



BỆNH VIỆN LAO  
VÀ BỆNH PHỔI KHÁNH HÒA  
KHOA DƯỢC - CLS – CNK

Mã số: **XN-QTXNTRUENAT**  
Lần ban hành: **01**  
Ngày ban hành: /8/2022  
Số trang: 11

## QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM TRUENAT MTB PHÁT HIỆN BỆNH LÃO VÀ KHÁNG RIFAMPICIN

(Ban hành kèm theo Quyết định số 305 /QĐ-BVL&BP ngày 03 / 8 /2022  
của Giám đốc Bệnh viện Lao và Bệnh phổi Khánh Hòa)

### THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

Lần sửa đổi	Vị trí sửa đổi	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi	Người sửa đổi
1	Trang..... Dòng.....			
2	Trang..... Dòng.....			
3	Trang..... Dòng.....			
4	Trang..... Dòng.....			
5	Trang..... Dòng.....			

### *Tài liệu nội bộ*

#### 1. Mục đích

Mô tả các bước kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán bệnh nhân lao và kháng Rifampicin bằng bộ kit Truenat MTB, Truenat MTB plus và Truenat MTB-RIF.

#### 2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này được áp dụng cho bộ phận xét nghiệm của Bệnh viện Lao và Bệnh phổi Khánh Hòa.

### **3. Trách nhiệm**

#### **a) Khoa lâm sàng và phòng khám**

- Ghi Phiếu chỉ định xét nghiệm;
- Hướng dẫn bệnh nhân lấy mẫu bệnh phẩm đạt chất lượng;
- Bàn giao mẫu bệnh phẩm cho bộ phận xét nghiệm.

#### **b) Bộ phận xét nghiệm**

- Nhân viên thực hiện: Đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận đào tạo quy trình thực hiện xét nghiệm;
- Kỹ thuật viên trưởng chịu trách nhiệm giám sát;
- Trưởng khoa có trách nhiệm kiểm soát quy trình này.

### **4. Định nghĩa và các chữ viết tắt**

#### **a) Định nghĩa**

*Truenat là một nền tảng dựa trên công nghệ Micro PCR định lượng thời gian thực. Từ đó cho phép chẩn đoán sớm và chính xác bệnh lao và kháng Rifampicin*

#### **b) Các chữ viết tắt**

- ARN : Axít Ribonucleic;
- ADN: Axit Deoxyribonucleic;
- PCR: (Polymerase Chain Reaction) Phản ứng chuỗi trùng hợp;
- RIF.RMP: Rifampicin;
- IPC: (Internal Positive Control) Chứng nội dương;
- RRDR: (Rifampicin Resistance Determining Region) Vùng xác định tính kháng Rifampicin.

### **5. Nguyên lý**

Xét nghiệm MTB định danh và kháng RMP Truenat dựa trên phản ứng khuếch đại axit nucleic sử dụng chip và hệ thống máy Trueprep và Truelab tự động và có tính di động cao..

### **6. Trang thiết bị và vật liệu**

**a) Trang thiết bị**

- Máy Trueprep AUTO;
- Máy Truelab (Uno, Duo hoặc Quattro);
- Đồng hồ bấm giờ;
- Máy in micro-PCR (không bắt buộc);
- Tủ lạnh (tùy điều kiện cụ thể).

**b) Vật liệu**

**Dụng cụ:**

- Thùng rác thải vật liệu sinh học có nắp đậy;
- Giấy thấm/khăn;
- Giá cầm tuýp;
- Găng tay không bột tan;
- Bút dạ;
- Bô can.

**Hóa chất, sinh phẩm:**

- Bộ xử lý bệnh phẩm Truelab<sup>®</sup> Auto MTB:
- + Pipet chia vạch (1ml);
- + Lọ đệm ly giải (2,5ml)-lysis buffer;
- + Lọ đệm hóa lỏng - Liquefaction buffer.
- Bộ cartridge tách chiết đa năng Truelab<sup>®</sup> Auto v2:

+ Sample Prep Kit:

Bộ hóa chất tách chiết;

Pipet 3ml;

Túi Cartridge chứa: cartridge, tuýp thu dịch chiết, pipet, nhãn.

