

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG BỘ TOPSENSI®STD-12 qPCR KIT VÀ ỨNG DỤNG TRONG ĐÁNH GIÁ SỰ ĐỒNG NHIỄM HPV VỚI STD TRÊN MẪU XÉT NGHIỆM HPV

Phan Thị Ngọc Diễm, Nguyễn Duy Khánh, Đỗ Ngọc Diễm Trúc, Trương Gia Hưng, Mai Hoàng Khánh Chi

Công ty TNHH Giải pháp Y sinh ABT – Chi nhánh Long Hậu, Việt Nam

TÓM TẮT

Bệnh lây truyền qua đường tình dục là vấn đề sức khỏe được quan tâm trên thế giới. Việc tìm ra phương pháp xác định tác nhân gây bệnh sinh dục đạt chất lượng tốt với chi phí hợp lý đóng vai trò quan trọng trong hỗ trợ chẩn đoán, điều trị và phòng ngừa các bệnh sinh dục, góp phần bảo vệ sức khỏe cộng đồng, giảm các gánh nặng y tế liên quan. Nhóm nghiên cứu thực hiện đánh giá chất lượng bộ kit phát hiện 12 tác nhân lây truyền qua đường tình dục phổ biến được sản xuất tại Việt Nam bằng phương pháp realtime PCR, TopSENSI® STD-12 qPCR Kit (ABT) và ứng dụng trong đánh giá sự đồng nhiễm STD với HPV. Bộ kit cho hiệu quả chẩn đoán tương đương với kit có cùng mục đích sử dụng của nước ngoài (CE-IVD). Kết quả ghi nhận 10/12 tác nhân mục tiêu có tỷ lệ phần trăm nhất quán tổng thể trên 90%; tỷ lệ phần trăm nhất quán tổng thể theo từng mẫu xét nghiệm giữa kit ABT và kit đối chứng là 91,46% (95%CI*: 84,17% đến 96,12%) với tỷ lệ phần trăm nhất quán dương tính là 93,15 % (95%CI*: 84,74% đến 97,74%). Ngoài ra, nghiên cứu này cũng đóng góp thêm thông tin về mức độ đồng nhiễm HPV với STD vào cơ sở dữ liệu lâm sàng cùng với các nghiên cứu trước đó. Thông qua phân tích thống kê chi bình phương ghi nhận mối tương quan chặt chẽ giữa HPV và các tác nhân lây truyền qua đường tình dục với giá trị $\chi^2 = 8,547$ ($p = 0,003$), nghiên cứu cũng ghi nhận rằng *Gardnerella vaginalis* là tác nhân có tần suất xuất hiện nhiều nhất (39,82%), tiếp theo là *Ureaplasma parvum* (25,66%) và *Candida albicans* (15,34%). Điều này có thể do tính chất và nguồn gốc lây truyền giống nhau của các tác nhân; đồng thời, đặc điểm sinh hoạt và đời sống ở khu vực thu mẫu có thể là nguyên nhân tích lũy nhiều mầm bệnh.

Từ khóa: Bệnh lây truyền qua đường tình dục, đồng nhiễm, HPV, realtime PCR, STD, STIs.

MỞ ĐẦU

Bệnh lây truyền qua đường tình dục (STD) hay nhiễm trùng lây truyền qua đường tình dục (STI) là một vấn đề sức khỏe cộng đồng quan trọng trên toàn cầu, ảnh hưởng đến cả nam và nữ ở mọi lứa tuổi. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization - WHO), mỗi ngày có hơn 1 triệu ca nhiễm STD mới ở người trưởng thành trong độ tuổi 15-49 và phần lớn không biểu hiện thành triệu chứng rõ ràng. Hơn 30 tác nhân được xác định có thể là mầm bệnh lây truyền bệnh sinh dục và các cá nhân có thể bị nhiễm nhiều bệnh cùng một lúc (WHO, 2024). Tại Việt Nam, STD cũng là một vấn đề đáng được quan tâm, hệ thống dữ liệu quốc gia về STD còn hạn chế (WHO tại Việt Nam, 2020) nhưng dữ liệu giám sát các chương trình cục bộ vẫn cho thấy tình trạng nhiễm các tác nhân lây truyền qua đường tình dục ngày càng gia tăng, có xu hướng trẻ hóa, đặc biệt ở nhóm đối tượng nam quan hệ tình dục đồng giới và nữ mại dâm. Bệnh lây truyền qua đường tình dục (STD) không chỉ ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe mà còn tiềm ẩn những hậu quả nặng nề về kinh tế và xã hội. Vì vậy, việc nâng cao nhận thức về STD và thực hiện các biện pháp phòng ngừa, tầm soát là vô cùng quan trọng, giúp phát hiện kịp thời, ngăn ngừa lây nhiễm, theo dõi và điều trị hiệu quả.

