

Ứng dụng sinh học phân tử trong chẩn đoán viêm gan siêu vi

Các câu hỏi thường gặp

Viêm gan siêu vi B

Tôi đi thử máu có kết quả dương tính HBsAg, vậy là có bị gì không?

HBsAg là kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B. Một người thử máu thấy HBsAg dương tính tức là người đó đang bị nhiễm virus viêm gan B

Như vậy là có bị nguy hiểm không? có cần phải điều trị hay không?

Đa số người bị nhiễm virút viêm gan B thì sẽ có được đáp ứng miễn dịch bảo vệ, tức là sẽ tạo được kháng thể chống HBsAg (gọi là anti-HBsAg) và tiêu diệt được virus viêm gan B. Người đó khi thử máu sẽ dương tính anti-HBsAg. Tuy nhiên có một số người hệ miễn dịch lại không thể tạo ra được kháng thể bảo vệ này nên thử máu lúc nào cũng dương tính với HBsAg. Trong cơ thể của người đó có một sự đấu tranh qua lại giữa hệ miễn dịch và virus. Nếu hệ miễn dịch cân bằng được hay ưu thế hơn thì sẽ kiềm hãm không cho virus nhân bản được thành các virus hoàn chỉnh, do vậy mà sẽ không có hay sẽ có rất ít virus hoàn chỉnh vào trong máu. Những trường hợp này được gọi là **người lành mang virus**, nếu thử máu sẽ thấy HBsAg dương tính nhưng dấu hiệu cho thấy có virus hoàn chỉnh là HBV-DNA, tức là acid nhân của virus, thường âm tính hay dương tính với số lượng (số copies) rất thấp ($<10^5$ /ml). Nhưng nếu hệ miễn dịch không kiềm hãm được mà để virus thắng thế thì chúng sẽ nhân bản được nhiều trong tế bào gan tạo ra được nhiều virus hoàn chỉnh vào máu của bệnh nhân và lúc này thử máu sẽ thấy HBsAg dương tính đồng thời có virus hoàn chỉnh hiện diện trong máu với số lượng cao phát hiện thông qua xét nghiệm HBV-DNA cho kết quả dương tính và số lượng vượt trên 10^5 copies/ml. Trong trường hợp này cần phải xác định gan người bệnh có bị tổn hại không, tức là người đó có bị **viêm gan mạn tính** không? Nếu xác định là bị viêm gan mạn tính thì phải được điều trị đặc hiệu. Do vậy, nếu một người bị HBsAg dương tính, chúng ta cần phải cần phải thử máu xem HBV-DNA có bị dương tính không và số lượng bao nhiêu? Nếu HBV-DNA dương tính với số lượng quá 10^5 /ml thì phải tiếp tục xem men gan (là thử nghiệm ALT hay SGPT) của họ có cao không? Nếu cao vượt ngưỡng 2 lần bình thường (ALT bình thường là 19 IU ở nữ và 33 IU ở nam) thì được coi là viêm gan mạn tính và phải điều trị. Nếu men gan bình thường thì cần phải chắc chắn là tế bào gan

có bị thương tổn không thông qua xét nghiệm về hình thái tế bào gan như sinh thiết gan hay fibroscan. Nếu kết quả cho thấy có thương tổn thì họ cũng phải được xem là đang bị viêm gan mạn tính và phải cần điều trị đặc hiệu cho bệnh nhân dù men gan bình thường.

Như vậy là nếu bị HBsAg dương tính thì cần phải làm xét nghiệm HBV-DNA. Vậy thì xét nghiệm HBV-DNA là gì? Làm sao thực hiện được?

