

## THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Đề tài luận án:

### ***Giá trị các phương pháp xét nghiệm chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV tại thành phố Hồ Chí Minh***

Chuyên ngành: Vi sinh Y học

Mã số: 62.72.01.15

Họ và tên NCS: PHẠM THU HẰNG

Họ và tên cán bộ hướng dẫn: 1. PGS.TS. Trương Thị Xuân Liên

2. TS.BS. Nguyễn Thị Ngọc Lan

Cơ sở đào tạo: Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt những kết luận mới của luận án:

(Tiếng Việt)

Nghiên cứu áp dụng các kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm thuận tiện, ít xâm lấn mà hiệu quả chẩn đoán vi khuẩn không thua kém các mẫu bệnh phẩm thường quy sẽ giúp cho việc lấy mẫu bệnh phẩm để xét nghiệm chẩn đoán lao cho trẻ nhỏ có thể thực hiện dễ dàng ngay tại tuyến cơ sở, không cần phải đưa trẻ đến lấy mẫu làm xét nghiệm tại các bệnh viện chuyên khoa.

Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử mới GeneXpert trên các mẫu bệnh phẩm ít xâm lấn như mẫu phân, dịch mũi họng với cách xử lý mẫu đơn giản làm cho việc chẩn đoán lao phổi ở trẻ em được nhanh chóng, thuận tiện, có thể thực hiện ngay tại tuyến cơ sở. Trẻ em đặc biệt là trẻ nhiễm HIV sẽ được phát hiện sớm lao phổi, tránh bỏ sót chẩn đoán, giúp cho thầy thuốc lâm sàng có thể quyết định điều trị lao và điều trị HIV cho trẻ được nhanh chóng, chính xác.

(Tiếng Anh)

Studying the use of convenient and less invasive clinical specimens, the efficiency of bacterial diagnosis is not inferior to that of routine specimens, which will help to collect specimens for diagnostic tests for tuberculosis of young children. It can be done easily at the grassroots level, no need to take children to take samples for testing in the specialty hospitals.

Applying GeneXpert's new molecular biology technique on minimally invasive specimens such as stool samples, nasopharyngeal fluid with simple sample management, makes TB diagnosis quick and convenient, can be done right at grassroots. Children especially HIV infected children will be diagnosed early with pulmonary tuberculosis, avoiding missed diagnoses, enabling clinicians to decide on prompt and accurate TB treatment and HIV treatment for children.



**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO      BỘ Y TẾ**  
**VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

-----

**Phạm Thu Hằng**

**GIÁ TRỊ CÁC PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM  
CHẨN ĐOÁN LAO PHỔI Ở TRẺ EM NHIỄM HIV  
TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

Chuyên ngành: VI SINH Y HỌC

Mã số: 62 72 01 15

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

TP. Hồ Chí Minh – Năm 2018

Công trình được hoàn thành tại:

VIỆN PASTEUR THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Trương Thị Xuân Liên
2. TS.BS. Nguyễn Thị Ngọc Lan

Phản biện 1: PGS.TS. Phan Lê Thanh Hương-  
Viện VSDTTW

Phản biện 2: GS.TS. Nguyễn Thanh Bảo, Đại học  
Y dược TP. Hồ Chí Minh

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Duy Phong,  
Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm  
luận án cấp Viện họp tại: Viện Pasteur TP.HCM,  
vào hồi 08 giờ 30 phút ngày 30 tháng 11 năm 2018

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

Thư viện Quốc gia Việt Nam

Thư viện Viện Pasteur TP.HCM

## **DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

- 1. Do Cau Giang, Tran Ngoc Duong, Pham Thu Hang, et al.** (2015), “Prospective evaluation of GeneXpert for diagnosis of HIV – negative pediatric TB cases”. *BMC Infectious Diseases* 15:70.
- 2. Marcy O., Ung V., Thu Hang Pham, et al.** (2016), “Performance of Xpert MTB/RIF and Alternative Specimen Collection Methods for the Diagnosis of Tuberculosis in HIV – Infected Children”, *Clinical Infectious Diseases*, 62, pp.1161-1168.
- 3. Trinh Quynh Mai, Nguyen Thi van Anh, Nguyen Tran Hien, Pham Thu Hang, et al.** (2017), “Drug resistance and Mycobacterium tuberculosis strain diversity in TB/HIV co-infected patients in Ho Chi Minh city, Vietnam” *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10 (2017), pp.154- 160.
- 4. Phạm Thu Hằng, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Trương Thị Xuân Liên.** (2017), “Chẩn đoán nhanh lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV tại thành phố Hồ Chí Minh bằng xét nghiệm Xpert MTB/RIF từ mẫu bệnh phẩm phân”. Tạp chí Y học Việt Nam, Bộ Y tế, tập 460, số 1, tháng 11, 2017, tr.16-20.

## GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### 1. Đặt vấn đề

Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới, mỗi năm có khoảng 1 triệu trẻ em bị mắc lao mới, 140.000 trẻ em chết vì bệnh lao và có ít nhất là 40.000 trẻ nhiễm HIV. Ở trẻ em nhiễm HIV, nguy cơ mắc lao cao gấp 20 đến 30 lần so với trẻ không nhiễm HIV. Lao phổi là thể lao thường gặp nhất ở trẻ.

Chẩn đoán lao phổi cho trẻ em, đặc biệt là trẻ nhiễm HIV trên thế giới và Việt Nam gặp rất nhiều khó khăn. Ở trẻ nhiễm HIV, các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng của lao phổi thường không điển hình, lấy mẫu bệnh phẩm làm các xét nghiệm chẩn đoán không dễ dàng, thường phải yêu cầu bệnh nhi nhập viện, số trường hợp lao ở trẻ em nhiễm HIV có bằng chứng vi sinh thông qua soi trực tiếp hoặc nuôi cấy rất thấp, dẫn tới việc chẩn đoán lao cho trẻ em thường chậm trễ, hoặc bị lãng quên.

Với sự phát triển của kỹ thuật sinh học phân tử, xét nghiệm GeneXpert MTB/RIF (GeneXpert) ra đời mang tính đột phá cho kết quả chỉ sau 2 giờ với độ chính xác cao. Kết quả GeneXpert cho biết có sự hiện diện của vi khuẩn lao và có kháng RMP hay không qua đó giúp chẩn đoán nhanh ca bệnh lao và lao đa kháng thuốc (kháng với RMP và INH). Xét nghiệm GeneXpert kết hợp với sử dụng các phương pháp lấy mẫu bệnh phẩm ít xâm lấn như dịch mũi họng, mẫu phân, String test hứa hẹn việc cải thiện chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời cho bệnh nhi và bệnh nhi nhiễm HIV có triệu chứng nghi lao phổi. Đề tài được thực hiện với mục tiêu sau:

**- Xác định giá trị của các loại bệnh phẩm để chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV**

**- Xác định giá trị của kỹ thuật GeneXpert MTB/ RIF trong chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV.**

## **2. Những đóng góp mới của luận án**

Nghiên cứu áp dụng các kỹ thuật lấy mẫu bệnh phẩm thuận tiện, ít xâm lấn mà hiệu quả chẩn đoán vi khuẩn không thua kém các mẫu bệnh phẩm thường quy, sẽ giúp cho việc lấy mẫu bệnh phẩm để làm xét nghiệm chẩn đoán lao cho trẻ nhỏ có thể thực hiện dễ dàng ngay tại tuyến cơ sở, không cần phải đưa trẻ đến các bệnh viện chuyên khoa để lấy mẫu làm xét nghiệm.

Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử mới GeneXpert trên các mẫu bệnh phẩm ít xâm lấn như mẫu phân, dịch mũi họng với cách xử lý mẫu đơn giản làm cho việc chẩn đoán lao nhanh chóng, thuận tiện, có thể thực hiện ngay tại tuyến cơ sở. Trẻ em, đặc biệt là trẻ nhiễm HIV sẽ được phát hiện sớm lao phổi, tránh bỏ sót chẩn đoán, giúp cho thầy thuốc lâm sàng có thể quyết định điều trị lao và điều trị HIV cho trẻ được nhanh chóng, chính xác.

## **3. Cấu trúc luận án**

Luận án gồm 125 trang. Đặt vấn đề: 2 trang; 4 chương chính: chương 1- Tổng quan tài liệu 38 trang, chương 2- Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 20 trang, chương 3- Kết quả nghiên cứu 29 trang, chương 4- Bàn luận 35 trang. Kết luận 2 trang và kiến nghị 1 trang. Luận án có 48 bảng, 3 biểu đồ, 14 hình và 01 sơ đồ. Trong 121 tài liệu tham khảo có 23 tài liệu tiếng Việt, 98 tài liệu tiếng Anh.

### **CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN**

#### **1.1. Tình hình bệnh lao/HIV ở trẻ em trên thế giới và Việt Nam**

Bệnh lao vẫn là một trong các vấn đề chính về sức khỏe cộng đồng trên toàn cầu. Lao/ HIV là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong cho trẻ em trong số các bệnh nhiễm trùng trên toàn thế giới.

Chẩn đoán lao ở trẻ em rất khó khăn. Lao ở trẻ em hiếm khi được khẳng định bằng các bằng chứng vi khuẩn học vì khó lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm. Trẻ bị bệnh lao thường được chẩn đoán hoặc phát hiện bệnh muộn, và có không ít trường hợp trẻ phải dùng thuốc chống lao mà không phải bệnh lao.

Nhiễm HIV làm tăng gánh nặng lao ở trẻ em, bệnh cảnh lâm sàng phức tạp. Trẻ em nhiễm HIV thường có nguy cơ tiến triển thành những thể lao nặng như lao màng não và thường bị di chứng, tử vong.

## **1.2. Một số đặc điểm sinh bệnh học của vi khuẩn lao và HIV**

### **1.2.1. Đặc điểm sinh học của vi khuẩn lao**

Lao là một bệnh truyền nhiễm chủ yếu do vi khuẩn lao *M. tuberculosis* gây nên.

Thành tế bào vi khuẩn dày và chứa nhiều lipid giúp vi khuẩn lao có khả năng kháng lại cồn – axit. Vi khuẩn lao sinh trưởng chậm, thời gian nhân đôi khoảng 20 giờ. Trên môi trường nuôi cấy đặc, sau khoảng 3-4 tuần, vi khuẩn lao sinh trưởng tạo thành những khuẩn lạc sần sùi như hoa súp lơ màu kem. Trong môi trường lỏng, vi khuẩn lao sinh trưởng nhanh hơn trên môi trường đặc tạo thành dạng quần thể đặc trưng rất dễ nhận biết.

*M. tuberculosis* thường có hai trình tự chèn đặc trưng là *IS6110* và *IS1081*, đặc biệt là trình tự *IS6110* được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu dịch tễ học phân tử; gen đích 23S rDNA có mặt ở tất cả các chủng lao gây bệnh giúp phát hiện *M. tuberculosis* complex trong những trường hợp không có trình tự *IS6110*.

Khả năng kháng thuốc của vi khuẩn lao liên quan đến sự phát sinh các đột biến ngẫu nhiên ở các gen nằm trong nhân tế bào như



đột biến trên gen *rpoB* sẽ dẫn tới khả năng kháng rifampicin của vi khuẩn lao.

### ***1.2.2. Đặc điểm sinh học của HIV***

Nhiễm HIV- vi rút gây suy giảm miễn dịch ở người (Human Immunodeficiency Virus) và AIDS (Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải) gây suy giảm nghiêm trọng hệ thống miễn dịch. Trẻ nhiễm HIV hầu hết do lây truyền từ mẹ sang con.

### ***1.2.3. Tác động của lao đối với sinh bệnh học HIV***

Tế bào tham gia vào miễn dịch kháng lao chủ yếu là các tế bào thuộc quần thể Lympho bào T (miễn dịch qua trung gian tế bào).

HIV tấn công phá huỷ lympho TCD4 dẫn đến cơ thể suy giảm khả năng chống lại sự phát triển của vi khuẩn lao. Người nhiễm HIV đã bị phơi nhiễm với lao hay mắc lao tiềm ẩn có nguy cơ phát triển thành lao hoạt động cao gấp 20 đến 30 lần so với người không nhiễm HIV.

Bệnh lao trong giai đoạn tiến triển có quá trình huỷ hoại tế bào, tổ chức giải phóng ra các chất trung gian hóa học làm cho TCD4 bị phá huỷ nhiều hơn dẫn đến quá trình suy giảm miễn dịch nặng nề hơn.

## **1.3. Chẩn đoán lao phổi ở trẻ nhiễm HIV**

### ***1.3.1. Chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV***

Chẩn đoán lao phổi cho trẻ em nhiễm HIV cũng như trẻ không nhiễm HIV, đều dựa theo tiêu chuẩn của TCYTTC

### ***1.3.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán xác định lao phổi trẻ em nhiễm HIV***

- Dựa vào soi trực tiếp:

+ Nhuộm soi trực tiếp tìm thấy AFB trong đờm (lao phổi AFB+).

Chẩn đoán xác định khi có ít nhất 1 tiêu bản AFB (+)

- + Nhuộm soi trực tiếp không tìm thấy AFB trong đờm hoặc không lấy được đờm của trẻ: lao phổi AFB (-). Có  $\geq 2$  tiêu bản đờm AFB (-) và có hình ảnh X-quang phổi nghi lao.
- Dựa vào kết quả cấy dương tính với *M. tuberculosis* từ ít nhất một bệnh phẩm
- Dựa vào X-quang: trên phim X-quang phổi cho thấy có hình ảnh nghi lao mà không có bằng chứng khẳng định về vi khuẩn học.

### ***1.3.3. Thực trạng chẩn đoán lao phổi cho trẻ em và trẻ nhiễm HIV tại thành phố Hồ Chí Minh***

Mẫu bệnh phẩm được khuyến cáo sử dụng là mẫu đờm cho trẻ lớn, hút dịch dạ dày với trẻ nhỏ.