Hiện nay, có nhiều phương pháp xét nghiệm chẩn đoán STD tiên tiến có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, giúp phát hiện chính xác tác nhân gây bệnh, điển hình trong số đó phải kể đến phương pháp xét nghiệm phân tử realtime PCR, tuy nhiên, chi phí để thực hiện phương pháp xét nghiệm phân tử này còn khá cao, hạn chế khả năng tiếp cận của người bệnh. Việc phát triển và sử dụng rộng rãi các bộ kit xét nghiệm STD chất lượng tốt và giá thành hợp lý sẽ góp phần quan trọng vào việc kiểm soát và phòng ngừa STD.

TopSENSI® STD-12 qPCR Kit là bộ kit xét nghiệm giúp kiểm tra sự hiện diện của 12 tác nhân nguy cơ cao gây bệnh đường sinh dục *Mycoplasma hominis* (MH); *Mycoplasma genitalium* (MG); *Trichomonas vaginalis* (TV); *Ureaplasma parvum* (UP); *Ureaplasma urealyticum* (UU); *Gardnerella vaginalis* (GV); *Human herpesvirus 1* (HSV1); *Human herpesvirus 2* (HSV2); *Treponema pallidum* (TP); *Chlamydia trachomatis* (CHT); *Neisseria gonorrhoeae* (NGN) và *Candida albicans* (CA) trong mẫu dịch phát âm đạo/nhiều đạo hoặc sinh thiết cổ tử cung bằng kỹ thuật realtime PCR dựa trên sự hiện diện của gene mục tiêu tương ứng với từng tác nhân. Bộ kit được nghiên cứu và sản xuất bởi Công ty TNHH Giải pháp Y sinh ABT, Việt Nam với chất lượng và chi phí có khả năng cạnh tranh tốt với các bộ kit của nước ngoài, tăng khả năng tiếp cận các sản phẩm “made in Vietnam”, giảm gánh nặng chi phí cho cá nhân, gia đình và hệ thống y tế.

Trong nghiên cứu này, nhóm chúng tôi thực hiện đánh giá hiệu quả chẩn đoán của bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit (ABT, Việt Nam) trên mẫu lâm sàng so với kit đối chứng nước ngoài được chứng nhận CE-IVD. Đồng thời khảo sát tỷ lệ đồng nhiễm giữa HPV và 12 tác nhân nguy cơ cao gây bệnh sinh dục kể trên.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

- Nghiên cứu sử dụng 312 mẫu dịch phết âm đạo cho xét nghiệm HPV được thu thập tại các phòng khám trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh được chia ra làm 2 đợt đánh giá. Các mẫu trên được lấy ngẫu nhiên và được thu nhận bằng tăm bông.

- Bộ kit tách chiết TopPURE® Maga Genomic DNA/RNA Extraction Kit_HI-612 (ABT, Việt Nam).

- Bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit_SQH-007 (ABT, Việt Nam).

- Bộ kit đối chứng phát hiện tác nhân gây bệnh sinh dục phổ biến được chứng nhận CE-IVD với độ nhạy chuẩn đoán và độ đặc hiệu chuẩn đoán trên 96%: Bộ kit RevoDx Sexually Transmitted Infections (STIs) Pathogen Detection Kit (Idilibiotech, Thổ Nhĩ Kỳ) và Bộ kit Care GENE STD detection kit (Wellsbio, Hàn Quốc, được Bộ Y tế Việt Nam cấp phép lưu hành loại C).