- Gói chip nhân gene cho phát hiện MTB Truenat hoặc Truenat Plus gồm:

+ Chip;

+ Tuýp đựng hóa chất;

+ Đầu côn.

- Gói chip nhân gene cho phát hiện RIF (Truenat MTB-RIF Dx) gồm:

+ Chp;

+ Tuýp đựng hóa chất;

Đầu côn.

- Cồn 70%.

- Dung dịch sát khuẩn.

**c) Bệnh phẩm**

- *Bệnh phẩm* đờm;
- Thể tích: 1- 4ml;
- Nhảy mũi, không lẫn máu, thức ăn hoặc dị vật.

**7. An toàn**

- Bảo hộ cá nhân thích hợp theo qui định.
- An toàn về thao tác kĩ thuật tránh lây nhiễm và nhiễm chéo: thao tác nhẹ nhàng khi mở hoặc đậy nắp tuýp bệnh phẩm, mỗi thời điểm chỉ mở nắp một bệnh phẩm.
- An toàn về hóa chất và về điện.
- Tuân thủ an toàn phòng xét nghiệm.

**8. Các bước tiến hành**

**a) Chuẩn bị**

- Khởi động tủ an toàn sinh học ít nhất 15 phút trước khi thực hiện.
- Sắp xếp các dụng cụ cần thiết vào tủ an toàn sinh học.
- Trước khi xử lý mẫu, cần kiểm tra: Nếu có hiện tượng rò rỉ do đậy nắp chưa chặt, vặn chặt nắp và lau sạch phía ngoài tuýp bằng dung dịch sát khuẩn (lưu ý không lau mất thông tin ghi trên thân tuýp).

**b) Xử lý mẫu bệnh phẩm**

- Ghi số xét nghiệm, vào sổ/ máy tính;
- Cốc chứa 1 - 4ml đờm được dán nhãn có thông tin chi tiết của bệnh nhân;
- Thêm 2 giọt đệm hóa lỏng vào cốc đựng đờm;
- Đậy nắp và lắc tròn khoảng 10 vòng để trộn đều;
- Ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng. Nếu mẫu không hút được sau 10 phút, ủ thêm 5 phút nữa và lắc 2 phút một lần;
- Dùng pipet 1ml hút 0,5ml đờm đã hóa lỏng vào lọ đệm ly giải;
- thêm 2 giọt đệm hóa lỏng vào lọ đệm ly giải, lắc tròn để trộn đều và ủ trong 3-5 phút.

### **c) Tách chiết ADN**

- Lấy Cartridge ra khỏi túi, dán nhãn và đặt lên giá đỡ. Giữ ống thu mẫu và pipet trong túi để sử dụng sau;
- Dùng loại pipet 3ml hút toàn bộ mẫu trong lọ đệm ly giải cho vào khoang chứa mẫu (nắp màu đen) của Cartridge.;
- Bật thiết bị Trueprep<sup>®</sup> AUTO v2. Nhấn nút mở ngăn Cartridge ra;
- Đặt Cartridge vào ngăn đúng chiều (nắp màu đen quay sang phải) và đẩy nhẹ để đóng ngăn chứa cartridge. Sau đó, nhấn nút “Start” để máy bắt đầu quá trình tách chiết;
- Kết thúc quá trình tách chiết ADN (20 phút) máy sẽ phát tiếng bíp và ngăn chứa Cartridge sẽ tự động đẩy ra;
- Nhẹ nhàng kéo ngăn chứa Cartridge ra, tháo Cartridge và đặt lên giá đỡ;

Chú ý: Lấy Cartridge khỏi khoang máy sau khi hoàn thành tách chiết tránh nhiệt độ cao của máy làm hỏng ADN thu được.

- Lấy tuýp thu mẫu (ECT) và ghi nhãn gồm tên và số xét nghiệm lên nắp và thân tuýp. Cần thận dùng pipet hút toàn bộ dịch chiết trong khoang chứa cho vào tuýp ECT đi kèm Cartridge.

