

**NGHIÊN CỨU TỶ LỆ NHIỄM HPV Ở BỆNH
NHÂN CÓ TỔN THƯƠNG CỔ TỬ CUNG TẠI
BỆNH VIỆN PHỤ SẢN HẢI PHÒNG BẰNG KỸ
THUẬT REAL - TIME PCR VÀ REVERSE DOT
BLOT HYBRIDIZATION**

Ts Vũ Văn Tâm,

ThS Phan Thị Thanh Lan,

Ts Lưu Vũ Dũng

Bệnh viện Phụ Sản Hải Phòng

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư CTC có liên quan chặt chẽ với nhiễm các type *Human papillomavirus* (HPV) nguy cơ cao đường sinh dục

- Dựa trên khả năng gây ra các tổn thương mô học, đặc biệt là khả năng gây ung thư CTC, HPV được chia làm hai nhóm: nhóm nguy cơ cao và nguy cơ thấp.
- Xác định các type HPV có vai trò vô cùng quan trọng trong việc đánh giá nguy cơ ung thư cổ tử cung và một số ung thư đường sinh dục khác

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

- Phương pháp phát hiện nhiễm HPV chính xác nhất là các kỹ thuật sinh học phân tử, trong đó có xét nghiệm định type HPV bằng kỹ thuật Reverse Dot Blot Hybridization.
- Vì vậy, chúng tôi sử dụng kỹ thuật Real-time PCR và Reverse Dot Blot Hybridization nghiên cứu đề tài này nhằm các mục tiêu sau
- *1. Xác định tỷ lệ nhiễm HPV.*
- *2. Xác định sự phân bố các type HPV các bệnh nhân tổn thương cổ tử cung khám phụ khoa tại Bệnh viện Phụ Sản Hải Phòng từ năm 6/2016 - 3/2017.*

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Bệnh nhân đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Phụ Sản Hải Phòng.
- Thời gian thu thập mẫu: từ tháng 6/2016 đến tháng 3/2017.