Virus viêm gan B có phần lõi của nó là DNA tức là acid nhân chứa đựng các thông tin di truyền của virus. Virus viêm gan B một khi nhân bản hoàn chỉnh thì sẽ tạo được một virus hoàn chỉnh tức là bên trong phần vỏ của nó (đó là kháng nguyên vỏ hay kháng nguyên bề mặt HBsAg) có chứa được phần lõi HBV-DNA. Xét nghiệm HBV-DNA tức là xét nghiệm tìm xem trong máu của bệnh nhân có mang virus hoàn chỉnh hay không. Đây là xét nghiệm sinh học phân tử, thông thường được thực hiện bằng kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) là kỹ thuật nhân bản DNA trong ống nghiệm qua các chu kỳ nhiệt độ. Trong xét nghiệm này, máu của bệnh nhân sau khi lấy sẽ được tách huyết thanh hay huyết tương và sau đó phòng thí nghiệm sẽ tách chiết DNA của virus trong các mẫu huyết tương và huyết thanh này để đưa vào một ống nghiệm rồi nhân bản các DNA này trong ống nghiệm thành hàng tỷ bản sao để phát hiện. Nhờ nhân bản lên từ một bản gốc thành hàng tỷ bản sao rồi mới phát hiện nên xét nghiệm này có độ nhạy cảm cực kỳ cao đủ sức để phát hiện DNA của virus có trong mẫu thử dù với số lượng rất thấp. Ngoài ra, ngày hôm nay với xét nghiệm PCR người ta còn có thể đếm được số lượng bản gốc DNA ban đầu có trong mẫu thử là bao nhiêu dựa vào kỹ thuật PCR định lượng, được gọi là qPCR hay real-time PCR. Về mặt nguyên tắc qPCR cũng giống như PCR nhưng có thêm một tính năng nữa là có thể đếm được có bao nhiêu bản gốc DNA trước khi được nhân bản nhờ một hệ thống quang học có khả năng phát hiện được phản ứng xảy ra trong ống nghiệm trong khi nhân bản xảy ra.

Tôi biết được là hiện nay có nhiều nơi làm xét nghiệm phát hiện và định lượng HBV-DNA nhưng kết quả có khi lại khác nhau dù thử trên cùng một bệnh nhân!! Do vậy làm thế nào để tin tưởng được một kết quả xét nghiệm HBV-DNA vì đây là một xét nghiệm mà chi phí bệnh nhân phải trả cũng không phải là ít?

Đúng là như vậy. Xét nghiệm HBV-DNA là xét nghiệm dựa trên kỹ thuật PCR là một kỹ thuật hoàn toàn mở nên người làm xét nghiệm có thể tự pha thuốc thử để làm xét nghiệm mà không phải bị lệ thuộc vào các kit xét nghiệm mua từ các hãng nước ngoài rất

đắt tiền. Tuy nhiên vì là hệ thống mở nên muốn kết quả xét nghiệm được chính xác thì người làm xét nghiệm phải thực hiện đủ các chứng để kiểm soát không cho các sơ sót xảy ra trong quá trình làm xét nghiệm và các chứng này phải hiển thị trên kết quả xét nghiệm. Với một xét nghiệm phát hiện HBV-DNA, kết quả phải hiển thị: (1) một chứng dương để chứng minh khâu khuếch đại trong quá trình xét nghiệm đủ nhạy cảm, (2) một chứng âm để chứng minh quá trình thao tác xét nghiệm không bị ngoại nhiễm gây ra kết quả dương tính giả, (3) một chứng nội tại trong chứng âm để chứng minh khâu tách chiết DNA từ mẫu thử đạt độ nhạy, (4) và đồng thời mẫu âm tính phải có chứng nội tại để chứng minh âm tính là thật sự âm tính chứ không phải là âm tính giả. Đối với xét nghiệm định lượng HBV-DNA thì trong kết quả phải hiển thị được đường biểu diễn chuẩn để chứng minh thao tác định lượng đạt chuẩn thông qua hệ số tương quan (R) của các mẫu chuẩn phải đạt trên 0.990 và hiệu quả phản ứng (E) phải đạt 90-105% và đồng thời chứng minh kết quả định lượng là được tính toán từ kết quả của các mẫu chuẩn được chạy song hành cùng với mẫu thử chứ không phải là được tính toán từ một công thức có sẵn. Ngoài ra, nếu muốn kết luận một kết quả âm tính thì trong kết quả định lượng phải hiển thị được mẫu đó dương tính được với chứng nội tại để đảm bảo âm tính này là âm tính thật sự chứ không phải âm tính giả vì phản ứng khuếch đại bị ức chế.

Nếu tôi bị xác định là viêm gan virus B mạn tính thì có nhất thiết phải điều trị không? Nếu không điều trị thì có bị sao không?