### **d) Thực hiện xét nghiệm PCR**

- Bật máy Truelab bằng cách nhấn vào nút màu đỏ ở góc sau bên phải trong 2 giây. Đèn LED sẽ phát sáng màu xanh lục. Chờ 30-50 giây để máy khởi động;
- Chọn Username và nhập mật khẩu. Nhấn “Sign in” để đăng nhập;
- Chọn thư mục xét nghiệm “MTB” hoặc “MTB plus” tương ứng với loại chip sử dụng;
- Để xác nhận lựa chọn nhấn vào “PROCEED” và nhập thông tin bệnh nhân (nơi chỉ định, ID bệnh nhân, giới tính và tuổi);
- Chọn loại bệnh phẩm (đờm);
- Nhấn “Start test” trên màn hình, khay chip mở ra. Màn hình xuất hiện “Please Load Sample” yêu cầu cho mẫu vào. Lưu ý không nhấn “Yes” cho đến khi hoàn tất việc tra mẫu vào chip;
- Mở túi đựng chip Truenat<sup>TM</sup> MTB hoặc Truenat<sup>TM</sup> MTB Plus. Kiểm tra túi hút ẩm màu cam và xác nhận vẫn còn màu cam;
- Nhẹ nhàng lấy chip ra và không chạm vào giếng màu trắng, đặt chip lên khay đựng chip cân chỉnh đúng vào khe;
- Lấy tuýp chứa hóa chất PCR (kèm theo túi chip), đặt vào giá (kiểm tra khối màu trắng ở đáy tuýp);
- Gắn đầu côn 6µl đã được cung cấp trong túi chip vào pipet;
- Hút 6µl dịch chiết ADN vào túi PCR;

- Chờ tuyp PCR lắng trong 30 giây để được dung dịch trong;

**Lưu ý: Không chạm đầu côn vào hóa chất khi nhả mẫu tránh hóa chất bị hao hụt do dính vào đầu côn. Không trộn bằng cách gõ nhẹ, lắc hoặc hút trộn bằng pipet. Không vứt bỏ đầu côn.**

- Dùng lại đầu côn hút 6μl dịch trong tuyp PCR nhỏ vào giếng phản ứng màu trắng của chip;

**Lưu ý: Tránh tràn đổ dịch trong ra ngoài giếng phản ứng màu trắng. Hủy bỏ đầu côn và tuyp PCR>**

- Nhấn vào “Yes” trên màn hình thiết bị để bắt đầu xét nghiệm. Quá trình PCR sẽ hoàn thành sau 35 phút;

- Nhấn vào nút “Open/Close Tray” để khay đựng chip ra và hủy bỏ chip đã sử dụng ngay sau phản ứng;

**Lưu ý: nếu phát hiện thấy MTB, dùng chip Truenat MTB RIF Dx để xét nghiệm tiếp kháng RIF trên cùng dịch chiết ADN. Xét nghiệm mất 55 phút.**

- Tùy chọn: Nhấn “Print” để in kết quả bằng máy Truelab® microPCR printer.

## 9. Diễn giải kết quả

Hai đường cong khuếch đại được hiển thị trên màn hình thiết bị Truelab để thực hiện quá trình xét nghiệm. Cả đường cong trình tự đích và đường cong chứng nội dương (IPC) sẽ đi theo hàm số mũ. Giá trị Ct sẽ phụ thuộc vào số lượng bộ Genomes vi khuẩn có trong mẫu. Khi mẫu không có vi khuẩn lao, đường cong của trình tự đích sẽ vẫn nằm ngang trong suốt thời gian xét nghiệm và đường cong IPC sẽ có dạng hàm mũ. Trong trường hợp đường cong IPC vẫn nằm ngang khi mẫu vẫn âm, xét nghiệm được xem là INVALID;

Với kit Truenat MTB, kết thúc xét nghiệm, màn hình kết quả sẽ hiển thị “DETECTED” cho kết quả dương tính hoặc “NOT DETECTED” cho kết quả âm tính. Màn hình kết quả cũng hiển thị giá trị Ct giá trị định lượng (CFU/ML) cho mẫu dương tính;

Với kit Truenat MTB plus, kết thúc xét nghiệm, màn hình kết quả sẽ hiển thị “DETECTED” cho kết quả dương tính hoặc “NOT DETECTED” cho kết quả âm tính. Màn hình kết quả cũng sẽ hiển thị mức độ của MTB gồm “HIGH” (Cao); “MEDIUM” (Trung bình); “LOW” (Thấp) hoặc “VERY LOW” (Rất thấp) cho mẫu dương tính;

Màn hình kết quả hiển thị giá trị của xét nghiệm là “VALID”(Giá trị) hoặc “INVALID” (Không giá trị). Các mẫu Invalid cần được lặp lại trên mẫu bệnh phẩm từ bước chuẩn bị mẫu.