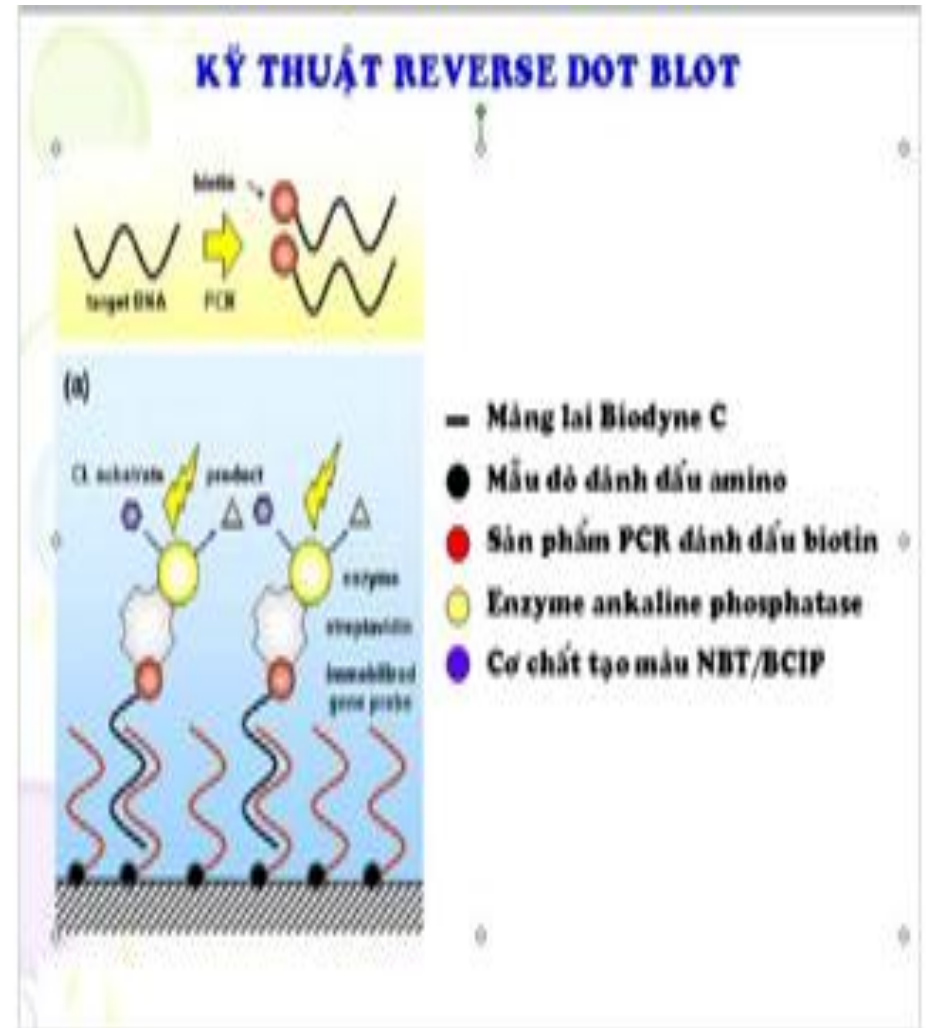
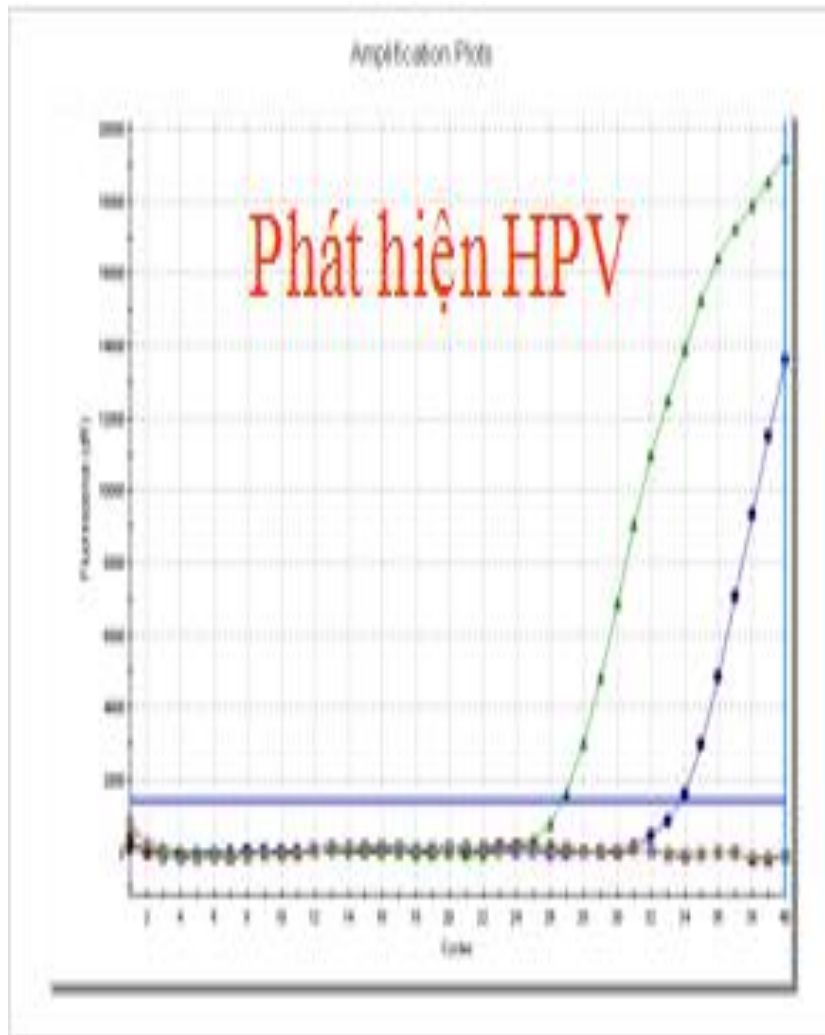
2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu hồi cứu với cỡ mẫu thuận tiện.
- Số liệu thống kê từ phần mềm quản lý xét nghiệm Labconn.
- Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu:
 - Phụ nữ đã có quan hệ tình dục.
 - Hiện tại không có thai.
 - Bệnh nhân đã được khám, soi CTC và xét nghiệm Thinprep pap test. Những bệnh nhân được chẩn đoán tổn thương CTC lành tính được nhận vào NC.

