

GIÁ TRỊ CỦA TẢI LƯỢNG VIRUS BK TRONG TIÊN ĐOÁN BỆNH THẬN LIÊN QUAN ĐẾN VIRUS BK Ở BỆNH NHÂN SAU GHÉP THẬN

Trương Quý Kiên^{1}, Nguyễn Thị Bích Hằng², Hoàng Phúc Khảm²
Vũ Thị Minh Thu², Phan Bá Nghĩa², Nguyễn Văn Cường¹
Nguyễn Thị Thu Hà², Hoàng Xuân Sửu³, Lê Việt Thắng², Phạm Quốc Toàn²*

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân tích đặc điểm tải lượng của virus BK (BKV) trong máu, nước tiểu và giá trị của tải lượng virus trong tiên đoán bệnh thận liên quan đến BKV ở bệnh nhân (BN) sau ghép thận. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiền cứu mô tả cắt ngang không đối chứng được thực hiện trên 360 BN được ghép thận và theo dõi tại Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Các mẫu máu và nước tiểu được thu thập để đo tải lượng BKV bằng phương pháp Realtime-PCR. Những BN có chỉ định sinh thiết thận ghép được thực hiện theo quy trình. **Kết quả:** Tỷ lệ nhiễm BKV là 56,7%, trong đó 11/360 (3,1%) BN có bệnh thận liên quan đến BKV. Tỷ lệ nhiễm BKV gặp nhiều nhất trong khoảng 3 - 6 tháng và thấp nhất > 12 tháng sau ghép. Tải lượng của BKV trong máu trên ngưỡng $1,3 \times 10^4$ copies/mL và trong nước tiểu trên ngưỡng $1,5 \times 10^6$ copies/mL có giá trị tiên đoán sự xuất hiện của bệnh thận liên quan đến BKV ở BN sau ghép thận với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 81,8%, 87,1% và 90,9%, 67,9%. Tải lượng BKV trong máu có giá trị tiên đoán bệnh thận liên quan đến BKV tốt hơn so với trong nước tiểu. **Kết luận:** Tải lượng BKV có vai trò giúp tiên đoán bệnh thận liên quan đến BKV với ngưỡng $1,3 \times 10^4$ copies/mL trong máu và $1,5 \times 10^6$ copies/mL trong nước tiểu.

Từ khóa: Realtime-PCR; Virus BK; Ghép thận.

¹Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

²Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

³Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Trương Quý Kiên (Drquykiemtruong@gmail.com)

Ngày nhận bài: 30/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 28/3/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i5.746>

ROLE OF BK VIRUS LOAD IN PREDICTING BK VIRUS-ASSOCIATED NEPHROPATHY IN PATIENTS' POST KIDNEY TRANSPLANTATION

Abstract

Objectives: To analyze the load characteristics of the BK virus in serum and urine and its role in predicting BK virus-associated nephropathy in patients after kidney transplantation. **Methods:** A prospective, cross-sectional, descriptive uncontrolled study was conducted on 360 kidney transplant patients at Military Hospital 103 and 108 Military Central Hospital. Realtime-PCR was used to measure BK viral load in serum and urine samples. Patients with indications for kidney transplant biopsy were performed according to the protocol. **Results:** The study found that 56.7% of kidney transplant patients had BK virus infection, with 3.1% developing BK virus-associated nephropathy. BK virus infection was most prevalent between 3 - 6 months post-transplantation. A BK virus load in serum exceeding 1.3×10^4 copies/mL predicted BK virus-associated nephropathy with 81.8% sensitivity and 87.1% specificity. In urine, a BK virus load exceeding 1.5×10^6 copies/mL predicted BK virus-associated nephropathy with 90.9% sensitivity and 67.9% specificity. BK virus load in serum was a better predictor than in urine. **Conclusion:** BK virus load plays a role in predicting BK virus-associated nephropathy with a cut-off of 1.3×10^4 copies/mL in serum and 1.5×10^6 copies/mL in urine.