Một người đã bị xác định là bị viêm gan virus B mạn tính nếu không được điều trị đặc hiệu thì virus sẽ không bị khống chế mà sẽ liên tục nhân bản trong tế bào gan và sẽ tàn phá tế bào gan với hậu quả sẽ dẫn đến xơ gan và từ thương tổn xơ gan, bệnh nhân có thể bị đi dần đến tình trạng xơ gan mất bù rồi chết, hay từ xơ gan có thể bị dẫn đến ung thư gan. Cũng có trường hợp bệnh nhân bị ung thư gan mà không cần thiết phải bị qua giai đoạn xơ gan, đây chính là những trường hợp bệnh nhân tình cờ qua khám sức khoẻ thấy bị khối u trong gan (qua siêu âm chẩn đoán) rồi sau đó bị xác định là ung thư gan, xét nghiệm máu cho thấy HBV-DNA dương tính với số copies cao ($>10^5$). Chính vì vậy mà nếu đã bị chẩn đoán là bị viêm gan B mạn tính (tiêu chuẩn chẩn đoán là HBV-DNA trên 10^5 copies/ml, ALT cao gấp 2 lần bình thường hay xét nghiệm sinh thiết hoặc fibroscan thấy tổ chức gan bị tổn thương) thì nhất thiết phải được điều trị đặc hiệu để kiểm chế không cho virus nhân bản để gây tổn thương gan. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy nếu

không được điều trị để khống chế số lượng virus hoàn chỉnh trong máu bệnh nhân luôn dưới ngưỡng phát hiện thì nguy cơ xơ gan hay ung thư gan ở những người này sẽ rất cao.

Vậy thì làm thế nào để có thể biết tôi được điều trị có hiệu quả? và tôi cần phải được điều trị trong bao lâu?

Sau khi bắt đầu điều trị đặc hiệu khoảng 3 tháng, bác sĩ sẽ cho xét nghiệm lại máu của bệnh nhân để đếm số lượng virus viêm gan B (xét nghiệm định lượng HBV-DNA) có trong máu là bao nhiêu. Nếu lượng HBV-DNA trong máu giảm hơn trước khi điều trị trên 100 lần thì có nghĩa là điều trị có hiệu quả, và xét nghiệm này phải được làm liên tục cứ mỗi 3 tháng một lần cho đến khi xét nghiệm định lượng HBV-DNA cho kết quả dưới ngưỡng phát hiện. Kể từ bây giờ trở đi thì bác sĩ chỉ cần cho xét nghiệm phát hiện HBV-DNA mà không cần phải định lượng nữa và cũng cứ mỗi 3 tháng 1 lần để theo dõi xem có tái phát không. Thời gian điều trị đặc hiệu có thể sẽ kéo dài trong nhiều năm vì cho đến nay các nhà y học chỉ đạt đến thành công là khống chế được virus không cho nhân bản chứ rất hiếm khi loại trừ được virus vì chúng tồn tại trong tế bào gan ở dạng cccDNA (covalently closed circular DNA) không bị tác động bởi thuốc kháng virus. Một điều chắc chắn là nếu virus viêm gan B trong bệnh nhân ngay từ trước khi điều trị hay trong quá trình điều trị mà DNA của chúng bị đột biến ở vùng gen tiền lõi (precore mutation), và đặc biệt là khi có đột biến ở vùng khởi động (promoter mutation), thì nguy cơ bệnh nhân sẽ bị xơ gan và/hay ung thư gan rất cao, nên trên những bệnh nhân này, bác sĩ phải điều trị đặc hiệu cho họ suốt đời mà không được phép ngưng điều trị.

Xin cắt nghĩa cho tôi rõ hơn đột biến precore/core promoter là gì? Làm sao để biết được tôi có mang virus viêm gan B bị đột biến precore/core promoter? Trước khi bắt đầu điều trị đặc hiệu, tôi có cần làm xét nghiệm để biết mình có mang virus viêm gan B bị đột biến precore/core promoter không?

Trong bộ gen (DNA) của virus viêm gan B có một gene được gọi là gene tiền lõi, mã hoá thông tin di truyền giúp virus sinh ra được kháng nguyên e (HBeAg) và kháng nguyên này được virus tiết ra ngoài khi nó nhân bản. Do vậy nếu trong máu bệnh nhân có sự xuất hiện HBeAg thì có nghĩa là có sự nhân bản của virus trong cơ thể. Nếu hệ thống miễn dịch của bệnh nhân thắng thế thì virus sẽ bị chặn lại và không nhân bản được đồng thời trong máu bệnh nhân xuất hiện được kháng thể chống HBeAg (gọi là anti-HBeAg). Trường hợp này y học gọi là có chuyển đổi huyết thanh chứng minh được hệ miễn dịch

thắng thế với các kết quả xét nghiệm cho thấy HBeAg trở nên âm tính, anti-HBeAg dương tính, và HBV-DNA không phát hiện được hay phát hiện được như số lượng rất thấp. Cũng trong quá trình đấu tranh giữa virus với hệ miễn dịch của cơ thể, có những chủng virus viêm gan B bị đột biến precore/core promoter tạo nên một mã kết thúc trên gene này do vậy mà virus không thể tổng hợp được kháng nguyên HBeAg, lúc này virus được gọi là bị đột biến precore với kết quả xét nghiệm cho thấy HBeAg âm tính, AntiHBeAg dương tính, và HBV-DNA dương tính với số lượng cao, đồng thời men gan trời sục thất thường phản ánh tình trạng mất cân bằng giữa hệ miễn dịch đối với khả năng nhân bản và phá hủy tế bào gan của virus.