**Lưu ý:** IPC cũng được khuếch đại ở hầu hết các trường hợp dương tính. Ở một số mẫu có tải lượng vi khuẩn cao, IPC có thể không được khuếch đại. Tuy vậy, xét nghiệm vẫn được xem là xác định.

Kit xét nghiệm Truenat MTB-RIF Dx sử dụng nền tảng là kỹ thuật PCR realtime và kỹ thuật đầu dò nóng chảy để tìm giá trị nhiệt độ nóng chảy Tm của đầu dò. Kết

thức xét nghiệm, màn hình kết quả sẽ thể hiện “RIF RESISTANCE DETECTED” (KHáng RIF) nếu phát hiện đột biến hoặc “RIF RESISTANCE NOT DETECTED” (Không kháng RIF) nếu không phát hiện đột biến. “INDETERMINATE” (Không xác định) hoặc “ERROR” (Lỗi) sẽ xuất hiện khi giá trị Tm thu được không đáp ứng các yêu cầu tính toán về tính kháng

#### 10. Trả kết quả trên phiếu xét nghiệm với chip Truenat MTB

Kết quả trên máy	Trả kết quả trên phiếu xét nghiệm
MTB not detected	Đánh “X” cột “Không có MTB” ở nhóm cột “Vi khuẩn Lao”
MTB detected	Đánh “X” cột “MTB” ở nhóm cột “Vi khuẩn Lao”
Error/Invalid/No result	Đánh “X” cột “Không xác định” ở nhóm cột “Vi khuẩn Lao”

#### 11. Trả kết quả trên phiếu xét nghiệm với chip Truenat MTB plus

Kết quả trên máy	Trả kết quả trên phiếu xét nghiệm
MTB not detected	Đánh “X” cột “Không có MTB” ở nhóm cột “Vi khuẩn Lao”
MTB detected very low/low/medium/high	Ghi rõ mức độ vi khuẩn lao vào cột “MTB” ở nhóm cột “vi khuẩn lao” với “Very low” ghi “Rất thấp”, “Low” ghi “Thấp”, “Medium” ghi “Trung bình”, “High” ghi “Cao”
Error/Invalid/No result	Đánh “X” cột “Không xác định” ở nhóm cột “Vi khuẩn Lao”

#### 12. Trả kết quả trên phiếu xét nghiệm với chip Truenat RIF Dx

Kết quả trên máy	Trả kết quả trên phiếu xét nghiệm
RIF not detected	Đánh “X” cột “Không kháng ” ở nhóm cột “Tính kháng RMP”
MTB detected	Đánh “X” cột “MTB” ở nhóm cột “Vi khuẩn Lao”
RIF indeterminate/Error	Đánh “X” cột “Không xác định” ở nhóm cột “Tính kháng RMP”

#### 13. Kiểm tra chất lượng lô sinh phẩm

- Nhiệt độ bảo quản của bộ xử lý mẫu và bộ chuẩn bị là từ 2°C-30°C;
- Nhiệt độ bảo quản của chip xử lý là từ 2°C-30°C. Có thể bảo quản lên đến 6 tháng ở nhiệt độ tối đa 40°C, và 1 tháng ở nhiệt độ tối đa 45°C;
- Để đảm bảo thiết bị Trulab hoạt động chính xác, chạy chứng âm và chứng dương định kỳ và trong các trường hợp sau
  - + Khi có lô hàng mới về;
  - + Khi bắt đầu sử dụng lô mới;

- + Khi nhiệt độ khu vực bảo quản vượt ngưỡng 2°C-30°C;
- + Trước khi người mới thực hiện xét nghiệm trên bệnh phẩm.

#### **14. Giám sát thường xuyên**

- Nhiệt độ phòng;
- Nhiệt độ tủ lạnh bảo quản hóa chất và bệnh phẩm.