Soi trực tiếp: được thực hiện ở một số bệnh viện, các tổ chống lao địa phương theo phân cấp của CTCLQG. Tại thành phố Hồ Chí Minh, nuôi cấy chỉ được thực hiện tại khoa Vi sinh bệnh viện Phạm Ngọc Thạch. Các mẫu được chuyển đến để làm xét nghiệm chẩn đoán lao cho bệnh nhi không nhiều do lấy mẫu bệnh phẩm từ bệnh nhi khó khăn, việc vận chuyển mẫu không thuận tiện...

## **1.4. Các kỹ thuật xét nghiệm áp dụng trong chẩn đoán lao phổi ở trẻ nhiễm HIV**

### ***1.4.1. Khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới***

### ***1.4.2. Thu thập mẫu bệnh phẩm***

### ***1.4.3 Các kỹ thuật xét nghiệm***

#### ***1.4.3.1. Kỹ thuật soi trực tiếp (nhuộm Ziehl- Neelsen hay Auramin)***

#### ***1.4.3.2. Nuôi cấy***

### ***1.4.4. Các kỹ thuật sinh học phân tử***

#### ***1.4.4.1. Phản ứng chuỗi PCR (Polymerase Chain Reaction-PCR) và realtime- PCR***

#### ***1.4.4.2. LPA (Line Probe Assay) - Hain test***

#### 1.4.4.3. Xét nghiệm GeneXpert MTB/RIF

GeneXpert là một hệ thống khép kín, tự động hoàn toàn dựa trên kỹ thuật PCR định lượng. Trong các hộp test được thiết kế chuyên biệt, chứa tất cả sinh phẩm cần thiết và khi đưa vào máy sẽ thực hiện tự động tất cả các bước tách chiết, nhân gen và xác định gen sau thời gian 2 giờ máy trả kết quả kép: bệnh phẩm có vi khuẩn lao hay không và vi khuẩn này có kháng thuốc RMP hay không?

Có từ 90 đến 97% các chủng *M. tuberculosis* kháng RMP được xác định là do các đột biến trên vùng gen ngắn 81bp của *rpoB*. Ngoài ra trên 85% đột biến trên *rpoB* kèm theo kháng INH. Chính vì lý do đó mà phát hiện đột biến gen *rpoB* được sử dụng trong kỹ thuật GeneXpert nhằm phát hiện vi khuẩn lao *M. tuberculosis* và như một chỉ thị sớm phát hiện lao đa kháng thuốc.

GeneXpert MTB có độ nhạy phân tích với 5 bản sao của bộ gen (DNA được tinh chế) hoặc 131 CFU/ ml của vi khuẩn lao *M. tuberculosis* có trong mẫu đờm.

1.4.4.4. Giải trình tự (Sequencing): thường ứng dụng trong nghiên cứu.

### 1.5. Tình hình áp dụng các kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán lao phổi ở trẻ em và trẻ em nhiễm HIV trên thế giới và Việt Nam

#### 1.5.1. Trên thế giới

##### 1.5.1.1. Các nghiên cứu về thu thập mẫu bệnh phẩm

Chow Felica (2006) đã nghiên cứu đánh giá khả năng sử dụng String test trên 22 trẻ em từ 3- 14 tuổi đang nằm viện tại Peru cho thấy String test có thể sử dụng cho bệnh nhi trên 4 tuổi. Hiệu quả vi khuẩn học của string test chưa được đánh giá.

Trẻ em thường nuốt đờm, vi khuẩn lao có thể sống trong dạ dày nên vi khuẩn có thể có mặt trong phân. Wolf Hilary và cộng sự

(2008) làm nghiên cứu chẩn đoán lao từ mẫu bệnh phẩm phân của 16 bệnh nhi có triệu chứng nghi mắc lao phổi ở Anh bằng xét nghiệm soi, nuôi cấy MODS và PCR sử dụng đoạn dò IS6110.

#### *1.5.1.2. Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử và Xpert MTB/ RIF*

Năm 2016, Dejen và cộng sự đã tổng kết 15 nghiên cứu sử dụng GeneXpert để chẩn đoán lao phổi ở trẻ em từ các loại bệnh phẩm khác nhau ở các quốc gia trên thế giới. So với nuôi cấy, độ nhạy của GeneXpert dao động từ 25% đến 100% tùy thuộc vào loại bệnh phẩm và trên cùng một loại bệnh phẩm độ nhạy của các nghiên cứu cũng khác nhau. Tuy nhiên độ đặc hiệu cao trong khoảng 93% đến 100%.

#### *1.5.2. Tại Việt Nam*

Kỹ thuật GeneXpert được triển khai tại Việt Nam từ năm 2011. Bệnh nhân nhiễm HIV nghi mắc lao là một trong những đối tượng được CTCLQG ưu tiên được làm GeneXpert miễn phí. Kế hoạch của CTCLQG Việt Nam là sẽ dần mở rộng xét nghiệm GeneXpert tới các tổ chức lao tuyến quận huyện.

Có hai nghiên cứu đánh giá sử dụng kỹ thuật GeneXpert chẩn đoán lao cho trẻ em là nghiên cứu của Đỗ Châu Giang (2015) đánh giá trên 302 mẫu bệnh phẩm của 150 bệnh nhi có triệu chứng nghi mắc lao (xét nghiệm HIV âm tính) tại thành phố Hồ Chí Minh, lấy nuôi cấy làm chuẩn vàng, kỹ thuật GeneXpert có độ nhạy là 68,4%, độ đặc hiệu 98,2%. Nguyễn Kim Thanh (2017) nghiên cứu đánh giá kỹ thuật GeneXpert từ 428 mẫu bệnh phẩm của trẻ em tại bệnh viện Phổi Trung ương; độ nhạy, đặc hiệu của dịch dạ dày lần lượt là 56,7% và 99,6%; chung cho các loại mẫu là 59,5% và 98,7%.

Chưa có nghiên cứu về thu thập các loại mẫu bệnh phẩm để chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV.

## **CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

- Mẫu bệnh phẩm của trẻ nhiễm HIV có triệu chứng nghi mắc lao phổi đến khám và điều trị tại khoa Nhi BV. Phạm Ngọc Thạch. Các xét nghiệm được thực hiện tại khoa Vi sinh BV.PNT- phòng xét nghiệm chuẩn về lao, đã được công nhận đạt chuẩn ISO 15189 vào tháng 3/ 2012.
- Thời gian: từ tháng 9/2012 đến tháng 12/2014.

#### **2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh**

- Trẻ em từ 0 đến 14 tuổi có bằng chứng nhiễm HIV-1 ở bất cứ thời điểm nào trước khi tham gia vào nghiên cứu:
- Đang được điều trị ARV hoặc không.
- Có trên một hoặc nhiều triệu chứng nghi mắc lao như ho kéo dài trên 2 tuần; chậm tăng trưởng; không đáp ứng với điều trị bằng kháng sinh...
- Được sự đồng ý tham gia nghiên cứu của cha hoặc mẹ hoặc người giám hộ.

#### **2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ**

- Có tiền sử điều trị lao trong vòng 2 năm trước khi đăng ký tham gia nghiên cứu.

