

của DHA trên cộng đồng thuộc vùng sốt rét lưu hành nặng của tỉnh Bình Phước giai đoạn 2009-2013, Luận án tiến sĩ y học, tr. 117-118.

8. Nguyễn Đức Mạnh và ctv (2019), Điều trị Pyramax cho người nhiễm P.vivax và P.falciparum kháng với artemisinin ở tỉnh Đắk Nông. Hội nghị thường niên lần thứ 68, tháng 11, Maryland, Mỹ.
9. Rithea Leang, Melissa Mairet-Khedim, Huch

Chea, Rekol Huy, Nimol Khim, Denis Mey Bouth, Maria Dorina Bustos, Pascal Ringwald, Benoit Witkowski (2019), Efficacy and Safety of Pyronaridine-Artesunate plus Single Dose Primaquine for Treatment of Uncomplicated Plasmodium falciparum Malaria in Eastern Cambodia. Antimicrobial agents and Chemotherapy, Volume 63 Issue 3 e02242-18. pp. 1-10.

## NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ SÀNG LỌC VIRUS HBV, HCV, HIV CỦA ĐƠN VỊ MÁU BẰNG KỸ THUẬT KHUẾCH ĐẠI ACID NUCLEIC (KỸ THUẬT NAT) TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA VÙNG TÂY NGUYÊN

Nguyễn Thị Xuyên<sup>1,3</sup>, Huỳnh Nghĩa<sup>1</sup>, Trần Quang Huy<sup>2</sup>, Vũ Thị Ngà<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá hiệu quả sàng lọc virus HBV, HCV, HIV của đơn vị máu bằng kỹ thuật khuếch đại Acid Nucleic (kỹ thuật NAT) của đơn vị máu ở người hiến máu tình nguyện tại Bệnh viện đa khoa Vùng Tây Nguyên. **Đối tượng:** Gồm 17.200 mẫu máu của người hiến máu tình nguyện tại Bệnh viện đa khoa Vùng Tây Nguyên từ tháng 01/2021 đến 12/2021. **Phương pháp:** Mô tả cắt ngang. **Kết quả:** Trong 17.200 mẫu máu từ người hiến máu tình nguyện được xét nghiệm bằng phương pháp huyết thanh học, phát hiện 146 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ lần lượt HBV: 0,39%, HCV: 0,26% và HIV: 0,17%. Từ đó, 17.054 mẫu máu âm tính với phương pháp huyết thanh học được xét nghiệm NAT, phát hiện thêm 4 mẫu dương tính với HBV-DNA chiếm tỷ lệ 0,023%, không có mẫu dương tính với HCV-RNA và HIV-RNA. **Kết luận:** Việc áp dụng kỹ thuật xét nghiệm khuếch đại Acid Nucleic(kỹ thuật NAT) là rất cần thiết và hiệu quả vì giúp phát hiện sớm sự hiện diện HBV-DNA, HCV-RNA và HIV-RNA trong mẫu thử bằng việc rút ngắn giai đoạn cửa sổ, đồng thời làm giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm các virus qua đường truyền máu để từ đó đảm bảo sự an toàn cho người bệnh khi truyền máu.

**Từ khóa:** huyết thanh học, Nucleic Acid Testing (NAT).

### SUMMARY

#### STUDY OF THE APPLICATION OF NUCLEIC ACID TEST (NAT) IN SCREENING VIRUS HBV, HCV, HIV FOR BLOOD UNIT AT TAY NGUYEN REGIONAL GENERAL HOSPITAL