Trường hợp của bạn thì chỉ cần làm xét nghiệm phát hiện đột biến precore khi thử nghiệm cho kết quả HBV-DNA dương tính trên 10^5 copies/ml, HBeAg âm tính và anti HBeAg dương tính. Tại sao phải làm xét nghiệm phát hiện đột biến precore trong trường hợp này? đó là vì bác sĩ phải phân biệt nó với tình trạng chuyển đổi huyết thanh. Nếu không phải là đột biến precore mà là do chuyển đổi huyết thanh thì bác sĩ có thể xem xét ngưng điều trị cho bạn sau một thời gian điều trị mà bác sĩ cho là cần thiết. Còn nếu là đột biến precore thì chắc chắn là bác sĩ sẽ không thể nào ngưng mà phải điều trị cho bạn suốt đời. Xét nghiệm phát hiện đột biến precore hiện nay đã được công ty Nam Khoa thực hiện bằng giải trình tự với nguyên tắc là dùng PCR khuếch đại một đoạn dài 250 bases trên vùng gene preS chứa điểm bị đột biến rồi giải trình tự trực tiếp để phát hiện xem có đột biến tại điểm này (và cả tại hai vị trí rất quan trọng liên quan đến khả năng sinh ung thư là vị trí promoter) hay không. Ngoài ra, đối với các bệnh nhân trong quá trình điều trị mà HBV-DNA đột nhiên dương tính trở lại và HBeAg âm tính mà anti-HBeAg dương tính thì cũng phải được chỉ định làm đột biến precore để xem có phải đột biến xảy ra trên bệnh nhân đang điều trị này hay không?. Nếu có đột biến precore thì cũng không thể ngưng điều trị trên bệnh nhân này mà họ phải được điều trị suốt đời.

Chắc là tôi phải được điều trị bằng thuốc kháng virus một thời gian dài rồi!!...Các thuốc này có hiệu quả không và có thể bị virus đề kháng không? và làm thế nào để biết được thuốc tôi đang sử dụng là bị đề kháng?

Do phải điều trị thuốc kháng virus một thời gian dài nên virus có cơ hội tiếp xúc với thuốc kháng virus và như vậy là chúng có cơ hội bị đột biến đề kháng thuốc. Do vậy nếu trong thời gian điều trị, xét nghiệm theo dõi virus là HBV-DNA bỗng nhiên bị trở lại

dương tính và lượng HBV-DNA bị tăng lên dần thì đây chính là dấu hiệu cho biết virus có khả năng kháng lại thuốc đang điều trị. Lúc này cần phải xét nghiệm để phát hiện xem thuốc có bị virus đề kháng không?. Hiện nay công ty Nam Khoa đã phát triển được phương pháp giải trình tự một đoạn gen 550bases ở vùng gene preS của virus để có thể phát hiện được rất nhiều điểm đột biến gây nên tình trạng virus viêm gan B đề kháng được lamivudine và adefovir là hai thuốc kháng virus hiện đang được sử dụng tại Việt Nam. Kỹ thuật này vượt trội hơn nhiều kỹ thuật khác là nhờ khả năng phát hiện được nhiều vị trí đột biến do vậy sẽ cung cấp cho bác sĩ nhiều thông tin hơn để cho quyết định chính xác hơn là liệu có nên thay đổi thuốc không.