#### **15. Báo cáo kết quả**

- Bước 1: Báo kết quả cho người được phân công.
- Bước 2: Người được phân công báo kết quả cho Trưởng xét nghiệm, trưởng khoa xét nghiệm sẽ thông báo kết quả đến Trưởng khoa lâm sàng cho chỉ định xét nghiệm, Bác sĩ điều trị.
- Bước 3: Người thực hiện xét nghiệm: vào đầy đủ nội dung thông tin trong sổ xét nghiệm, hoàn thiện phiếu trả kết quả, ký Trưởng khoa.
- Bước 4: Trả kết quả về khoa lâm sàng.

#### **16. Thời gian trả kết quả**

Kết quả được trả trong vòng 1 giờ kể từ khi nhận mẫu đối với mẫu bệnh phẩm có kết quả âm tính với MTB. Trả kết quả sau 2 giờ đối với mẫu bệnh phẩm có kết quả dương tính với MTB, vì phải chạy thêm kháng RIF.

#### **17. Ghi sổ xét nghiệm**

- Sổ xét nghiệm trong sổ tính từ đầu năm;
- Cập nhật kết quả ngay sau khi xét nghiệm hoàn thành;
- Cần có phương án sao lưu nếu sử dụng sổ điện tử.

#### **18. Xử lý sự cố**

- Lỗi trueprep

Lỗi 1: Lỗi van Cartridge (E1: Cartridge valce error)

- + Van cartridge bị hỏng;
- + Giải pháp: lắp lại từ bước xử lý bệnh phẩm với Lysis buffer.

Lỗi 2: Lỗi Cartridge (E2: Cartridge Error)

- + Lỗi giảm áp suất;
- + Giải pháp: lắp lại từ bước xử lý bệnh phẩm với Lysis buffer.

Lỗi 3: Cartridge bị tắc (E3: Cartridge Clogged)

- + Mẫu bệnh phẩm quá đặc hoặc lỗi Cartridge hoặc tác hệ thống bơm hút;
- + Giải pháp: Đảm bảo mẫu được hóa lỏng và có thể hút được bằng pipet. Lắp lại từ bước xử lý bệnh phẩm với Lysis buffer hoặc từ bước hóa lỏng với Liquefaction bufer nếu cần.

Lỗi 6: không nạp Cartridge (E6: Cartridge Not Loaded)



+ Không phát hiện thấy Cartridge;

+ Giải pháp: Đảm bảo Cartridge được đặt đúng chiều.

Lỗi 9: Lỗi đặt lại thẻ (Reset Card Read Error)

+ Sự cố đặt lại thẻ hoặc đầu đọc mã QR;

+ Giải pháp: Liên hệ với bộ phận hỗ trợ Molbio.

Lỗi 10: Thẻ đặt lại không phù hợp (Invalid Reset Card)

+ Sự cố đặt lại thẻ hoặc đầu đọc mã QR;

+ Giải pháp: Liên hệ với bộ phận hỗ trợ Molbio.

Lỗi 11: Lỗi RTD-L (RTD-L Error)

+ Tấm làm nóng thiết bị không hoạt động được;

+ Giải pháp: Liên hệ với bộ phận hỗ trợ Molbio.

Lỗi 12: Lỗi RTD-E (RTD-E Error)

+ Tấm làm nóng thiết bị không hoạt động được;

+ Giải pháp: Liên hệ với bộ phận hỗ trợ Molbio.

- Lỗi Truelab

+ Lỗi1: Lỗi chu trình nhiệt (Thermal cycling error);

+ Lỗi 2: xét nghiệm đã dừng theo cách thủ công (test stopped manually);

+ Lỗi 3: Cấu hình quang học không đúng (Incorrect Optical Profile);

+ Lỗi 4: Lỗi thời gian chạy (Runtime Error);

+ Lỗi 5: Lỗi kiểm tra đầu dò (Probe Check Error)

- Giải pháp: Cho ADN tách chiết vào chip mới và chạy lại bằng cách nhấn nút “Lặp lại”. Đảm bảo ADN tách chiết được cho vào giếng phản ứng màu trắng của chip đúng cách ( đủ lượng và không chạm vào đáy giếng). Liên hệ với nhóm hỗ trợ Molbio nếu sự cố vẫn tiếp diễn.