Keywords: Realtime-PCR; BK virus; Kidney transplantation.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus BK thuộc họ Polyomaviridae, chi Polyomavirus là một trong những nguyên nhân quan trọng dẫn đến rối loạn chức năng thận ghép ở BN sau ghép thận. Tỷ lệ bệnh thận liên quan đến virus BK (BK virus associated Nephropathy: BKVN) khoảng 1 - 10% trong năm đầu sau ghép thận, trong đó, 50% dẫn tới mất chức năng thận ghép nếu không được can thiệp kịp thời [1]. Việc theo dõi, giám sát tải lượng BKV

bằng kỹ thuật Realtime-PCR trong máu hoặc nước tiểu đã được công nhận là công cụ có giá trị tiên đoán BKVN [2]. Đến nay, ở nước ta mới chỉ có một vài công bố về ca lâm sàng nhiễm BKV hoặc khảo sát trên nhóm nhỏ ở BN sau ghép thận [3]. Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Phân tích một số đặc điểm tải lượng BKV trong máu, nước tiểu và đánh giá vai trò của nó trong tiên đoán bệnh thận liên quan đến BKV ở BN sau ghép thận.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

360 BN sau ghép thận được theo dõi, điều trị tại Bệnh viện Quân y 103 và đồng ý tham gia nghiên cứu.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2020 - 12/2022.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu tiền cứu, mô tả cắt ngang không đối chứng.

* *Phương tiện và hóa chất chính sử dụng:* Máy Real-time PCR: Rotor-Gene Q MDX (QIAGEN) - Malaysia; Kit tách chiết DNA từ máu và nước tiểu Exgene™ Blood SV- Gene - All (Hàn Quốc), mã số GA-105-101.

* *Thu thập dữ liệu:*

- Tách chiết DNA: 360 BN sẽ được lấy đồng thời cả mẫu máu và nước tiểu. Các mẫu DNA của virus sẽ được tách chiết từ 200 μ L mẫu huyết tương hoặc nước tiểu bằng bộ kit Exgene™ Blood SV- Gene - All theo quy trình của nhà sản xuất. DNA cuối cùng được rửa, cố định trong thẻ tích cuối cùng là 54 μ L dung dịch đệm AE và được bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng.

- Đo tải lượng virus trong mẫu máu và nước tiểu: Sử dụng phương pháp PCR-Realtime được thực hiện trên hệ thống Rotor-Gene Q MDX (QIAGEN) (Malaysia) tại phòng vi sinh và các

mầm bệnh sinh học thuộc Viện nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y. Tải lượng BKV được biểu thị bằng số copy BKV/mL nước tiểu hoặc huyết tương. Giới hạn thấp nhất để phát hiện tải lượng BKV tại trung tâm là 250 copies/mL.

- Sinh thiết thận ghép: Tất cả các BN có rối loạn chức năng thận ghép cấp tính (creatinine máu > 25% so với mức nền ban đầu). Chẩn đoán BKVN khi có tổn thương viêm ống, kẽ thận với sự xuất hiện của dấu ấn SV40 (+) trên tiêu bản nhuộm hóa mô miễn dịch.

* *Phân tích số liệu:* Bằng phần mềm SPSS 22.0 của IBM.

Mô tả dữ liệu: Biến số định tính trình bày dưới dạng tần suất và tỷ lệ phần trăm; biến số định lượng trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn (với biến số tuân theo luật phân phối chuẩn) hoặc trung vị và khoảng tứ phân vị (với biến số không tuân theo luật phân phối chuẩn); phân tích đa biến bằng mô hình hồi quy logistic. Tìm tương quan đơn biến (r đơn biến) giữa hai biến bằng tương quan Spearman.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y học của Bệnh viện Quân y 103 trước khi triển khai nghiên cứu (QĐ số 201/CNChT-HĐĐĐ ngày 16/12/2022). Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $38,42 \pm 9,80$ (năm), trong đó,

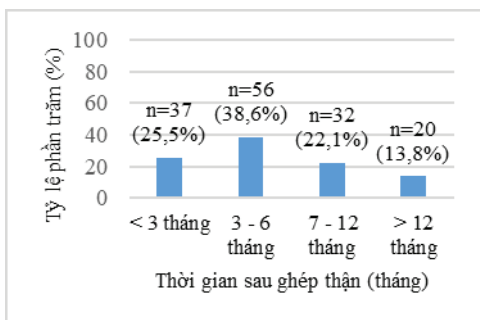
nam giới chiếm ưu thế (71,4%). Thời gian lọc máu dao động từ 2 - 36 tháng. Mức lọc cầu thận (MLCT) trung bình $65,40 \pm 14,93$ (mL/phút). 92,8% BN sử dụng Tacrolimus trong phác đồ ức chế miễn dịch (UCMD).