Nói tóm lại, tỷ lệ nhiễm virus viêm gan B tại Việt Nam trong dân số khá cao (>15%). Tuy nhiên không phải ai bị nhiễm virus viêm gan B đều cần phải được điều trị mà cần phải phân biệt họ có phải là người lành mang virus hay là người đang bị viêm gan virus B mạn tính. Bác sĩ chỉ nên điều trị cho người đã xác định là bị viêm gan virus B mạn tính mà thôi, và xét nghiệm sinh học phân tử rất cần thiết để chỉ định trên bệnh nhân là xét nghiệm phát hiện và định lượng HBV-DNA. Khi đã điều trị cho bệnh nhân thì ngoài xét nghiệm định lượng HBV-DNA để theo dõi hiệu quả điều trị thì các xét nghiệm sinh học phân tử khác cũng rất cần thiết phải chỉ định trên bệnh nhân, ví dụ xét nghiệm phát hiện đột biến precore cũng rất cần phải cho trên bệnh nhân HBeAg âm tính, anti-HBeAb dương tính mà HBV-DNA vẫn còn dương tính để xác định bệnh nhân có bị đột biến precore hay không mà quyết định xem liệu có phải điều trị suốt đời cho bệnh nhân không. Ngoài ra xét nghiệm phát hiện các đột biến gây ra kháng thuốc cũng rất cần thiết phải được chỉ định nếu trong quá trình điều trị bỗng nhiên HBV-DNA của bệnh nhân dương tính với số lượng tăng lên trở lại.

Tôi đang được điều trị bằng thuốc kháng virus cách đây 3 tháng, cách đây vài ngày tôi có làm xét nghiệm HBV-DNA kết quả âm tính, nhưng tại sao HbeAg của tôi vẫn còn [+] với trị số OD khá cao. Tôi nghe nói là HbeAg [+] thì HBV-DNA phải [+], sao trong trường hợp này của tôi HbeAg [+] mà HBV-DNA lại [-]?

Đúng như vậy, HbeAg [+] thì chứng minh là HBV trong cơ thể bệnh nhân đang hoạt động và đang nhân bản, chính vì vậy mà sẽ có virus hoàn chỉnh trong máu, sẽ có HBV-DNA [+]. Tuy nhiên trong trường hợp của bạn, đang được điều trị thuốc kháng virus (hiện nay có khá nhiều thuốc kháng virus dành cho nhiễm HBV rất hiệu quả), nên virus

bị ngăn chặn không cho nhân bản, chính vì vậy HBV-DNA biến mất khỏi máu sớm hơn là HbeAg, sẽ biến mất khỏi máu chậm hơn. Chính vì HBV-DNA là một dấu ấn rất tốt để theo dõi được đáp ứng khá sớm của điều trị nên hiện nay các nhà y học thống nhất sử dụng HBV-DNA làm chỉ số theo dõi đáp ứng điều trị hơn là HbeAg.

Viêm gan siêu vi C

Tôi đi thử máu có kết quả dương tính anti-HCV, vậy là có bị gì không?

Anti-HCV là kháng thể đặc hiệu virus viêm gan C (HCV). Bạn dương tính anti-HCV tức là trong máu của bạn có kháng thể đặc hiệu HCV và có nghĩa là bạn có thể đang bị nhiễm virus viêm gan C hay là đã bị nhiễm virus này nhưng nay đã khỏi.

Như vậy thì làm thế nào để có thể biết được tôi đang bị nhiễm HCV?

Một người bị nhiễm virus viêm gan C thì thường hệ miễn dịch của người đó ít khi tạo được miễn dịch bảo vệ chống được virus, do vậy sự xuất hiện kháng thể đặc hiệu HCV (anti-HCV) không có ý nghĩa là cơ thể đã có được miễn dịch bảo vệ loại trừ được virus. Chỉ có một số ít may mắn sẽ khỏi được nhờ các hệ thống chống đỡ không đặc hiệu khác của cơ thể loại trừ được virus, còn lại trong đa số các trường hợp, virus vẫn tồn tại, nhân bản trong tế bào gan và phóng thích virus vào trong máu. Do vậy để có thể xác định một người có đang bị nhiễm HCV, bác sĩ phải chỉ định làm xét nghiệm phát hiện HCV-RNA, tức là tìm thành phần acid nhân của virus viêm gan C trong máu. Nếu xét nghiệm này cho kết quả HCV-RNA dương tính thì có nghĩa là trong máu của bệnh nhân có hiện diện virus viêm gan C, tức là bệnh nhân đang bị nhiễm HCV.

Xét nghiệm HCV-RNA là xét nghiệm thuộc loại gì, làm sao thực hiện được?