+ Lỗi 6: Không hợp lệ ( Invalid):

Chứng nội kiểm không khuếch đại trong PCR hoặc tách chiết mẫu không đúng cách.

Giải pháp: Cho ADN tách chiết vào chip mới và chạy lại bằng cách nhấn nút “Lặp lại”. Nếu tiếp tục nhận được kết quả không hợp lệ (Invalid) khác, lặp lại xét nghiệm từ bước xử lý lại mẫu. Liên hệ với nhóm hỗ trợ Molbio nếu sự cố vẫn tiếp diễn.

### **Cảnh báo Truelab**

- Lỗi 1: Không thể khởi chạy. Vui lòng thử lại (Unable To Read Chip Information);

Hệ thống không thể thiết lập kết nối nội bộ;

Giải pháp: Hãy thử xét nghiệm lại bằng một chip mới và dịch chiết một lần nữa.

- Lỗi 2: Chip đã sử dụng hoặc chip đã hết hạn (Chip Is Already Used/ Chip Loaded Is Expired)

+ Người dùng nhập chip đã sử dụng hoặc hết hạn vào khay;

+ Giải pháp: Sử dụng một chip mới với dịch chiết.

## **19. Báo cáo số liệu**

- Tổng kết số liệu hàng tháng, tính từ đầu đến cuối tháng;

- Báo cáo bệnh nhân thực hiện xét nghiệm Truenat ( Mẫu M4F1);

- Báo cáo hoạt động xét nghiệm Truenat (Mẫu M4F2);

- Báo cáo sử dụng tồn kho xét nghiệm Truenat (Mẫu M4F3);

- Danh sách bệnh nhân kháng R phát hiện bằng Truenat (Mẫu M4F4);

- Báo cáo Dự án công cụ chẩn đoán, điều trị lao mới STOPTB/USAID.

## **20. Lưu ý: Không áp dụng.**

## **21. Lưu hồ sơ**

## **22. Tài liệu liên quan: Không áp dụng.**

## **23. Tài liệu tham khảo**

1. Global Tuberculosis Report 2020;
2. Manuela Rehr. The GeneXpert diagnostic network in Vietnam: Analysis of coverage and accessibility & projection of Xpert MTB/RIF testing capacity needs. IDDS report 2020;
3. Molbio Diagnostics Pvt Ltd. Chip - based Real Time PCR test for *Mycobacterium tuberculosis*. Package Inserts for Truenat MTb, MTB Plus, MTB-RIF Dx, Version 5, 2020; [https://www.molbiodiagnostics.com/product\\_details.php?d=1](https://www.molbiodiagnostics.com/product_details.php?d=1)
4. Practical guide to implementation of Truenat Test for the detection of TB and Rifampicin Resistance. GLI. Version2. March 2021;
5. Stop TB Partnership, USIAD, GLI. March 2021. Practical Guide to implementation of Truenat<sup>TM</sup> Test for the detection of TB and Rifampicin Resistance, Version 2;
6. The National Tuberculosis Control Program of Vietnam. National Strategic plans 2021-2025;
7. Truenat MTB Chip- based Real Time PCR test for *Mycobacterium tuberculosis*. TNMTB/0118/VER-07;
8. Truenat MTB Plus Chip- based Real Time PCR test for Rifampicin Resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Package insert. TNMTB-RIFDx/0280/VER-04;
9. Truenat MTB - RIF Dx Chip- based Real Time PCR test for *Mycobacterium tuberculosis*. Package insert. TNMTB/0119/VER-05;
10. Trueprep MTB sample Pre-treatment Pack sample pre-treatment pack for MTB samples. Package insert. TPMSPT/0319/V-02;
11. Trueprep auto Universal Cartridge Based Sample Prep Kit Sample preparation kit for nucleic acid extraction on Truprep AUTO. Package insert. TPAUTO/012/V-07;

12. Video Tekmax Molbio\_ <https://www.youtube.com/watch?v=ydR2I5S2v3c>;
13. World Health Organization, 2020. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: diagnostics for tuberculosis detection. Geneva, Switzerland: WHO.