### **2.2. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu**

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

#### **2.3.1. Thiết kế nghiên cứu:** nghiên cứu cắt ngang, mô tả, tiến cứu

#### **2.3.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu**

Toàn bộ bệnh nhi đến khám và điều trị tại khoa Nhi bệnh viện Phạm Ngọc Thạch trong thời gian nghiên cứu được tiến hành nếu đáp ứng tiêu chuẩn thu dung và chấp thuận tham gia nghiên cứu sẽ được thu thập mẫu bệnh phẩm làm các xét nghiệm chẩn đoán.

### 2.3.3. *Biến số nghiên cứu*

- Tuổi, giới tính, cân nặng, chiều cao, tình trạng dinh dưỡng, sẹo BCG, số lượng tế bào CD4, điều trị ARV...
- Loại bệnh phẩm: đờm, dịch dạ dày (lấy bằng sonde theo phương pháp thường quy và phương pháp String, dịch mũi họng và phân.
- Kết quả soi trực tiếp AFB; kết quả nuôi cấy MTB; kết quả GeneXpert MTB/RIF; kết quả kháng sinh đồ.

## 2.4. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

### 2.4.1. Các phương pháp thu thập mẫu bệnh phẩm

- Các mẫu bệnh phẩm được thu thập trong 3 ngày
  - + Mẫu thu thập thường quy: Đờm hoặc dịch dạ dày bằng sonde
  - + Mẫu nghiên cứu: thu thập các mẫu bệnh phẩm ít xâm lấn như dịch mũi họng, mẫu phân và dịch dạ dày bằng string test.



**Hình 2.2. Thu thập mẫu dịch dạ dày bằng String test**

**Bảng 2.1. Thu thập bệnh phẩm làm xét nghiệm tìm vi khuẩn lao**

Tuổi của trẻ	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3
< 5 tuổi	+ Dịch dạ dày bằng sonde + Dịch hút mũi họng	+ Dịch dạ dày bằng sonde	+ Dịch dạ dày bằng sonde
5 - <10 tuổi	+ Phân		+ Lấy dịch dạ dày bằng String test
≥ 10 tuổi	+ Đờm + Dịch hút mũi họng + Phân	+ Đờm	

## 2.4.2. Các kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán lao ở trẻ nhiễm HIV

### 2.4.2.1. Kỹ thuật soi trực tiếp:

Tiêu bản soi trực tiếp sẽ được làm từ cặn lắng các loại bệnh phẩm và nhuộm Auramine. Riêng mẫu phân sẽ nhuộm Ziehl-Neelsen để tránh kết quả dương tính giả do bã thức ăn phát sáng khi nhuộm bằng Auramine.

### 2.4.2.2. Kỹ thuật nuôi cấy bằng hệ thống BACTEC MGIT 960

Tất cả các mẫu bệnh phẩm sẽ được xử lý (khử tạp, quay ly tâm) và lấy cặn lắng cấy vào môi trường MGIT. Chủng vi khuẩn lao từ mẫu cấy MGIT dương tính được cấy chuyển sang môi trường đặc để thực hiện phản ứng Niacin định danh vi khuẩn lao.

### 2.4.2.3. Xét nghiệm GeneXpert MTB/RIF

Xét nghiệm GeneXpert MTB/RIF trong nghiên cứu (mẫu bệnh phẩm đờm, dịch dạ dày, dịch mũi họng, dịch dạ dày lấy bằng String test) được thực hiện từ cặn lắng mẫu bệnh phẩm đã được khử tạp nhiễm theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Mẫu bệnh phẩm phân chưa có quy trình hướng dẫn thực hiện xét nghiệm GeneXpert, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành xử lý mẫu phân để làm GeneXpert theo quy trình “Simple Flotation”:

- + Lấy khoảng 0,5gr phân cho vào ống nghiệm 15 ml.
- + Thêm 10 ml dung dịch nước đường (28% saccarose) vào tuýp phân. Dùng 2 que gỗ quậy cho nhuyễn.
- + Vortex khoảng 30 giây. Để lắng khoảng 30 phút – 1 giờ.
- + Chuyển 0,5ml nước nổi qua ống nghiệm 15 ml mới. Thêm 1,8ml dung dịch xử lý mẫu (RS) của kit GeneXpert vào tuýp.
- + Tiến hành làm các bước tiếp theo như hướng dẫn của nhà sản xuất.

## 2.5. Thu thập và xử lý số liệu

Mỗi bệnh nhi sẽ có một hồ sơ thu thập thông tin nghiên cứu với các nội dung đáp ứng mục tiêu nghiên cứu

Dữ liệu nghiên cứu được nhập vào phần mềm EpiInfo 2002. Phân tích số liệu bằng EpiInfo 7 và SPSS phiên bản 20.0.

Sử dụng xét nghiệm nuôi cấy là “**tiêu chuẩn vàng**” để xác định các giá trị của xét nghiệm GeneXpert.

## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Một số đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu (n=107)

#### 3.1.1. Nhóm tuổi và giới tính

Nhóm bệnh nhi dưới 5 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (48,6%), tiếp theo là nhóm bệnh nhi từ 5 đến dưới 10 tuổi (41,1%). Nhóm bệnh nhi từ 10 đến 14 tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất (10,3%). Tỷ lệ nam/ nữ là 1,06/ 1.

Tỷ lệ bệnh nhi suy giảm miễn dịch nặng chiếm tỷ lệ 67,3%. Nhóm không suy giảm, suy giảm nhẹ và suy giảm miễn dịch trung bình là 32,7%.

### 3.2. Xác định giá trị của các loại bệnh phẩm để chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV

#### 3.2.1. Kết quả thu thập các loại mẫu bệnh phẩm

**Bảng 3.3. Kết quả thu thập mẫu bệnh phẩm theo lứa tuổi**

Tuổi của trẻ	Ngày 1				Ngày 2		Ngày 3		
	Đờm	DDD sonde	DMH	Phân	Đờm	DDD sonde	Đờm	DDD sonde	DDD String
< 5 tuổi (n=52)		52	52	52		52		52	
5-10 tuổi (n=44)		44	44	43		44		24	19
≥10 tuổi (n=11)	9	2	11	11	9	1	2	2	6
<b>Tổng</b>		107	107	106		106		80	25



*Nhận xét:* Trong 3 buổi sáng liên tiếp đã thu nhận được 531 mẫu bệnh phẩm các loại: 20 mẫu đờm, 273 mẫu dịch dạ dày thường quy lấy bằng sonde, 107 mẫu dịch mũi họng, 106 mẫu phân và 25 mẫu dịch dạ dày lấy bằng String test.

### 3.2.2. Các biến cố ảnh hưởng tới kết quả thu thập mẫu

**Bảng 3.5. Số lượng bệnh nhi gặp biến cố bất lợi khi thu thập mẫu**

Phân loại	Ngày 1				Ngày 2		Ngày 3			
	DDD (sonde)		DMH		DDD (sonde)		DDD (sonde)		DDD (String)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Không biến cố	8	8,2	3	2,8	7	7,2	10	12,8	9	36
Có biến cố	90	91,8	104	97,2	90	92,8	68	87,2	16	64
Tổng cộng	<b>98</b>	100	<b>107</b>	100	<b>97</b>	100	<b>78</b>	100	<b>25</b>	100

*Nhận xét:* Những bệnh nhi phải lấy dịch dạ dày bằng phương pháp đặt sonde và lấy dịch mũi họng gặp tỷ lệ biến cố bất lợi cao, dao động từ 87,2% đến 97,2%. Bệnh nhi được lấy dịch dạ dày bằng String test tỷ lệ gặp biến cố bất lợi giảm đáng kể, tỷ lệ này là 64%.