2. Phương pháp nghiên cứu

- * Quy trình thực hiện định type HPV:
 - Thu nhận bệnh phẩm: dịch phết cổ tử cung.
 - Tách chiết DNA tổng số bằng phương pháp Phenol - chloroform.
 - Thực hiện phản ứng Nested Real-time PCR: trên máy X- 4800 Cobas của hãng Roche-dianostique (Pháp),
 - Phân tích, so sánh, đối chiếu kết quả với sơ đồ màng lai

Hình 1. HPV Real-time PCR và nguyên lý của kỹ thuật Reverse Dot Blot



Hình 2. Kết quả định type HPV bằng kỹ thuật Reverse Dot Blot

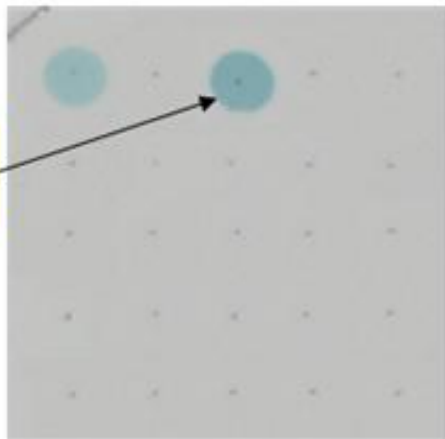
Chung
dương

Sơ đồ kết quả màng lai					
+	61	18	45	58	
6	70	31	51	59	
11	71	33	52	66	
42	81	35	53	68	
43	16	39	56	82	