2. Đặc điểm nhiễm và tải lượng BKV

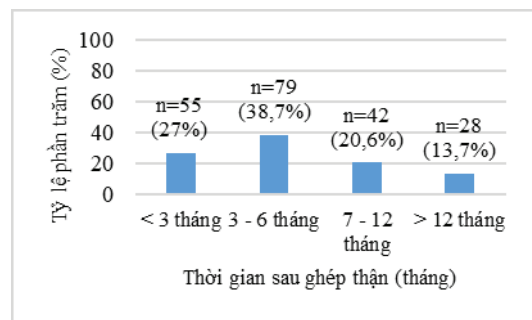
Bảng 1. Đặc điểm nhiễm BKV ở BN sau ghép thận.

Phân loại nhiễm BKV		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
BKV âm tính (không phát hiện BKV)		156	43,3
BKV dương tính	Trong nước tiểu	59	16,4
	Trong máu và nước tiểu	145	40,3
BKVN	Có bằng chứng về mô học: SV40(+)	11	3,1

Tỷ lệ BKV dương tính là 56,7%, trong đó, dương tính cả trong máu và nước tiểu chiếm chủ yếu (40,3%). Tỷ lệ BKVN trong số các BN có BKV dương tính là 3,1%.



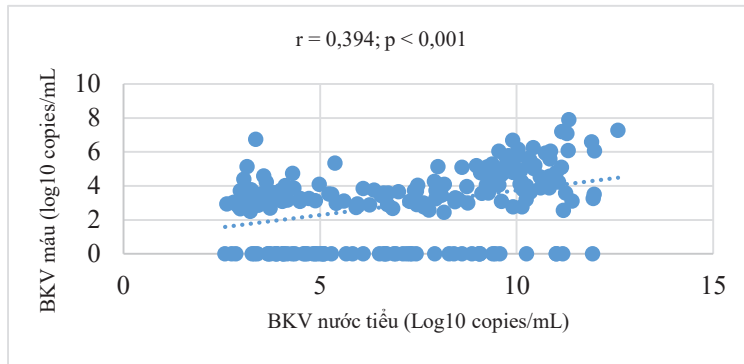
A



B

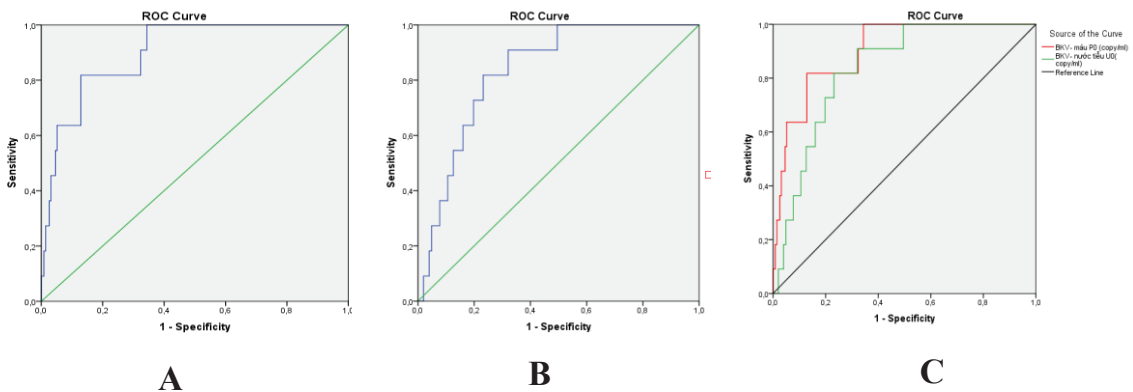
Biểu đồ 1. Tỷ lệ nhiễm BKV máu (A) và nước tiểu (B) theo thời gian sau ghép.

Tỷ lệ người bệnh nhiễm BKV trong máu hoặc nước tiểu nhiều nhất trong khoảng 3 - 6 tháng và thấp nhất ngoài 12 tháng.



Biểu đồ 2. Mối tương quan giữa tải lượng BKV máu và BKV nước tiểu.

Tải lượng BKV trong máu có tương quan thuận mức độ vừa với tải lượng BKV trong nước tiểu, $r = 0,394$, $p < 0,001$.



Biểu đồ 3. Đường cong ROC tải lượng BKV trong máu (A), nước tiểu (B), so sánh giá trị trong tiên đoán BKVN (C).