**Bảng 3.7. So sánh biến cố bất lợi thu thập dịch dạ dày bằng String test và bằng sonde**

Bệnh phẩm Dấu hiệu	DDD (String) (N=16)	DDD (Sonde) (N=17)	p
Ho	100 %	88,2 %	p> 0,05
Buồn nôn	12,5 %	94,1%	p< 0,05
Nôn	0 %	11,8 %	p>0,05
Tổn thương mũi	0 %	5,9 %	p> 0,05

*Nhận xét:* Các biến cố bất lợi khi lấy dịch dạ dày thường quy bằng sonde thường kết hợp  $\geq 2$  biến cố đi với nhau (88,2%) và nặng nề hơn so với biến cố bất lợi khi lấy mẫu dịch dạ dày bằng String test.

**Bảng 3.8. So sánh biến cố bất lợi thu thập dịch dạ dày thường quy (bằng sonde) và dịch mũi họng**

<b>Bệnh phẩm</b>	<b>Dịch dạ dày TQ (N=90)</b>	<b>Dịch mũi họng (N=104)</b>	<b>p</b>
<b>Dấu hiệu</b>			
Ho	95,6 %	93,3 %	$> 0,05$
Buồn nôn	93,3 %	63,5 %	$< 0,05$
Nôn	13,3 %	4,8 %	$< 0,05$
Tổn thương mũi	11,1 %	34,6%	$< 0,05$

*Nhận xét:* Khi thu thập mẫu dịch dạ dày thường quy thì dấu hiệu buồn nôn và nôn gặp nhiều hơn thu thập mẫu dịch mũi họng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Trong khi đó dấu hiệu tổn thương mũi gặp chủ yếu khi thu thập mẫu dịch mũi họng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 3.12. Kết quả phát hiện vi khuẩn lao từ mẫu đờm và dịch dạ dày thường quy theo các thời điểm lấy mẫu**

<b>Bệnh phẩm</b>		<b>Ngày 1 (N=107)</b>		<b>Ngày 1+ 2 (N=107)</b>		<b>Ngày 1+ 2+3 (N= 107)</b>	
		n	%	n	%	n	%
Soi trực tiếp	(+)	6	5,6	8	7,5	10	9,4
Cây MGIT	(+)	10	9,4	12	11,2	14	13,1
GeneXpert	(+)	12	11,2	13	12,2	13	12,2

*Nhận xét:* Thu thập mẫu bệnh phẩm thường quy trong 3 buổi sáng liên tiếp, bằng xét nghiệm soi trực tiếp phát hiện được 10 bệnh nhi

AFB dương tính, bằng xét nghiệm nuôi cấy MGIT phát hiện được 14 bệnh nhi MTB dương tính và 13 bệnh nhi MTB dương tính bằng xét nghiệm GeneXpert.

**Bảng 3.14. So sánh kết quả xét nghiệm tìm vi khuẩn lao từ mẫu thu thập bằng String test với mẫu đờm/dịch dạ dày thường quy (ngày 1)**

Bệnh phẩm		DDD String test (N=25)		Đờm/DDD TQ (N=25)		p
		n	%	n	%	
Phương pháp						
Soi trực tiếp	(+)	2	8,0	3	12,0	> 0,05
Cấy MGIT	(+)	5	20,0	4	16,0	> 0,05
GeneXpert	(+)	5	20,0	5	20,0	> 0,05

*Nhận xét:* chưa đủ để kết luận có sự khác biệt về kết quả xét nghiệm giữa mẫu dịch dạ dày thu thập bằng String test và mẫu thường quy.

**Bảng 3.17. So sánh kết quả tìm vi khuẩn lao bằng 3 phương pháp XN từ mẫu dịch mũi họng với mẫu đờm/ dịch dạ dày thường quy (ngày 1)**

Bệnh phẩm		Dịch mũi họng (N=107)		Đờm/DDD TQ (N=107)		p
		n	%	n	%	
Phương pháp						
Soi trực tiếp	(+)	4	3,7	6	5,6	>0,05
Cấy MGIT	(+)	14	13,1	10	9,4	>0,05
GeneXpert	(+)	11	10,3	12	11,2	>0,05

*Nhận xét:* kết quả tìm vi khuẩn lao bằng 3 phương pháp xét nghiệm từ mẫu dịch mũi họng với mẫu đờm và dịch dạ dày thường quy (ngày 1) có sự khác biệt nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0.05$ )

**Bảng 3.21. So sánh kết quả xét nghiệm tìm vi khuẩn lao từ mẫu phân với đờm và dịch dạ dày thường quy (ngày 1)**

Bệnh phẩm		Mẫu phân (N=107)		Đờm/DDD TQ (N=107)		p
		n	%	n	%	
Soi trực tiếp	(+)	11	10,4	6	5,6	>0,05
Cây MGIT	(+)	7	6,6	10	9,4	>0,05
GeneXpert	(+)	15	14,2	12	11,2	>0,05

*Nhận xét:* kết quả các xét nghiệm vi khuẩn lao từ mẫu phân với mẫu đờm và dịch dạ dày thường quy (ngày 1) bằng 3 phương pháp xét nghiệm soi, cây MGIT và Xpert đều không có sự khác biệt ( $p>0,05$ ).

**Bảng 3.26. Kết quả phát hiện vi khuẩn lao khi kết hợp các mẫu bệnh phẩm ngày 1+ 2+3**

Bệnh phẩm	Đờm/DDD TQ N=107	DMH N=107	Phân N=106	DDD String N=25	Tổng số N=107
Soi (+)	6+2+2	4	11	2	14
Cây(+)	10 +2 +2	14	7	5	15
GeneXpert (+)	12 +1 +0	11	15	5	15

*Nhận xét:* Sau ba ngày, từ tất cả các mẫu bệnh phẩm phát hiện được 14 bệnh nhi có kết quả AFB (+), 15 bệnh nhi có kết quả cây (+) và 15 bệnh nhi có kết quả GeneXpert (+). Từ mẫu thường quy số bệnh nhi phát hiện được vi khuẩn lao bằng phương pháp soi trực tiếp, nuôi cấy MGIT và GeneXpert lần lượt là 10, 14 và 13 trường hợp. Thu thập thêm mẫu dịch mũi họng, kết quả phát hiện vi khuẩn lao bằng xét nghiệm nuôi cấy từ một mẫu dịch mũi họng có giá trị cao hơn 3 mẫu bệnh phẩm thường quy trong 3 ngày. Mẫu bệnh phẩm phân có

kết quả phát hiện vi khuẩn lao bằng GeneXpert từ một mẫu phân cao hơn 3 mẫu thường quy trong 3 ngày.