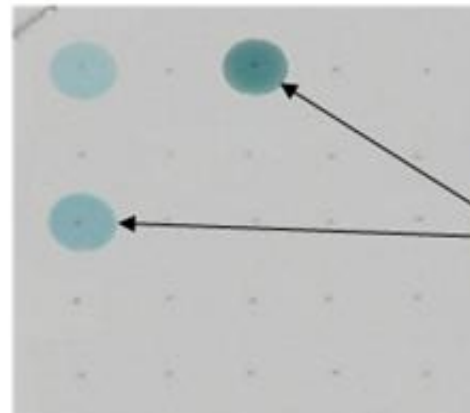
Mẫu: HPV Âm tính



Mẫu: HPV
genotype 18

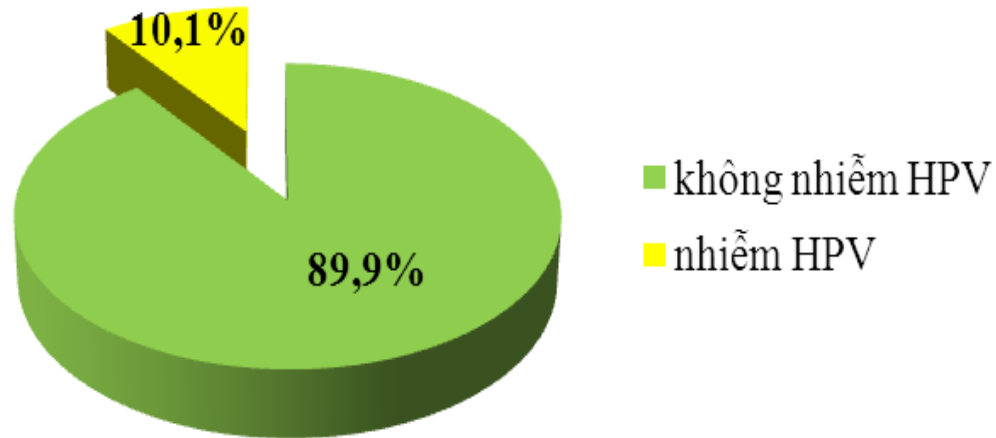


Mẫu: HPV genotype 18 và 11



3. Kết quả

3.1. Tỷ lệ nhiễm HPV



Biểu đồ 1. Tỷ lệ nhiễm HPV

3. Kết quả

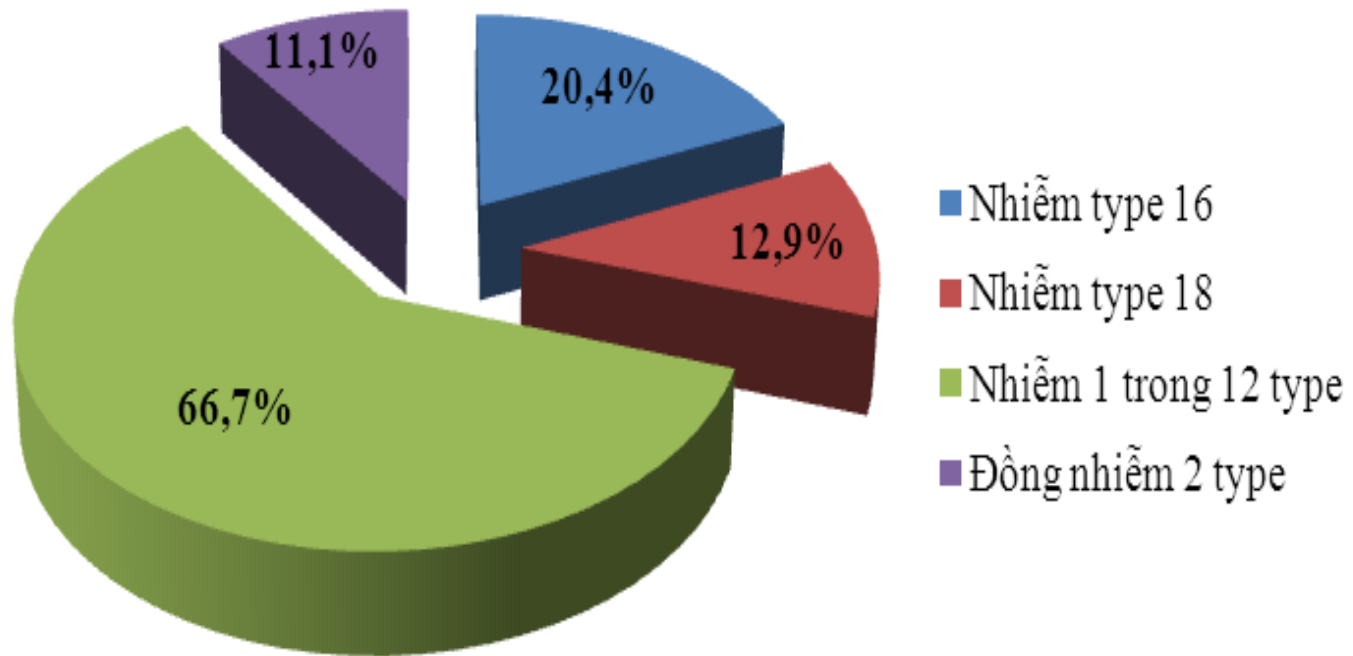
3.2. Sự liên quan nhiễm HPV theo nhóm tuổi

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm HPV theo nhóm tuổi

Tuổi	HPV DNA (-)	HPV DNA (+)	Tổng
≤ 25	28	4	32
26 - 35	182	25	207
> 35	269	25	294
Tổng	479	52	533
Trung bình	38,3 9	36,7 8,8	
Trẻ nhất	17	21	
Già nhất	75	57	

3. Kết quả

3.3. Sự phân bố các type HPV



Biểu đồ 2. Tỷ lệ các type HPV

4. Bàn luận

4.1. Về phương pháp xét nghiệm

Ưu điểm Real - time PCR và Reverse Dot Blot

- thao tác đơn giản
- kết quả nhanh
- độ nhạy cao đến 1 IU/phản ứng
- độ đặc hiệu 100%
- xác định được 24 type HPV (18 type nguy cơ cao và 6 type nguy cơ thấp).
- xác định dễ dàng sự nhiễm và đồng nhiễm các type HPV trên cùng một mẫu bệnh phẩm.