Diện tích dưới đường cong BKV trong máu là 0,9 với $p < 0,001$. Điểm ngưỡng tải lượng BKV trong máu là $1,3 \times 10^4$ copies/mL có giá trị tiên đoán sự xuất hiện BKVN, với độ nhạy là 81,8% và độ đặc hiệu 87,1% (A). Diện tích dưới đường cong BKV trong nước tiểu là 0,834 với $p < 0,001$. Điểm ngưỡng tải lượng BKV trong nước tiểu là $1,5 \times 10^6$ copies/mL có giá trị tiên đoán sự xuất hiện BKVN, với độ nhạy là 90,9% và độ đặc hiệu 67,9% (B). Điểm ngưỡng tải lượng BKV trong máu có giá trị tiên đoán tốt hơn so với tải lượng BKV trong nước tiểu trong tiên đoán sự xuất hiện BKVN (C).

Bảng 2. Phân bố BN dựa vào giá trị điểm ngưỡng dự đoán BKVN.

Thông số	Tải lượng virus			
	BKV trong máu và nước tiểu trên GTĐN copies/mL (n = 47)	BKV trong máu trên GTĐN copies/mL (n = 7)	BKV trong nước tiểu trên GTĐN copies/mL (n = 75)	BKV trong máu và nước tiểu dưới GTĐN copies/mL (n = 231)
BKV trong máu (IQR), copies/mL	1,3x 10 ⁵ (6,3 x 10 ⁴ - 1,1 x 10 ⁶)	5,5 x 10 ⁴ (2,5 x10 ⁴ - 2,1 x 10 ⁵)	9,8 x 10 ² (0 - 3,9 x10 ³)	0 (0 - 0)
BKV trong nước tiểu, IQR, copies/mL	1,2 x10 ¹⁰ (3,5 x10 ⁹ - 7 x10 ¹⁰)	3,7 x10 ³ (1,4 x10 ³ - 2x10 ⁴)	2,7 x10 ⁸ (2,2 x10 ⁷ - 8,2x10 ⁹)	0 (0 - 2,1 x 10 ³)
Số BKVN/ tổng số BN trong nhóm	8/47	1/7	2/75	0/231

(GTĐN: Giá trị điểm ngưỡng)

8/47 BN có tải lượng BKV trong máu và nước tiểu trên ngưỡng dự đoán, 1/7 BN có tải lượng BKV trong máu trên giá trị điểm ngưỡng, 2/75 BN có tải lượng BKV trong nước tiểu trên giá trị điểm ngưỡng được chẩn đoán BKVN. Trong 231 BN còn lại, không có BN được chẩn đoán BKVN với tải lượng BKV trong máu và nước tiểu đều dưới ngưỡng dự đoán.

BÀN LUẬN

Dựa trên các khuyến cáo, trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp Real-time PCR để sàng lọc tình trạng nhiễm BKV ở BN sau ghép thận [4]. Tỷ lệ nhiễm BKV trong máu trong nghiên cứu của chúng tôi là 41,3% với ngưỡng chẩn đoán BKV dương tính là 250 copies/mL (Bảng 1). Kết quả này cũng nằm trong nghiên cứu tổng kết các nghiên cứu về BKV,

Funahashi Y và CS (2021) nhận thấy tỷ lệ nhiễm BKV trong máu dao động từ 10 - 30% [2].

Đối với mẫu nước tiểu, tỷ lệ phát hiện BKV dương tính là 56,7%; trong đó, 30% BN có tải lượng BKV $\geq 10^7$ copies/mL. Tương tự, Nguyễn Anh Thư và CS (2022) thực hiện nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 81 BN ghép thận, tỷ lệ BKV niệu dương tính là 24,7% [5].

Theo dữ liệu từ các nghiên cứu trước, tỷ lệ BN được chẩn đoán BKVN chỉ dao động khoảng 1 - 10 % [2]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ BKVN là 11/360 BN (3,1%) (Bảng 1). Tương tự, nghiên cứu của Nguyễn Anh Thư và CS (2022) cũng cho kết quả là 4,9% trong số những ca được sinh thiết thận ghép [5]. Phân tích diễn biến xuất hiện của BKV trong máu và nước tiểu theo thời gian sau ghép, chúng tôi nhận thấy số BN nhiễm BKV trong máu xuất hiện nhiều nhất ở khoảng 3 - 6 tháng và thấp nhất > 12 tháng. Tương tự, số BN nhiễm BKV trong nước tiểu nhiều nhất cũng nằm trong khoảng thời gian 3 - 6 tháng và thấp nhất > 12 tháng (Biểu đồ 1). Jacobi J và CS (2013) thực hiện nghiên cứu cắt ngang với 352 BN được ghép thận, phát hiện 48 ca (13,6%) có BKV dương tính trong máu. Trong đó, 64,6% BN phát hiện BKV trong máu trong 3 - 6 tháng đầu; 4,2% BN có BKV máu dương tính trong vòng 3 tháng đầu, 6,2% BN phát hiện BKV sau 1 năm ghép [6]. Luận giải cho vấn đề này, nhiều nghiên cứu cho thấy có thể liên quan đến việc sử dụng thuốc UCMD và chiến lược theo dõi quản lý BN sau ghép của các trung tâm.