### 3.3. Xác định giá trị của kỹ thuật GeneXpert MTB/ RIF trong chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV

**Bảng 3.38. Giá trị xét nghiệm GeneXpert các loại mẫu bệnh phẩm**

GeneXpert \ Chuẩn vàng	Cấy MGIT		Tổng số
	MTB (+)	MTB (-)	
GeneXpert MTB (+)	51	12	63
GeneXpert MTB (-)	6	462	468
<b>Tổng số</b>	57	474	531

*Nhận xét:* 531 mẫu bệnh phẩm các loại đã được làm GeneXpert; Kết quả độ nhạy 89,5% (51/57); Độ đặc hiệu 97,5% (462/474); Giá trị dự đoán dương tính 81% (51/63); Giá trị dự đoán âm tính 98,7% (462/468).

Xét nghiệm GeneXpert mẫu bệnh phẩm đờm có độ nhạy 75% (3/4); Độ đặc hiệu 100% (16/16); Xét nghiệm GeneXpert mẫu bệnh phẩm dịch dạ dày có độ nhạy 96,3% (26/27); Độ đặc hiệu 98,8% (243/246); Xét nghiệm GeneXpert mẫu bệnh phẩm dịch mũi họng có độ nhạy 71,4% (10/14); Độ đặc hiệu 98,9% (92/93); Xét nghiệm GeneXpert mẫu bệnh phẩm phân có độ nhạy 100% (7/7); Độ đặc hiệu 92% (91/99); Xét nghiệm GeneXpert mẫu bệnh phẩm String test có độ nhạy 100% (5/5); Độ đặc hiệu 100% (20/20).

## CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

### 4.1. Một số đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

### 4.2. Xác định giá trị của các loại bệnh phẩm để chẩn đoán lao phổi ở trẻ nhiễm HIV

#### **4.2.1. Kết quả thu thập các loại mẫu bệnh phẩm**

Trong NC, có 11 bệnh nhi trên 10 tuổi trong đó có 9/11 bệnh nhi có khả năng lấy mẫu đờm. Lấy đờm để làm xét nghiệm ở trẻ tương đối khó khăn, nhất là trẻ nhiễm HIV có thể trạng suy yếu.

Số lượng mẫu dịch dạ dày thu thập được có giảm qua các ngày, ngày 1 là 98 mẫu, ngày 2 là 97 mẫu và ngày 3 là 78 mẫu. Tổng số mẫu dịch dạ dày thu nhận được trong 3 ngày là 273 mẫu. Tuy số lượng giảm không nhiều nhưng thực tế cho thấy một vấn đề khó khăn trong thu thập mẫu bệnh phẩm nếu lấy mẫu trong nhiều ngày. Khi lấy dịch dạ dày, bệnh nhi cần phải nhịn ăn do đó không thể lấy nhiều mẫu dịch dạ dày trong cùng một ngày.

String test (test dây) là phương pháp lấy mẫu dịch dạ dày ít xâm lấn, không lây nhiễm cho môi trường xung quanh. Lấy mẫu dịch dạ dày bằng String rất đơn giản, chỉ yêu cầu có dây String. Tỷ lệ thực hiện được string test trong nghiên cứu là 45,5% (25/ 51) bệnh nhi chấp nhận tham gia do lấy dịch dạ dày bằng String test cần có sự hợp tác của bệnh nhi, nếu bệnh nhi không thích có thể từ chối và không thực hiện được. Qua nghiên cứu chúng tôi thấy việc lấy dịch dạ dày bằng string test khó áp dụng cho đối tượng trẻ em nhiễm HIV vì bệnh nhi không nuốt được dây string test, bệnh nhi đang trong tình trạng nặng phải thở oxy hoặc bệnh nhi quá hiếu động.

Dịch hút mũi họng trong nghiên cứu được thu nhận ở ngày thứ 1, cùng với mẫu dịch dạ dày. Kết quả 107 bệnh nhi (100%) đều lấy được dịch mũi họng. Lấy dịch mũi họng dễ thực hiện hơn lấy dịch dạ dày. Trong quá trình lấy mẫu bệnh phẩm dịch mũi họng nguy cơ phát tán mầm bệnh thông qua các hạt khí dung ít hơn dịch dạ dày.

Việc thu thập mẫu bệnh phẩm phân rất đơn giản, dễ dàng, không gây xâm lấn. Lấy mẫu bệnh phẩm phân có thể được thực hiện tại nhà,

không cần đến sự can thiệp của nhân viên y tế, không yêu cầu người bệnh phải nhập viện. Có thể lấy mẫu cho những trường hợp bệnh nặng. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có 106/107 (gần 100%) mẫu phân thu thập được ngay trong ngày thứ nhất.

#### **4.2.2. Các biến cố ảnh hưởng tới kết quả thu thập mẫu**

##### **4.2.2.1. Biến cố trong quá trình thu thập mẫu dịch dạ dày bằng String test so với mẫu dịch dạ dày thường quy**

Biến cố bất lợi khi thu thập mẫu dịch dạ dày String test thấp hơn rất nhiều (có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ ) so với khi lấy dịch dạ dày bằng sonde ( số liệu ??). Nếu có thì biến cố bất lợi khi thu thập mẫu dịch dạ dày bằng String test thường nhẹ, chủ yếu xảy ra trong lúc kéo sợi dây ra khỏi miệng, có thể gây ho cho bệnh nhi hoặc buồn nôn.

##### **4.2.2.2. Biến cố trong quá trình thu thập mẫu dịch mũi họng so với dịch dạ dày thường quy**

Các biến cố bất lợi trong quá trình lấy mẫu dịch mũi họng thấp hơn (có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ ) so với các biến cố bất lợi gặp trong khi lấy dịch dạ dày thường quy ( số liệu ?? ). Trong quá trình lấy mẫu bệnh phẩm dịch dạ dày thường quy, đa số các biến cố bất lợi đi kèm với nhau. Các biến cố gặp trong quá trình lấy mẫu dịch mũi họng thường nhẹ hơn, gặp nhiều nhất là ho và buồn nôn

##### **4.2.2.3. So sánh biến cố trong quá trình thu thập mẫu phân với dịch dạ dày thường quy**

Thu thập mẫu bệnh phẩm phân là kỹ thuật hoàn toàn không gây xâm lấn, không gây ra các biến cố bất lợi.

#### **4.2.3. Kết quả xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm bằng các kỹ thuật xét nghiệm khác nhau**

Mẫu bệnh phẩm dịch dạ dày lấy bằng String có kết quả nhuộm soi trực tiếp AFB (+) là 8%, xét nghiệm cấy MTB (+) 20% và

Xpert MTB/RIF (+) 20%. Mẫu đờm và dịch dạ dày thường quy ngày thứ nhất có kết quả nhuộm soi trực tiếp AFB (+) là 12%, xét nghiệm cấy MTB (+) 16% và Xpert MTB/RIF (+) 20%. Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng xét nghiệm nuôi cấy và Xpert mẫu dịch dạ dày bằng string test cao hơn mẫu đờm/ dịch dạ dày thường quy ngày 1.

