quang thu được tăng mạnh khi tăng nồng độ hóa chất PMA tới ngưỡng 300 nM, sau đó đi ngang. Trong thử nghiệm của chúng tôi, chỉ số SI cao ở các điều kiện nồng độ C5, C6, C7, C8 và C9.

Các nồng độ hóa chất PMA thấp hoặc chừa phù hợp có thể không đủ để kích thích toàn bộ và BCTT sản xuất tối đa các thể oxy hoạt động dẫn tới mức độ oxy hóa DHR khác nhau nên cường độ huỳnh quang của quần thể BCTT không tập trung (dạng chuông có đỉnh hẹp) mà xuất hiện hình ảnh đồ thị histogram dạng hai đỉnh hoặc không cân đối (Bảng 2). Chỉ có các điều kiện hóa chất C3, C5, C6, C8, C9 cho đồ thị cường độ huỳnh quang điển hình. Tuy nhiên, khi nồng độ PMA càng cao thì tỷ lệ BCTT chết có xu hướng càng tăng (Biểu đồ 2). Các điều kiện hóa chất C4, C5 và C7 có tỷ lệ BCTT chết thấp tương tự nhau ở các mẫu thử nghiệm (Biểu đồ 2). Chúng tôi chưa tìm được báo cáo nào đánh giá tỷ lệ tế bào chết trong quá trình ủ hóa, tiến hành xét nghiệm nhưng đã có nghiên cứu đưa ra bằng chứng các gốc oxy hóa do BCTT sản xuất ra sau

khi bị hoạt hóa bởi PMA, có thể gây chết tế bào theo chương trình. Điều này ảnh hưởng tới số lượng thu thập và độ tập trung của BCTT khi phân tích kết quả. Qua các điều kiện thử nghiệm, chúng tôi chọn được điều kiện xét nghiệm C5 đảm bảo được cường độ huỳnh quang của quần thể BCTT cao, đồ thị cường độ huỳnh quang điển hình và tỷ lệ BCTT chết thấp. Cụ thể nồng độ các hóa chất ở điều kiện C5 là PMA: 228 nM; DHR: 1000ng/mL. Nồng độ DHR tối ưu trong nghiên cứu của chúng tôi ở khoảng giữa nồng độ sử dụng trong protocol Cayman và nghiên cứu của Dimitrova, 2013 [3],[5], đồng thời gần tương đương với nồng độ được sử dụng trong nghiên cứu của Wang, 2019. Trong khi đó, nồng độ PMA được lựa chọn khá tương đồng với các nghiên cứu của Dimitrova, 2013 và nằm trong khoảng phù hợp được biểu diễn trên protocol kit của Cayman chemical [3],[5].

Sau khi xác định được nồng độ hóa chất tối ưu, chúng tôi thực hiện xét nghiệm DHR trên 02 bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định bệnh UHMT bằng đột biến gen và bố mẹ của bệnh nhân để khẳng định tính xác của xét nghiệm. Kết quả cho thấy chỉ số SI của hai bệnh nhân lần lượt là 1,4 và 1,6 giảm rõ rệt so với mẫu chứng. Kết quả SI giảm thấp được báo cáo ở bệnh nhân UHMT trong nghiên cứu trước đây của tác giả Wang và cộng sự, 2019 đã phát hiện được 113/114 trường hợp mắc bệnh u hạt mạn tính, với SI trung bình là 1,62. Với bệnh nhân thứ nhất (Hình 1), bệnh nhân có đột biến lặn trên nhiễm sắc thể (NST) giới tính X, mẹ bệnh nhân mang gene đột biến trên một NST X nên có hai quần thể BCTT, một quần thể bình thường và một quần thể giảm chức năng oxy hóa trong khi bố bệnh nhân bình thường. Tương tự như trong nghiên cứu của Dimitrova, 2013 và Delmonte OM, 2019 [4], [5]. Đối với bệnh nhân UHMT thứ 2 (Hình 2), bệnh nhân mang đột biến đồng hợp lặn trên NST thường, do đó bố mẹ là người mang gen lặn trên NST thường biểu hiện chức năng oxy hóa của BCTT bình thường. Như vậy, kết quả xét nghiệm DHR phù hợp với tình trạng chức năng oxy hóa BCTT trong các trường hợp đột biến trên NST thường và trên NST giới tính X.

Chúng tôi đã thực hiện xét nghiệm trên 30 trẻ em đến khám tại Bệnh viện Nhi với các bệnh lý không liên quan đến chức năng BCTT nhằm xác định sơ bộ khoảng tham chiếu phòng xét nghiệm chỉ số SI của xét nghiệm DHR. Giá trị thu được

khoảng tham chiếu SI là 87,47 - 404,67. Kết quả này có giá trị trên cao hơn so với nghiên cứu của Vowells và cộng sự (1995) với SI từ 85,2 - 264,4. Vì số lượng mẫu thực hiện còn hạn chế, trẻ lấy mẫu không hoàn toàn là trẻ bình thường khỏe mạnh nên chỉ số SI của chúng tôi chỉ có giá trị tham khảo tại phòng xét nghiệm Bệnh viện Nhi Trung ương. Chúng tôi sẽ tiếp tục thực hiện với cỡ mẫu lớn trên trẻ bình thường để có giá trị tham chiếu chỉ số SI của xét nghiệm ở trẻ em Việt Nam khỏe mạnh.

## V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã hoàn thiện được kỹ thuật xét nghiệm DHR tại Bệnh viện Nhi Trung ương với nồng độ quá chất tối ưu là PMA: 228nM; DHR: 1000 ng/mL. Xét nghiệm phù hợp để sàng lọc và hỗ trợ chẩn đoán bệnh UHMT. Ngưỡng giá trị tham khảo chỉ số SI của xét nghiệm là 87,47 - 404,67.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyễn Ngọc Lanh (2006)**. Miễn dịch học. Miễn dịch chống nhiễm vi sinh vật. Nhà xuất bản Y học, 154–173.
2. **Bortoletto P., Lyman K., Camacho A., et al. (2015)**. Chronic Granulomatous Disease: A Large, Single-center US Experience. *Pediatr Infect Dis J*, 34(10), 1110–1114.
3. **Cayman chemical (2016)**. Neutrophil/Monocyte Respiratory Burst Assay Kit. Item No. 601130.
4. **Delmonte O.M. and Fleisher T.A. (2019)**. Flow cytometry: Surface markers and beyond. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 143(2), 528–537.
5. **Dimitrova G., Bunkall C., Lim D., et al. (2013)**. Comparison of two methods for the diagnosis of chronic granulomatous disease - neutrophil oxidative burst measured by the nitroblue tetrazolium slide test versus the dihydrorhodamine 123 flow cytometric assay. *N Z J Med Lab Sci*, (67), 45–51.
6. **Drink Roos, Steven M.Holland, and Taco W.Kuijpes (2013)**. Chronic granulomatous disease. Primary immunodeficiency diseases: A molecular and genetic approach. 3rd, Oxford University Press, 689.
7. **Kuhns D.B., Alvord W.G., Heller T., et al. (2010)**. Residual NADPH oxidase and survival in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med*, 363(27), 2600–2610.
8. **Kutukculer N., Aykut A., Karaca N.E., et al. (2019)**. Chronic granulomatous disease: Two decades of experience from a paediatric immunology unit in a country with high rate of consanguineous marriages. *Scand J Immunol*, 89(2), e12737.
9. **O’Gorman M.R. and Corrochano V. (1995)**. Rapid whole-blood flow cytometry assay for diagnosis of chronic granulomatous disease. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2(2), 227–232.