4. Bàn luận

4.2. Về độ tuổi nhiễm HPV

- Tuổi trung bình giữa 2 nhóm nhiễm và không nhiễm HPV không có sự khác biệt $p > 0,05$.
- Tuổi < 25 (độ tuổi còn có thể tiêm vắc xin phòng HPV) thì tỷ lệ dương tính với HPV đã là 4/32 (12,5%). Do vậy, khuyến nghị xét nghiệm định type HPV trước khi quyết định tiêm phòng cho nữ giới dưới 25 tuổi đã có quan hệ tình dục.
- Tuổi < 35 , tỷ lệ dương tính với HPV là 25/207 (12,1%). Theo Remi Catabelle (Pháp), có đến 80% bệnh nhân ở nhóm tuổi này, HPV được đào thải tự nhiên nhờ hệ miễn dịch (được gọi là khỏi tự nhiên hay nhiễm trùng tạm thời).
- Tuổi > 35 , tỷ lệ dương tính là 25/269 (9,3%). Theo Remi Catabelle (Pháp) nếu tồn tại nhiễm trùng trên 1 năm thì có khoảng 10-20% ca nhiễm, sau 2 – 5 năm có thể tiến triển từ một tổn thương CTC lành tính thành tổn thương trong biểu mô Malpighi mức độ thấp (CIN 1). Sau đó, 3 đến 5 năm tiến triển thành tổn thương trong biểu mô Malpighi mức độ cao (CIN 2-3). Sau đó 4 đến 10-15 năm thành ung thư .

4. Bàn luận

4.3. Về tỷ lệ nhiễm các type HPV

- Tỷ lệ nhiễm HPV Ở bn có tổn thương CTC tại Hải Phòng là 10,1%

Nguyễn Hữu Quyền cùng kỹ thuật khảo sát 24 type HPV ở phụ nữ viêm cổ tử cung là 29,8%

Lê Trung Thọ và Trần Văn Hợp tại Hà Nội (2009)khảo sát ở phụ nữ nói chung trên cộng đồng, tỷ lệ nhiễm HPV là 5,13% [6]

Vũ Thị Nhung khi khảo sát tại Thành phố Hồ Chí Minh (2007) là 12% [9].

Điều này cho thấy lệ nhiễm HPV ở phụ nữ tổn thương cổ tử cung cao hơn nhiều so với nhóm phụ nữ bình thường tại cộng đồng.

4.3. Về tỷ lệ nhiễm các type HPV

Trong các trường hợp HPV (+), chúng tôi đã xác định được 33,3% bệnh nhân bị nhiễm 2 type nguy cơ cao. Trong đó type 16 chiếm tỷ lệ cao nhất 66,7%, type 18 (33,3%).

Do vậy, nhóm phụ nữ tổn thương CTC cần được tư vấn khám định kỳ kết hợp với Thinprep PAP test, soi CTC để phát hiện sớm tiền ung thư và ung thư.

5. Kết luận

1. Tỷ lệ nhiễm HPV ở phụ nữ có tổn thương CTC đến khám phụ khoa tại BV Phụ sản Hải Phòng là 10,1%, cao hơn tỷ lệ nhiễm HPV khi khảo sát ở phụ nữ nói chung trên cộng đồng
 - Tỷ lệ nhiễm type nguy cơ cao là 33,3%; nguy cơ trung bình là 66,7%

5. Kết luận

2. Tỷ lệ nhiễm 1 type là 88,9%, đồng nhiễm 2 type là 11,1%; không phát hiện ca nào đồng nhiễm từ 3 type trở lên.
- 100% đồng nhiễm giữa 1 type nguy cơ cao với 1 type nguy cơ trung bình.
 - Đồng nhiễm hay gặp nhất là giữa type 16 và 1 type nguy cơ trung bình (66,7%).