Tỷ lệ nuôi cấy MTB dương tính của mẫu bệnh phẩm dịch mũi họng 13,1% cao hơn so với mẫu đờm, dịch dạ dày ngày 1; ngày 1+2 (9,4%; 11,2%) và bằng so với tỷ lệ cấy dương tính của mẫu đờm/ dịch dạ dày trong 3 ngày cộng lại (13,1%).

Mẫu bệnh phẩm phân có tỷ lệ soi trực tiếp AFB (+) là 10,4% , GeneXpert MTB/RIF dương tính 14,2%. Tỷ lệ AFB (+) và GeneXpert (+) ở mẫu phân cao hơn có ý nghĩa so với mẫu đờm và dịch dạ dày thường quy thu thập trong 3 ngày (AFB (+) 9,4%, GeneXpert MTB/RIF (+) 12,2%).

Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao ở các loại bệnh phẩm có khác nhau nhưng do số mẫu khi chia ra các nhóm có n nhỏ nên không thấy sự khác biệt về tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao giữa các loại mẫu bệnh phẩm. Tuy nhiên khả năng phát hiện được vi khuẩn lao ở đối tượng trẻ em đặc biệt là trẻ nhiễm HIV rất thấp nên phát hiện thêm được một mẫu dương tính cũng rất có giá trị.

Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao bằng các kỹ thuật soi trực tiếp, nuôi cấy ở trẻ em nhiễm HIV trong nghiên cứu của chúng tôi thấp như trong các nghiên cứu khác. Lao phổi ở trẻ thường là thể ít vi khuẩn; tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao bằng các xét nghiệm thường quy rất thấp, kể cả nuôi cấy cũng chỉ cho tỷ lệ phát hiện dưới 15%.

#### ***4.2.4. Khả năng phát hiện thêm vi khuẩn lao khi kết hợp xét nghiệm các loại mẫu bệnh phẩm***

Thu thập thêm các mẫu bệnh phẩm dịch mũi họng và mẫu phân (ngoài mẫu bệnh phẩm đờm/ dịch dạ dày theo thường quy)



trong ngày 1 cho thấy: bằng phương pháp soi trực tiếp phát hiện tăng thêm được 7 bệnh nhi (50%) có AFB dương tính; Bằng phương pháp nuôi cấy phát hiện tăng thêm được 4 bệnh nhi (26,7%) có MTB dương tính; Bằng phương pháp GeneXpert phát hiện tăng thêm được 3 bệnh nhi (20%) có MTB dương tính.

Vì biến cố bất lợi khi lấy dịch dạ dày gặp nhiều hơn khi thực hiện các test khác nên chúng ta cần nghĩ tới phương án thay thế việc thu thập mẫu bệnh phẩm bằng phương pháp xâm lấn trong 3 buổi sáng liên tiếp bằng thu thập 01 mẫu đờm hoặc dịch dạ dày 01 mẫu dịch mũi họng và 01 mẫu phân trong một buổi sáng. Cách thu thập này kết hợp với xét nghiệm GeneXpert giúp cung cấp kết quả xét nghiệm trong thời gian sớm nhất, có giá trị làm tăng tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao, giảm thiểu những khó chịu cho trẻ bệnh khi lấy mẫu làm xét nghiệm, giảm tỷ lệ mất mẫu do phải lấy mẫu trong nhiều ngày.

### **4.3. Giá trị của kỹ thuật GeneXpert MTB/RIF trong chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV**

#### **4.3.1. Về việc xử lý mẫu làm xét nghiệm**

Mẫu đờm, dịch dạ dày, dịch mũi họng xử lý mẫu làm GeneXpert theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Mẫu phân, chúng tôi đề xuất phương pháp thực hiện rất đơn giản không cần sử dụng máy ly tâm nên có thể ứng dụng tại các tổ chống lao tuyến quận huyện. Qua nghiên cứu chúng tôi thấy, mẫu phân của bệnh nhi thường mềm và chứa ít cặn bã của thức ăn, dung dịch sử dụng là nước nổi nên có thuận lợi là không xảy ra các lỗi do mẫu gây bít màng lọc.

#### **4.3.2. Về giá trị của xét nghiệm GeneXpert**

##### **4.3.2.1. Độ nhạy và độ đặc hiệu**

Độ nhạy và đặc hiệu của GeneXpert trong nghiên cứu này tương tự như một số nghiên cứu khác, thấp nhất là mẫu dịch mũi họng với độ nhạy

71,4% và cao nhất là mẫu String test và mẫu phân là 100%; độ đặc hiệu của tất cả các mẫu đều trên 92%. Độ nhạy của kỹ thuật GeneXpert trong nghiên cứu của chúng tôi trên nhóm bệnh nhi HIV cao hơn so với nhóm bệnh nhi không nhiễm HIV. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nhận xét của các chuyên gia về lao trên thế giới: độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật GeneXpert thường cao trong quần thể có tỷ lệ nhiễm HIV và lao cao trong cộng đồng, chính vì vậy mà TCYTTG có khuyến cáo sử dụng GeneXpert chẩn đoán lao cho bệnh nhân nhiễm HIV. So với các xét nghiệm sinh học phân tử khác thì độ nhạy, đặc hiệu của GeneXpert không hề thua kém.

#### *4.3.2.2. Về tỷ lệ dương tính giả của xét nghiệm GeneXpert*

Tỷ lệ dương tính giả được báo cáo trong một vài nghiên cứu về GeneXpert với giả thiết có thể đó là xác vi khuẩn lao ở BN đã điều trị vì những trường hợp bệnh này có triệu chứng phù hợp với lao, được điều trị, theo dõi và đáp ứng tốt với điều trị thuốc lao. Ngoài yếu tố gây dương tính giả liên quan tới bệnh nhân, môi trường nuôi cấy MGIT không phù hợp cho vi khuẩn phát triển cũng là một nguyên nhân gây dương tính giả. Tỷ lệ dương tính giả trong nghiên cứu này nằm trong khoảng giới hạn thấp như các nghiên cứu đã gặp. Bệnh nhi này là những bệnh nhi nghi mắc lao mới, có kết quả GeneXpert (+) nhưng nuôi cấy (-). Có 2 bệnh nhi (25%) có kết quả nuôi cấy MGIT âm tính với tất cả các loại mẫu bệnh phẩm, 6 bệnh nhi (75%) có kết quả nuôi cấy MGIT MTB (+) với ít nhất 1 loại mẫu. Tất cả 6 bệnh nhi đều có triệu chứng phù hợp với lao và điều trị đáp ứng tốt với thuốc chống lao. 02 bệnh nhi có nuôi cấy MGIT (-) ở tất cả các loại mẫu bệnh phẩm và kết quả GeneXpert (+) được chẩn đoán và điều trị lao nhưng 2 bệnh nhi này tử vong nên không có theo dõi đánh giá đáp ứng điều trị. Như vậy phần lớn các trường hợp dương tính giả của GeneXpert là tỷ lệ dương tính thật sự của GeneXpert mà MGIT không phát hiện được.