**Objective:** To evaluate the effectiveness of screening for HBV, HCV, and HIV viruses of blood units by nucleic acid test (NAT) of blood units in

voluntary blood donors at Tay Nguyen Regional General Hospital **Subjects:** The study sample size included 17.200 blood samples from volunteers at Tay Nguyen Regional General Hospital from January 2021 to December 2021. **Methods:** A cross - sectional descriptive study. **Results:** Research results have shown that 17,200 blood samples of volunteers tested by serology, 146 samples were positive. Of which, the rate of infection with HBV, HCV and HIV was 0.39%, 0.26% and 0.17%; respectively. Therefore, 17,054 negative blood samples by serological methods were tested by NAT, and 4 more samples were positive for HBV-DNA, accounting for 0.023%. Simultaneously, The blood samples were negative for HCV-RNA and HIV-RNA. **Conclusions:** The application of nucleic acid tests (NAT) is necessary and effective, it has been supported to detect the presence of HBV-DNA, HCV-RNA, and HIV-RNA in blood samples early by shortening the testing phase window. At the same time, it minimizes the risk of transmitting viruses through blood transfusion, thereby ensuring the safety of patients during a blood transfusion.

**Keywords:** serology, Nucleic Acid Testing (NAT).

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để đảm bảo an toàn truyền máu thì ngoài việc đảm bảo an toàn cho người cho máu, bệnh nhân, người làm công tác truyền máu thì một trong những nội dung quan trọng là không để lây lan các bệnh qua đường truyền máu[1]. Bệnh viện đa khoa Vùng Tây Nguyên tỉnh Đắk Lắk tuy là một tỉnh ở Tây Nguyên nhưng công tác hiến máu nhân đạo rầm rộ và ngày càng phát triển. Tại bệnh viện nhu cầu sử dụng máu ngày càng nhiều. Máu sử dụng chủ yếu trong cấp cứu, điều trị và cung cấp cho các huyện trong tỉnh. Trước đây việc sàng lọc túi máu chủ yếu là test nhanh, Elisa và vi hạt hoá phát quang. Với công nghệ sinh học phân tử ngày càng phát triển nên việc ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử vào sàng lọc máu là một bước tiến mới nhằm đảm bảo an toàn cho túi máu và người nhận máu. Tại Việt

<sup>1</sup>Đại học y dược thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Bệnh viện đa khoa Vùng tây Nguyên

<sup>3</sup>Trung Tâm Huyết học - Truyền máu Đắk Lắk

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Xuyên

Email: xuyentthhmt@gmail.com

Ngày nhận bài: 27.7.2022

Ngày phản biện khoa học: 21.9.2022

Ngày duyệt bài: 26.9.2022

Nam, theo thông tư số 26/2013/TT-BYT, kỹ thuật NAT đã được triển khai thường quy tại Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh, Huế từ năm 2015 và tại bệnh viện Truyền máu-Huyết học Cần Thơ từ năm 2016 do điều kiện còn nhiều khó khăn đến cuối năm 2019 thì bệnh viện đa khoa vùng Tây Nguyên mới triển khai được kỹ thuật NAT vào sàng lọc túi máu nhằm đảm bảo an toàn cho túi máu bằng cách phát hiện sớm vật chất di truyền và rút ngắn giai đoạn cửa sổ của virus HBV, HCV, HIV để nâng cao chất lượng túi máu.

**Mục tiêu nghiên cứu:** *Hiệu quả sàng lọc virus HBV, HCV, HIV của đơn vị máu bằng kỹ thuật khuếch đại Acid Nucleic (kỹ thuật NAT).*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Đối tượng nghiên cứu:** Gồm 17.200 mẫu máu từ người hiến máu tình nguyện

**Địa điểm:** Bệnh viện đa khoa Vùng Tây Nguyên.

**Thời gian:** Từ tháng 01/2021 đến tháng 12/2021.

**Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Người hiến máu thỏa thông tư số 26/2013/TT-BYT về hướng dẫn hoạt động truyền máu, các đơn vị máu đạt tiêu chuẩn theo qui định. Thể tích đơn vị máu hiến  $\geq 250$  ml.