Mặc dù được khoa học lôi ra ánh sáng từ năm 1985 nhưng cho đến ngày hôm nay vẫn chưa có ai nhìn thấy được virus viêm gan C qua kính hiển vi điện tử hay nuôi cấy được virus. Tuy nhiên nhờ biết rõ được bộ gene của virus nên người ta đã có thể giả định được cấu tạo của virus. Có thể tóm tắt đây là một loại virus có lõi, hay gọi nôm na là nhân của virus có cấu tạo là RNA. Xét nghiệm phát hiện HCV-RNA chính là xét nghiệm tìm trong máu của bệnh nhân sự hiện diện RNA của virus. Đây là một xét nghiệm sinh học phân tử, thông thường được thực hiện bằng kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) là kỹ thuật nhân bản DNA trong ống nghiệm qua các chu kỳ nhiệt độ. Để làm xét nghiệm, máu của bệnh nhân sau khi lấy sẽ được tách huyết thanh hay huyết tương và sau đó phòng thí

nghiệm sẽ tách chiết RNA của virus trong các mẫu huyết tương và huyết thanh này để đưa vào một ống nghiệm. Trong ống nghiệm này, RNA của virus sẽ được phiên mã ngược thành DNA bổ sung, gọi là cDNA, rồi các cDNA sẽ được nhân bản thành hàng tỷ bản sao để phát hiện. Nhờ nhân bản lên từ một bản gốc thành hàng tỷ bản sao rồi mới phát hiện, nên xét nghiệm có độ nhạy cảm cực kỳ cao đủ sức để phát hiện RNA của virus có trong mẫu thử dù với số lượng rất thấp. Ngoài ra, ngày nay người ta còn có thể đếm được số lượng bản gốc RNA của HCV có từ ban đầu trong mẫu thử là bao nhiêu dựa vào kỹ thuật PCR định lượng, được gọi là qPCR hay real-time PCR. Về mặt nguyên tắc qPCR cũng giống như PCR nhưng có thêm một tính năng nữa giúp có thể định lượng được số lượng bản gốc ban đầu có trong mẫu thử nhờ một hệ thống quang học có khả năng phát hiện được phản ứng xảy ra trong ống nghiệm trong khi nhân bản xảy ra.

Tôi biết được là hiện nay có nhiều nơi làm xét nghiệm phát hiện và định lượng HCV-RNA nhưng kết quả có khi lại khác nhau dù thử trên cùng một bệnh nhân!! Do vậy làm thế nào để tin tưởng được một kết quả xét nghiệm HCV-RNA vì đây là một xét nghiệm mà chi phí bệnh nhân phải trả cũng không phải là ít?

Đúng là như vậy. Xét nghiệm HCV-RNA là xét nghiệm dựa trên kỹ thuật PCR là một kỹ thuật hoàn toàn mở nên người làm xét nghiệm có thể tự pha thuốc thử để làm xét nghiệm mà không phải bị lệ thuộc và các kit xét nghiệm mua từ các hãng nước ngoài rất đắt tiền. Tuy nhiên vì là hệ thống mở nên muốn kết quả xét nghiệm được chính xác thì người làm xét nghiệm phải thực hiện đủ các chứng để kiểm soát không có các sơ sót xảy ra trong quá trình làm xét nghiệm và các chứng này phải hiển thị trên kết quả xét nghiệm. Với một xét nghiệm phát hiện HCV-RNA, kết quả phải hiển thị: (1) một chứng dương để chứng minh khâu khuếch đại trong quá trình xét nghiệm đủ nhạy cảm, (2) một chứng âm để chứng minh quá trình thao tác xét nghiệm không bị ngoại nhiễm gây ra kết quả dương tính giả, (3) một chứng nội tại trong chứng âm để chứng minh khâu tách chiết RNA từ mẫu thử đạt độ nhạy, (4) và đồng thời mẫu âm tính phải có chứng nội tại để chứng minh âm tính là thật sự âm tính chứ không phải là âm tính giả. Đối với xét nghiệm định lượng HCV-RNA thì trong kết quả phải hiển thị được đường biểu diễn chuẩn để chứng minh thao tác định lượng đạt chuẩn thông qua hệ số tương quan (R) của các mẫu chuẩn phải đạt trên 0.990 và hiệu quả phản ứng (E) phải đạt 90-105% và đồng thời chứng minh kết quả định lượng là được tính toán từ kết quả của các mẫu chuẩn được chạy song hành

cùng với mẫu thử chứ không phải là được tính toán từ một công thức có sẵn. Ngoài ra, nếu muốn kết luận một kết quả âm tính thì trong kết quả định lượng phải hiển thị được mẫu đó dương tính được với chứng nội tại để đảm bảo âm tính này là âm tính thật sự chứ không phải âm tính giả vì phản ứng khuếch đại bị ức chế.