Cơ chế bệnh sinh của BKVN đã chỉ ra con đường xâm nhập gây tổn thương thận ghép của BKV sẽ trải qua nhiều

giai đoạn. Ở giai đoạn đầu, BKV sẽ tồn tại trong đường niệu, sau đó có thể sẽ xuất hiện trong máu và nhu mô thận [7]. Mối liên quan giữa tải lượng BKV trong máu và nước tiểu cũng đã được phân tích trong nghiên cứu này. Biểu đồ 2 cho thấy tải lượng BKV trong máu có tương quan thuận mức độ vừa với tải lượng BKV trong nước tiểu ($r = 0,394, p < 0,001$).

Để chẩn đoán BKVN, đến thời điểm hiện tại, sinh thiết thận ghép với đặc điểm tổn thương ống, kẽ thận và sự có mặt của SV 40 (+) vẫn được coi là tiêu chuẩn vàng. Tuy nhiên, đây là kỹ thuật xâm lấn, đòi hỏi kỹ thuật đồng bộ, chuyên sâu và không phải BN nào cũng sẵn sàng chấp nhận làm thủ thuật sinh thiết. Vì vậy, hầu hết các nghiên cứu đều cố gắng tìm kiếm công cụ chẩn đoán đơn giản, tiện lợi, ít xâm lấn nhằm tiên đoán sự xuất hiện của BKVN. Phương pháp đo tải lượng virus bằng kỹ thuật real-time PCR và xây dựng đường cong ROC đã được ứng dụng rộng rãi [1].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thấy diện tích dưới đường cong BKV trong máu là 0,9 với $p < 0,001$. Điểm ngưỡng tải lượng BKV trong máu là $1,3 \times 10^4$ copies/mL có giá trị tiên lượng sự xuất hiện BKVN, với độ nhạy là 81,8% và độ đặc hiệu 87,1% (Biểu đồ 3A).

Bảng 3. Giá trị điểm ngưỡng tải lượng BKV trong máu tiên đoán BKVN trong một số nghiên cứu.

Nghiên cứu	Quốc Gia	Thiết kế NC	Cỡ mẫu	% BKVN	Giá trị điểm ngưỡng copies/mL	Có đối chứng sinh thiết	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Huang (2013) [8]	Trung Quốc	Cắt ngang	338	7,1	$> 1 \times 10^3$	Có	83,3	97,5
Nankivell BJ (2015) [9]	Australia	Cắt ngang	352	2,6	$> 1 \times 10^4$	Có	66,7	96,8
Skulratanasak P (2018) [10]	Thái Lan	Cắt ngang	173	6,4	21.087 (2.10^4)	Có	90,9	87,2
Nhóm tác giả trong nghiên cứu	Việt Nam	Cắt ngang	360	3,1	$1,3 \times 10^4$	Có	81,8	87,1

Số liệu trong bảng chỉ ra mỗi nghiên cứu lại cho giá trị điểm ngưỡng khác nhau, độ nhạy và độ đặc hiệu cũng có phần khác nhau. Kết quả của chúng tôi có phần cao hơn so với ngưỡng 10^4 copies/mL theo AST-IDCOP (2019) [4]. Luận giải cho điều này là do giá trị điểm ngưỡng giữa các labo phụ thuộc vào việc thiết kế primer, probe, lựa chọn gen đích cũng như sự chính xác của các nồng độ mẫu chuẩn. Mặc dù những gợi ý cho dự đoán giá trị điểm ngưỡng trong máu là 10^4 copies/mL, tuy nhiên, để tăng tính đặc hiệu và độ chính xác cho xét nghiệm chẩn đoán BKVN, một giá trị điểm ngưỡng riêng cho từng labo là cần thiết.

Mối quan hệ giữa tải lượng BKV trong nước tiểu với BKVN cũng được chúng tôi khảo sát. Biểu đồ 3B cho thấy, diện tích dưới đường cong BKV trong nước tiểu là 0,834 với $p < 0,001$. Điểm ngưỡng tải lượng BKV trong nước tiểu là $1,54 \times 10^6$ copies/mL có giá trị tiên đoán sự xuất hiện BKVN, với độ nhạy là 90,9% và độ đặc hiệu 67,9%. Như vậy, so với lý thuyết đưa ra trong các khuyến cáo, ngưỡng $>10^7$ copies/ml có giá trị tiên đoán BKVN. Chúng tôi thấy rằng, ngưỡng thực tế tại các trung tâm cũng có điểm khác nhau.