**Tiêu chuẩn loại trừ:** Các đơn vị máu không đủ tiêu chuẩn về thể tích, không đủ tiêu chuẩn về quy cách.

**Thiết kế nghiên cứu:** cắt ngang mô tả.

**Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu**

Ước tính cỡ mẫu dựa trên công thức

$$n = \frac{Z^2_{1-\alpha} p(1-p)}{d^2}$$

*Trong đó:* n: cỡ mẫu; P: chỉ số tiên đoán mong muốn ( $P=0,5$ ) được nghiên cứu[2]

$\alpha$ : ngưỡng sai lầm loại I, tương ứng với KTC 95%,  $\alpha=0,05$ ; d: sai số của ước lượng, mong muốn độ chính xác trên 99% nên  $d=0,01$

$Z^2_{1-\alpha/2}$  Trị số phân phối chuẩn ( $\alpha=0,05$ )  $\rightarrow 1,96$

$$n = \frac{1,96^2 \cdot 0,5(1-0,5)}{0,01^2}$$

Với những tham số trên, cỡ mẫu chúng tôi tính được cỡ mẫu ít nhất cần có là  $n = 9.604$  mẫu.

Thực tế, nghiên cứu của chúng tôi thu thập toàn bộ số mẫu trong thời gian và địa điểm nghiên cứu đã trình bày.

Phương pháp chọn mẫu: mẫu được chọn theo phương pháp thuận tiện

**Phương pháp nghiên cứu:** 17.200 mẫu máu của người hiến máu tình nguyện được xét nghiệm sàng lọc huyết thanh học trên máy xét nghiệm miễn dịch tự động Cobas 6000 đối với

HBV thì dự trên nguyên lý bắt cặp và sử dụng nguyên lý đơn dòng và đa dòng kháng HBs để phát hiện kháng nguyên HBsAg, HCV sử dụng nguyên lý bắt cặp sử dụng peptid và kháng nguyên tái tổ hợp biểu hiện vùng lõi, protein NS3 và NS4 để phát hiện kháng thể kháng HCV và HIV thì sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp từ vùng vỏ và vùng polymerase của HIV-1(bao gồm nhóm O), HIV-2 để xác định kháng thể đặc hiệu HIV và kháng thể đơn dòng đặc hiệu phát hiện kháng nguyên HIV-1 p24. Sau đó những mẫu cho kết quả huyết thanh học dương tính ta tiến hành huỷ túi máu. Những mẫu máu cho kết quả âm tính với phương pháp huyết thanh học này tiến hành sàng lọc bằng kỹ thuật khuếch đại chuỗi Acid Nucleic(kỹ thuật NAT) bằng kỹ thuật Realtime-PCR trên hệ thống máy tự động Cobas® TaqScreen MPX, phiên bản 2.0 của Roche.

Nguyên lý của kỹ thuật NAT là: Acid nucleic từ mẫu phân tích và thêm chứng nội RNA Armored (IC) (được dùng để kiểm chứng quy trình chuẩn bị mẫu và khuếch đại/ phát hiện) được tiến hành đồng thời. Dung dịch Proteinase gia nhiệt protein làm thúc đẩy ly giải, bất hoạt men nuclease và giúp phóng thích RNA và DNA từ các hạt virus. Thuốc thử ly giải được thêm vào mẫu để ly giải virus và bất hoạt men nuclease bằng cách biến tính protein. RNA và DNA được phóng thích ra và đồng thời được bảo vệ khỏi nuclease. Acid nucleic phóng thích ra được gắn kết lên bề mặt silica của các hạt thủy tinh từ tinh thêm vào. Bước phân lập acid nucleic tinh khiết từ huyết tương người trong quá trình chuẩn bị mẫu tự động. Bước tiếp theo là khuếch đại, phát hiện và phân biệt HIV (HIV-1 Nhóm M, HIV-1 Nhóm O và HIV-2) và RNA HCV, DNA HBV và RNA IC. Một khi được hoạt hóa khi thêm mangan acetate, cho phép sao mã ngược (đối với virus là RNA), sau đó khuếch đại PCR các vùng bảo tồn cao của HIV-1. Nhóm M, HIV-1 Nhóm O, HIV-2 và RNA HCV, DNA HBV và RNA IC sử dụng các đoạn mã đặc hiệu. Acid nucleic đã được khuếch đại được phát hiện đồng thời bởi sự phát tín hiệu huỳnh quang từ sự giáng hóa 5'-nucleolytic của HIV-1 (Nhóm M và O), HIV-2, HCV, HBV và đoạn dò IC, cùng hiện diện trong Master Mix. Bốn chất nhuộm huỳnh quang duy nhất được sử dụng: một chất nhuộm gắn đoạn dò IC, và ba chất nhuộm khác gắn đoạn dò HIV, HCV và HBV, cho phép xác định độc lập các virus HIV, HCV và HBV, và IC bằng cách sử dụng bốn bước sóng. Và từ kết quả phân tích trên máy tự động này mẫu máu dương tính ta tiến hành huỷ túi máu. Mẫu máu âm tính thì túi máu được đưa vào sử dụng.