Nếu kết quả xét nghiệm HCV-RNA của tôi dương tính thì tôi có cần thiết phải được điều trị đặc hiệu không? Và nếu cần phải được điều trị đặc hiệu thì thời gian phải điều trị là bao lâu?

Một người sau khi nhiễm virus viêm gan C thì thường không có triệu chứng hay chỉ có một ít triệu chứng không đặc hiệu và mơ hồ. Tuy nhiên virus sẽ âm thầm xâm nhập và nhân bản trong tế bào gan và quá trình này diễn tiến rất lâu có thể trên hàng chục năm dẫn đến tế bào gan bị tàn phá dần gây hậu quả viêm gan mạn tính rồi đi đến xơ gan, và có thể từ xơ gan dẫn đến ung thư gan. Nguy cơ của người đang bị nhiễm HCV dẫn đến viêm gan mạn tính rồi xơ gan rồi đến ung thư gan là khá cao (có thể 17-20%). Do vậy, khác với nhiễm virus viêm gan B cần phải xác định là đang bị viêm gan B mạn tính (ALT tăng cao hay có bất thường tổ chức gan phát hiện qua sinh thiết hay fibroscan) mới cần phải điều trị đặc hiệu; một người bị xác định là đang nhiễm virus viêm gan thì nên được chỉ định điều trị đặc hiệu mà không cần phải có các dấu hiệu chứng minh gan đã bị thương tổn vì viêm gan mạn tính. Do vậy trong trường hợp của bạn thì nên được điều trị đặc hiệu chứ không cần phải đợi đến lúc men gan ALT cao gấp đôi bình thường hay sinh thiết hoặc fibroscan thấy có thương tổn tế bào gan mới điều trị. Tuy nhiên trước khi được điều trị, bạn phải nhất thiết được chỉ định làm hai xét nghiệm: định lượng HCV-RNA và định genotype HCV để bác sĩ có thể theo dõi được hiệu quả điều trị cũng như quyết định được thời gian điều trị đặc hiệu trên bạn. Để có thể xác định điều trị đặc hiệu mà bác sĩ cho chỉ định trên bạn là có hiệu quả, sau 3 tháng điều trị bác sĩ sẽ phải chỉ định xét nghiệm định lượng HCV-RNA một lần nữa. Nếu kết quả định lượng cho thấy lượng virus không giảm hay giảm dưới 100 lần thì bác sĩ phải cân nhắc thay đổi phương thức điều trị hay có thể phải ngưng điều trị vì bệnh không đáp ứng với điều trị đặc hiệu. Nếu kết quả định lượng cho thấy lượng virus giảm hơn 100 lần (chuyên môn gọi là giảm hơn 2 log) thì bác sĩ có thể đánh giá là phát đồ điều trị đặc hiệu trên bạn là hiệu quả. Lúc này bác sĩ sẽ phải quyết định thời gian điều trị cho bạn là bao lâu, quyết định này rất tùy thuộc vào genotype HCV mà bạn bị nhiễm là loại nào, và thông tin này bác sĩ sẽ lấy từ lần xét nghiệm đầu tiên đã

chỉ định trước khi quyết định điều trị cho bạn. Nếu không may mà bạn bị nhiễm genotype HCV type 1 thì bác sĩ sẽ phải điều trị cho bạn thêm 9 tháng nữa tức là tổng thời gian điều trị phải 12 tháng. Nếu bạn bị nhiễm genotype HCV không phải 1, mà là 2 hay 6 (tại Việt Nam, rất ít khi phát hiện được genotype HCV 3, 4, và 5) thì bác sĩ chỉ cần điều trị cho bạn thêm 3 tháng nữa tức là tổng thời gian điều trị 6 tháng. Trước khi quyết định chấm dứt điều trị cho bạn thì bác sĩ sẽ phải chỉ định xét nghiệm phát hiện HCV-RNA xem có còn trong máu của bạn hay không. Nếu xét nghiệm này vẫn cho kết quả dương tính thì bác sĩ vẫn chưa thể ngưng điều trị mà phải tiếp tục thêm 3 tháng nữa cho đến khi kết quả trở nên âm tính. Sau khi chấm dứt điều trị, bác sĩ cũng sẽ thường xuyên theo dõi xem bạn có bị tái phát hay tái nhiễm không bằng xét nghiệm phát hiện HCV-RNA trong máu của bạn mỗi 3 tháng một lần. Bất cứ lúc nào xét nghiệm trở nên dương tính thì bác sĩ sẽ phải xem như bạn bị tái phát hay tái nhiễm và phải trở lại điều trị đặc hiệu như ban đầu.