#### *4.3.2.3. Về tỷ lệ âm tính giả của xét nghiệm GeneXpert*

Nguyên nhân âm tính giả có thể do bản chất của GeneXpert MTB không phát hiện được nồng độ vi khuẩn lao dưới mức 131 cfu/ml (ngưỡng thấp nhất mà GeneXpert có thể phát hiện được vi khuẩn), trong khi đó MGIT có thể phát hiện vi khuẩn lao ở ngưỡng 5- 10 cfu/ml, hoặc sự có mặt của chất ức chế khuếch đại PCR trong bệnh phẩm làm xét nghiệm.

#### *4.3.2.4. Giá trị GeneXpert MTB phát hiện kháng RMP*

Tỷ lệ kháng RMP phát hiện bằng GeneXpert là 1,6% (1/63). Mẫu bệnh phẩm kháng RMP là mẫu phân, mẫu phân có kết quả kháng RMP nhưng có kết quả nuôi cấy MGIT âm tính nên không biết được kết quả kháng RMP bằng phương pháp kiểu hình. Phương pháp kiểu gen sẽ phát hiện được kháng thuốc nhạy hơn phương pháp kiểu hình.

Do kinh phí hạn chế nên nếu một bệnh nhân có nhiều mẫu cấy dương tính cũng chỉ được thực hiện 01 kháng sinh đồ phương pháp tỷ lệ trên môi trường đặc từ mẫu cấy dương tính đầu tiên. Kết quả KSD phương pháp tỷ lệ là 86,7% (13/15) có kết quả kháng sinh đồ; tỷ lệ ngoại nhiễm là 13,3% (2/15); tỷ lệ nhạy cảm với RMP là 100%. Có một vài nghiên cứu về độ chính xác của GeneXpert có ghi nhận về kết quả sai dương trong chẩn đoán kháng rifampicin.

#### *4.3.3. Về thời gian thực hiện xét nghiệm*

Với ưu thế vượt trội về thời gian trả kết quả trong vòng 2 giờ so với nuôi cấy và kháng sinh đồ là 2-3 tháng hay 2-3 ngày so với các phương pháp sinh học phân tử khác.

#### *4.3.4. Về giá thành của xét nghiệm*

Xét nghiệm GeneXpert do chương trình Chống lao Quốc gia hỗ trợ về sinh phẩm và bảo dưỡng hiệu chuẩn toàn bộ hệ thống máy.

#### *4.3.5. Đảm bảo chất lượng*

Xét nghiệm GeneXpert có hai đối chứng nội tại để kiểm soát chất lượng, xác định quá trình xử lý mẫu của xét nghiệm PCR và tính toàn vẹn

của hộp test. Các công đoạn xét nghiệm Xpert hoàn toàn do máy thực hiện nên giảm thiểu nguy cơ ngoại nhiễm. Thao tác đơn giản hoàn toàn phù hợp là một xét nghiệm chẩn đoán lao và lao kháng RMP sớm cho trẻ em và trẻ em nhiễm HIV tại tuyến cơ sở.

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu giá trị các xét nghiệm tìm vi khuẩn lao từ 107 bệnh nhi nhiễm HIV có triệu chứng nghi mắc lao phổi tới khám và điều trị tại khoa Nhi bệnh viện Phạm Ngọc Thạch, chúng tôi rút ra hai kết luận như sau:

### **1. Giá trị của các loại bệnh phẩm để chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV**

Phương pháp lấy mẫu các bệnh phẩm (dịch dạ dày bằng String và dịch mũi họng) ít gây xâm lấn, ít biến cố bất lợi so với lấy mẫu thường quy có thể thực hiện tại tuyến cơ sở; mẫu bệnh phẩm phân là mẫu bệnh phẩm dễ lấy, an toàn và có thể thực hiện tại nhà.

Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao từ mẫu bệnh phẩm dịch dạ dày lấy bằng dụng cụ String, dịch mũi họng, phân bằng xét nghiệm soi trực tiếp lần lượt là 8%, 3,7% và 10,4%; bằng xét nghiệm nuôi cấy MGIT lần lượt là 20%, 13,1% và 6,6%; bằng xét nghiệm Xpert MTB/RIF lần lượt là 20%, 10,3% và 14,1%. Tỷ lệ này không thua kém so với mẫu bệnh phẩm thường quy trong 3 ngày (9,4%, 13,1%, 12,2%).

### **2. Giá trị của kỹ thuật GeneXpert MTB/RIF trong chẩn đoán lao phổi ở trẻ em nhiễm HIV**

Giá trị GeneXpert chung cho các loại mẫu bệnh phẩm: độ nhạy 89,5% (51/57), độ đặc hiệu 97,5% (462/474), giá trị dự đoán dương tính 81% (51/63), giá trị dự đoán âm tính 98,7% (462/468);

GeneXpert mẫu bệnh phẩm dịch dạ dày lấy bằng sonde có độ nhạy 96,3% (26/27), độ đặc hiệu 98,8% (243/246), giá trị dự đoán

dương tính 89,7% (26/29), giá trị dự đoán âm tính 99,6% (243/244); GeneXpert mẫu bệnh phẩm đờm có độ nhạy 75% (3/4), độ đặc hiệu 100% (16/16), giá trị dự đoán dương tính 100% (3/3), giá trị dự đoán âm tính 94,1% (16/17);

GeneXpert mẫu dịch dạ dày lấy bằng String test có độ nhạy 100% (5/5), độ đặc hiệu 100% (20/20), giá trị dự đoán dương tính 100% (5/5), giá trị dự đoán âm tính 100% (20/20). Tỷ lệ thực hiện String test ở nhóm trẻ trên 5 tuổi là 45,5%;

GeneXpert mẫu phân có độ nhạy 100% (7/7), độ đặc hiệu 92% (91/99), giá trị dự đoán dương tính 46,7% (7/15), giá trị dự đoán âm tính 100% (91/91). Cách lấy mẫu dễ dàng, thao tác thực hiện kỹ thuật GeneXpert thuận tiện;

GeneXpert mẫu dịch mũi họng có độ nhạy 71,4% (10/14), độ đặc hiệu 98,9% (92/93), giá trị dự đoán dương tính 90,9% (10/11), giá trị dự đoán âm tính 95,8% (92/96).

Xét nghiệm GeneXpert trên mẫu phân dễ thực hiện vì vậy có thể lựa chọn để chẩn đoán nhanh bệnh lao trẻ em tại cộng đồng (tổ chống lao tuyến quận huyện).

### **KIẾN NGHỊ**

Qua quá trình thực hiện đề tài, chúng tôi có kiến nghị như sau:

1. Triển khai xét nghiệm GeneXpert trên mẫu bệnh phẩm phân tại cộng đồng để chẩn đoán nhanh bệnh lao và lao kháng rifampicin ở trẻ em và trẻ em nhiễm HIV.
2. Tại các bệnh viện nên kết hợp thu thập mẫu đờm/ dịch dạ dày với mẫu phân và dịch hút mũi họng trong ngày đầu tiên để có tỷ lệ phát hiện vi khuẩn tối ưu.
3. Cần có thêm số liệu nghiên cứu về cách lấy mẫu bằng String test trong chẩn đoán lao cho trẻ nhiễm HIV.