**Phương pháp xử lý số liệu:** Số liệu được tổng hợp, nhập, xử lý bằng Excel và phần mềm hienmau.vn

**Y đức:** Thông tin cá nhân của người hiến máu được giữ bí mật. Mẫu máu nghiên cứu là mẫu máu hiến tình nguyện. Nghiên cứu được

thực hiện với mong muốn góp phần nâng cao chất lượng an toàn truyền máu tại Bệnh viện đa khoa Vũng Tây Nguyên mà không nhằm bất cứ mục đích hưởng lợi nào gây tổn hại đến đối tượng nghiên cứu, cộng đồng và xã hội.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**1. Kết quả xét nghiệm HBV, HCV, HIV bằng kỹ thuật huyết thanh học.**

**Bảng 1:** Kết quả xét nghiệm HBV, HCV, HIV bằng kỹ thuật huyết thanh học.

Virus	Số mẫu thử	Mẫu dương tính		Mẫu âm tính	
		Số mẫu(+)	Tỉ lệ %	Số mẫu(-)	Tỉ lệ %
HBV	17.200	67	0,39	17.133	99,61
HCV		45	0,26	17.155	99,74
HIV		30	0,17	17.970	99,83

**Nhận xét:** Qua bảng 1 cho ta thấy tỷ lệ dương tính ở kỹ thuật huyết thanh học thì HBV chiếm tỷ lệ cao nhất 0,39 %, HCV: 0,26% và HIV: 0,17%.

**2. Kết quả xét nghiệm HBV-DNA, HCV-RNA, HIV-RNA bằng kỹ thuật khuếch đại Acid Nucleic (kỹ thuật NAT).**

**2.1 Kết quả xét nghiệm HBV-DNA**

**Bảng 2:** Kết quả xét nghiệm HBV – DNA bằng kỹ thuật NAT

Số mẫu thử	HBV-DNA			
	Số mẫu(+)	Tỉ lệ %	Số mẫu(-)	Tỉ lệ %
17,133	4	0,023	17.129	99,98

**Nhận xét:** trong 17.133 mẫu thử xét nghiệm HBV-DNA, chúng tôi phát hiện 4 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ 4/17.133 (0,023%).

**2.2 Kết quả xét nghiệm HCV – RNA**

**Bảng 3:** Kết quả xét nghiệm HCV – RNA bằng kỹ thuật NAT

Số mẫu thử	HCV-DNA			
	Số mẫu(+)	Tỷ lệ %	Số mẫu(-)	Tỷ lệ %
17.155	0	0	17.155	100

**Nhận xét:** Trong 17.155 mẫu thử xét nghiệm HCV-RNA, chúng tôi chưa phát hiện mẫu dương tính đối với HCV.

**2.3 Kết quả xét nghiệm HIV – RNA**

**Bảng 4:** Kết quả xét nghiệm HIV – RNA bằng kỹ thuật NAT

Số mẫu thử	HIV-DNA			
	Số mẫu(+)	Tỷ lệ %	Số mẫu(-)	Tỷ lệ %
17.970	0	0	17.970	100

**Nhận xét:** trong 17.970 mẫu thử xét nghiệm HIV-RNA, chúng tôi chưa phát hiện mẫu dương tính đối với HIV

**IV. BÀN LUẬN**

**4.1. Kết quả xét nghiệm HBV,HCV,HIV bằng kỹ thuật huyết thanh học.** Việc sàng lọc virus trong sàng lọc máu là xét nghiệm thường quy đối với tất cả các ngân hàng máu trên thế giới để đảm bảo an toàn truyền máu. Sau khi xét nghiệm sàng lọc 17.200 mẫu máu bằng kỹ thuật huyết thanh học thì chúng tôi phát hiện HBV chiếm tỷ lệ cao nhất 0,39%, HCV: 0,26% và HIV: 0,17%. Tỷ lệ HBV của chúng tôi (0,39%), thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Tô Đông Kha ở bệnh viện Truyền máu- Huyết học thành phố Hồ Chí Minh (0,52%)[2] và cũng thấp hơn