So sánh giá trị của tải lượng BKV trong máu và nước tiểu trong tiên đoán BKVN, chúng tôi thấy điểm ngưỡng

tải lượng BKV trong máu có giá trị tiên đoán sự xuất hiện BKVN tốt hơn so với tải lượng BKV trong nước tiểu (Biểu đồ 3C). Nghĩa là, ngưỡng BKV trong máu $> 1,3 \times 10^4$ copies/mL mang lại lợi thế hơn so với ngưỡng BKV trong nước tiểu $> 1,54 \times 10^6$ copies/mL. Mặt khác, có 2/75 BN có tải lượng BKV trong nước tiểu trên giá trị điểm ngưỡng được chẩn đoán BKVN. Trong 231 BN còn lại, không có BN được chẩn đoán BKVN với tải lượng BKV trong máu và nước tiểu đều dưới ngưỡng dự đoán (Bảng 2).

Với 2/11 người bệnh BKVN có tải lượng BKV trong nước tiểu trên ngưỡng trong khi tải lượng BKV trong máu dưới ngưỡng 10^4 copies/mL cho thấy việc đo tải lượng BKV trong nước tiểu nên được thực hiện trong quá trình theo dõi BN sau ghép. Mặt khác, để tăng hiệu quả chẩn đoán sớm BKVN, việc kết hợp phân tích tải lượng BKV đồng thời cả trong máu và nước tiểu là cần thiết. Từ đó, hạn chế bỏ sót hoặc chẩn đoán muộn BKVN và cho phép can thiệp điều trị kịp thời. Đây cũng là cơ sở để chúng tôi lựa chọn đối tượng người bệnh để can thiệp điều trị.

KẾT LUẬN

Tải lượng của BKV được xác định bằng phương pháp Real-time PCR trong máu với ngưỡng $1,3 \times 10^4$ copies/mL và trong nước tiểu với ngưỡng $1,5 \times$

10^6 copies/mL có giá trị tiên đoán sự xuất hiện của BKVN ở BN sau ghép thận với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 81,8%, 87,1% và 90,9%, 67,9%. Tải lượng BKV trong máu có giá trị tiên đoán BKVN tốt hơn so với trong nước tiểu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kant S, Dasgupta A, Bagnasco S, et al. BK virus nephropathy in kidney transplantation: A state-of-the-art review. *Viruses*. 2022; 14(8).
2. Funahashi Y. BK virus-associated nephropathy after renal transplantation. *Pathogens*. 2021; 10(2).
3. Toan PQ, Bao Quyen LT, Thu Hang DT, et al. Identification of BK virus genotypes in recipients of renal transplant in Vietnam. *Transplant Proc*. 2019; 51(8):2683-2688.
4. Hirsch HH, Randhawa PS, Practice AST. Infectious diseases community of BK polyomavirus in solid organ transplantation-Guidelines from the American society of transplantation infectious diseases community of practice. *Clin Transplant*. 2019; 33(9):e13528.
5. Nguyễn Anh Thư. Tình trạng nhiễm virus BK ở bệnh nhân ghép thận tại Bệnh viện Bạch Mai. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2022; 160(12v2): 180-189.

6. Jacobi J, Prignitz A, Büttner M, et al. BK viremia and polyomavirus nephropathy in 352 kidney transplants; risk factors and potential role of mTOR inhibition. *BMC Nephrol.* 2013; 14:207.
7. Fallatah N. Immune responses to BK polyomavirus in healthy donors and renal transplant recipients. The University of Liverpool (United Kingdom). 2021.
8. Huang G, Chen WF, Wang CX, et al. Noninvasive tool for the diagnosis of polyomavirus BK-associated nephropathy in renal transplant recipients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 75(3):292-7.
9. Nankivell BJ, Renthawa J, Jeoffreys N, et al. Clinical utility of urinary cytology to detect BK viral nephropathy. *Transplantation.* 2015; 99(8):1715-1722.
10. Skulratanasak P, Mahamongkhonsawata J, Chayakulkeereeb M, et al. BK Virus infection in Thai kidney transplant recipients: A single-center experience. *Transplant Proc.* 2018; 50(4):1077-1079.