Genotype là gì? Xét nghiệm xác định genotype HCV là xét nghiệm như thế nào? Làm thế nào thực hiện được và giá thành có cao không?

Genotype là các kiểu khác biệt của vi sinh vật cùng loài dựa vào sự khác biệt các dấu ấn trên bộ gene của vi sinh vật đó. Cho đến hiện nay y học đã xác định là HCV có thể được phân làm 11 genotype là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 và 11. Với từng genotype, HCV lại được phân thành các dưới type như 1a, 1b, 1c 2a, 2b, 2c 3a, 3b 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 5a, 6a, 7a, 7b, 8a, 8b, 9a, 10a, và 11a. Xét nghiệm xác định genotype HCV là một loại xét nghiệm sinh học phân tử. Tại Việt Nam, công ty Nam Khoa đã phát triển kỹ thuật vừa định lượng HCV-RNA vừa xác định được genotype của HCV. Nguyên tắc của kỹ thuật này là định lượng HCV-RNA trước bằng kỹ thuật qPCR rồi sau đó giải trình tự sản phẩm qPCR này để xác định genotype HCV bằng cách so chuỗi với thư viện genotype HCV của NCBI. Nhờ phát triển được kỹ thuật này, với chỉ định vừa định genotype HCV, vừa định lượng HCV-RNA mà bác sĩ phải cho trên bệnh nhân trước khi quyết định điều trị đặc hiệu, bệnh nhân chỉ phải trả chi phí cho xét nghiệm xác định genotype HCV mà vẫn có được kết quả định lượng HCV-RNA. Ngoài ra, kỹ thuật định genotype do công ty Nam Khoa phát triển còn có lợi thế hơn các kỹ thuật khác hiện đang được sử dụng trong và ngoài nước là kết quả genotype HCV luôn phân biệt đến dưới type chứ không bao giờ chỉ có kết quả đến type hay không thể phân biệt các dưới type với nhau. *Hiện một số cơ sở xét nghiệm trong nước có triển khai xét nghiệm định kiểu gene HCV bằng kỹ thuật*

real-time PCR mà theo báo cáo của các tác giả thì xét nghiệm này phân biệt được đồng nhiễm các genotype. Tuy nhiên theo chúng tôi thì nhận định này thật sự quá vội vàng và thiếu luận cứ khoa học vì đồng nhiễm rất hiếm xảy ra (kinh nghiệm của chúng tôi là không quá 1 cas trong 1000 cas) trong khi đó xét nghiệm này lại cho kết quả đồng nhiễm đến 2 cas trong 10 cas thử nghiệm. Điều này chứng tỏ kỹ thuật chưa đạt nhưng đã vội vàng đưa ra áp dụng cho chẩn đoán, và như vậy thì thật là nguy hiểm vì sẽ làm lệch hướng điều trị của Bác Sĩ.

Nói tóm lại, tỷ lệ nhiễm virus viêm gan C, qua xét nghiệm anti-HCV trong máu dương tính, tại Việt Nam trong dân số là thuộc nhóm các quốc gia có tỷ lệ nhiễm cao trên thế giới (2-8%). Nếu phát hiện anti-HCV bị dương tính, bạn nên đi làm xét nghiệm phát hiện HCV-RNA để xem có thật sự đang bị nhiễm HCV hay không. Nếu dương tính, thì bạn nên được điều trị đặc hiệu vì nguy cơ dẫn đến xơ gan rồi ung thư gan trên người nhiễm HCV là khá cao, và hơn nữa, y học hiện nay có thể chữa lành người bị nhiễm HCV với tỷ lệ thành công từ 60% đến 100%. Tuy nhiên trước khi được chỉ định điều trị đặc hiệu, bạn cần phải được chỉ định làm xét nghiệm định lượng HCV-RNA và định kiểu gen HCV để căn cứ vào đó mà bác sĩ có thể đánh giá được hiệu quả điều trị và quyết định được thời gian điều trị. Trước khi chấm dứt điều trị, bạn nhất thiết phải được chỉ định làm xét nghiệm phát hiện HCV-RNA để xem máu đã hết sạch virus không, và sau khi chấm dứt điều trị xét nghiệm này cũng phải được thường xuyên chỉ định thực hiện trên bạn mỗi 3 tháng một lần để theo dõi bệnh có tái phát không hay bạn có bị tái nhiễm không.