so với tác giả Nguyễn Thế Tùng ở Thái Nguyên (0,77%)[5]. Có sự thấp hơn này là do người hiến máu của chúng tôi hiến máu nhắc lại nhiều lần và người hiến máu lần đầu được xét nghiệm sàng lọc HBsAg test nhanh trước khi hiến máu. Tỷ lệ HCV của chúng tôi(0,26%) cao hơn so với tác giả Tô Đông Kha (0,23%) và Phạm Lê Nhật Minh (0,11%)[3] có sự cao hơn này do tại nơi chúng tôi chưa sàng lọc HCV trước khi hiến máu mà chúng tôi thu thập túi máu đã sàng lọc HBV test nhanh trước rồi về labo chúng tôi mới tiến hành sàng lọc HCV, HIV sau. Tỷ lệ HIV của chúng tôi phát hiện (0,17%) cũng gần tương

đương với tác giả Nguyễn Thế Tùng (0,16%)[5]. Tỷ lệ phát hiện HBV, HCV, HIV của chúng tôi thấp hơn so với tác giả P.Pallavi ở Ấn Độ (0,52%)[7] và cao hơn so nghiên cứu của S.Laperche ở Pháp (0,009%)[6] và Stramer ở Mỹ (0,005%)[8], ở các nước Châu Âu như Pháp, Mỹ là những nước phát triển nên họ áp dụng kỹ thuật tiên bộ cũng như công tác chăm sóc, phòng bệnh được chú trọng nên trong việc hiến máu nhân đạo nên giảm thiểu được người cho máu có tỷ lệ sàng lọc HBV, HCV, HIV dương tính.

**4.2 Kết quả xét nghiệm HBV, HCV, HIV bằng kỹ thuật khuếch đại chuỗi Acid Nucleic (kỹ thuật NAT).** Trong 17.054 mẫu máu âm tính chúng tôi tiến hành sàng lọc xét nghiệm NAT phát hiện thêm 04 mẫu dương tính với HBV- DNA chiếm tỷ lệ 0,023% (1/4.282) và không phát hiện trường hợp dương tính với HCV-RNA và HIV-RNA.

Tỷ lệ phát hiện HBV-DNA của chúng tôi (0,023%) thấp hơn so với các tác giả Tô Đông Kha (0,087%)[2], Nguyễn Thế Tùng(0,09%)[5] và Phạm Lê Nhật Minh (0,07%)[3] nhưng cao hơn so với các nghiên cứu của S.Laperche ở Pháp (0,0003%)[6] và Stramer ở Mỹ (0,0002%)[8], điều này có thể do Việt Nam là nước mang mầm bệnh HBV trong cộng đồng khá cao(10-15%), cao hơn một số quốc gia trong khu vực châu Á[4]

Chúng tôi chưa phát hiện được trường hợp nào dương tính với HCV-RNA và HIV-RNA điều này có thể do lượng mẫu ít, thời gian nghiên cứu chưa đủ dài và chúng tôi sẽ theo dõi trong thời gian tới để đánh giá một cách khách quan và toàn diện nhất. Qua nghiên cứu này thì phát hiện thêm 04 mẫu dương tính với HBV- DNA nếu trước đây chưa có kỹ thuật NAT thì chúng tôi đã bỏ sót những ca này. Những túi máu sẽ tách nhiều chế phẩm khác nhau truyền cho nhiều người bệnh thì người bệnh sẽ mang những mầm bệnh HBV, HCV, HIV từ những đơn vị chưa sàng lọc NAT.

Việc áp dụng kỹ thuật NAT đem lại an toàn cho đơn vị máu lên một bước tiến vượt bậc nhằm phát hiện sớm vật chất di truyền của virus HBV, HCV, HIV. Triển khai kỹ thuật NAT tại Bệnh viện đa khoa Vùng Tây Nguyên thì đơn vị máu được đảm bảo an toàn so với các trung tâm lớn trên cả nước.

## V. KẾT LUẬN

Những mẫu máu từ người hiến máu tình nguyện được xét nghiệm âm tính với kỹ thuật huyết thanh học và được tiến hành xét nghiệm với kỹ thuật khuếch đại Acid Nucleic (kỹ thuật

NAT) phát hiện thêm 4 mẫu dương tính với HBV-DNA chiếm tỷ lệ 0,023%. Từ kết quả này cho ta thấy được kỹ thuật xét nghiệm NAT thực sự phát huy tính hiệu quả khi ứng dụng vào trong xét nghiệm sàng lọc máu, góp phần quan trọng trong việc làm giảm thiểu các yếu tố nguy cơ nhờ phát hiện sớm sự hiện diện vật chất di truyền của virus và làm tăng sự an toàn cho người bệnh khi truyền máu. Triển khai kỹ thuật NAT tại Bệnh viện đa khoa Vùng Tây Nguyên là vấn đề rất cần thiết.

## VI HẠN CHẾ VÀ KIẾN NGHỊ

**Hạn chế:** Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành trong khoảng thời gian ngắn, số lượng mẫu chưa đủ lớn so với những nghiên cứu trong nước và nước ngoài vì vậy chưa có được cái nhìn khái quát.

**Kiến nghị:** Cần nghiên cứu trên quy mô rộng và thời gian dài hơn để khảo sát tỷ lệ nhiễm qua từng năm. Những trường hợp làm kỹ thuật NAT dương tính cần theo dõi thêm các dấu ấn huyết thanh để theo dõi tình trạng nhiễm virus.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2013).** Thông tư số26/2013/TT-BYT-Hướng dẫn hoạt động truyền máu.
- Tô Đông Kha và các cộng sự,** "Khảo sát hiệu quả của xét nghiệm Nucleic Acid Testing (NAT) trong sàng lọc người hiến máu", Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ – Khoa học Sức khỏe, 1(1):35-43.
- Phạm Lê Nhật Minh (2020),** "hiệu quả của kỹ thuật xét nghiệm Nucleic Acid (NAT) trong việc phát hiện sớm vi rút HBV, HCV và HIV ở người hiến máu tình nguyện tại trung tâm truyền máu Chợ Rẫy - Bệnh viện Chợ Rẫy, Việt Nam từ 2015-2018", tạp chí y học Thành Phố Hồ Chí Minh. 24(2).
- Đỗ Trung Phần (2012),** Truyền máu hiện đại cập nhật và ứng dụng trong điều trị. Nhà xuất bản giáo dục Việt Nam, trang 30-32.
- Nguyễn Thế Tùng và cs (2016),** "Đánh giá hiệu quả sàng lọc vi rút HBV, HCV, HIV của đơn vị máu bằng kỹ thuật khuếch đại kiểu gen(NAT: Nucleic Acid Testing Real time PCR)"Tại Trung Tâm Huyết Học Truyền Máu Thái Nguyên", Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh, Phụ Bản Tập 21 , Số 6, tr 596-601.
- Laperche S, Tiberghien P, Roche-Longin C, Pillonel J.** Fifteen years of nucleic acid testing in France: results and lessons. Transfusion Clinique et Biologique. 2017;24(3):182– 188.
- Prakash P, Basavaraj V, Kumar RB.** Recipient hemovigilance study in a university teaching hospital of South India: An institutional report for the year 2014-2015. Global Journal of Transfusion Medicine. 2017;2(2):124.
- Stramer S L, Wend U, Candotti D, Foster G A, Hollinger F B, Dodd RY, etal.** Nucleic Acid Testing to Detect HBV Infection in Blood Donors. New England Journal of Medicine.2011;364(3):236– 247.