- Bộ TopSENSI® HPV qPCR Kit_SQH-103 và TopSENSI® HPV 6, 11, 16, 18 & High Risk qPCR Kit_SQH-006 (ABT, Việt Nam).

- Hệ thống tinh sạch acid nucleic NPA-32 (Gene Pure Pro) (Bioer, Trung Quốc).

- Máy realtime PCR LineGene 9600 Plus, FQD-96A (Bioer, Trung Quốc).

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện trong 2 đợt đánh giá:

Đợt 1: Thực hiện đánh giá tương quan giữa bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit với đối chứng Care GENE STD detection kit và RevoDx Sexually Transmitted Infections (STIs) Pathogen Detection Kit trên 100 mẫu dịch phết âm đạo. Ghi nhận kết quả dương tính với từng tác nhân mục tiêu của từng bộ kit. Xác minh hiệu quả chẩn đoán của bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit bằng cách đánh giá độ tương quan về kết quả phát hiện từng tác nhân mục tiêu và tổng thể xét nghiệm của từng mẫu.

Đợt 2: Đánh giá mối liên hệ giữa sự hiện diện của HPV và các tác nhân gây bệnh sinh dục nguy cơ cao khác trên 212 mẫu dịch phết âm đạo.

Phương pháp ly trích DNA

Mẫu dịch phết sau khi lấy bằng tăm bông được sử dụng cho tách chiết bằng cách ngâm và vortex kỹ trong 500 μ L TE 1X. Sau đó, 200 μ L mẫu được sử dụng cho tách chiết DNA theo hướng dẫn sử dụng của bộ kit TopPURE® Maga Genomic DNA/RNA Extraction Kit (ABT, Việt Nam). Bộ kit sử dụng phương pháp tách chiết từ tự động với nguyên lý hoạt động dựa vào liên kết chọn lọc giữa hạt từ với nucleic axit (Berensmeier S., 2006). Cuối cùng, axit nucleic tinh sạch được thu nhận và bảo quản ở -20°C để sử dụng cho các đánh giá realtime PCR.

Xét nghiệm DNA HPV

Xét nghiệm DNA HPV được thực hiện theo quy trình của bộ kit TopSENSI® HPV qPCR Kit và TopSENSI® HPV 6, 11, 16, 18 & High Risk qPCR Kit (ABT, Việt Nam) nhằm phát hiện tuýp nguy cơ cao và tuýp 06, 11. Bộ kit sử dụng kỹ thuật realtime PCR với công nghệ Taqman probe (mẫu dò Taqman) để khuếch đại và phát hiện DNA mục tiêu (John J. O'Leary *et al.*, 2003).

Xét nghiệm DNA của STD

212 mẫu sử dụng cho xét nghiệm HPV-DNA, sau đó tiếp tục được đánh giá với bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit (ATB, Việt Nam) để xác định tác nhân gây bệnh sinh dục. 12 tác nhân bao gồm: *Mycoplasma hominis* (MH); *Mycoplasma genitalium* (MG); *Trichomonas vaginalis* (TV); *Ureaplasma parvum* (UP); *Ureaplasma urealyticum* (UU); *Gardnerella vaginalis* (GV); *Human herpesvirus 1* (HSV1); *Human herpesvirus 2* (HSV2); *Treponema pallidum* (TP); *Chlamydia trachomatis* (CHT); *Neisseria gonorrhoeae* (NGN) và *Candida albicans* (CA). Các điều kiện PCR của bộ kit như sau: 1 chu kỳ: 37°C trong 2 phút, 95°C trong 30 giây; 45 chu kỳ 95°C trong 10 giây, 60°C trong 30 giây.

Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm IBM®SPSS® Statistics 22.0 x 64 bit phân tích chi bình phương và Fisher's exact để đánh giá thống kê mối liên hệ giữa các tác nhân mục tiêu với $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Đồng thời sử dụng phần mềm phân tích MedCalc Version 22.026 để đánh giá tương quan giữa chất lượng bộ kit phát hiện tác nhân

gây bệnh sinh dục phổ biến của ABT so với kit đối chứng sản xuất bởi nước ngoài. Tất cả các phương pháp thống kê được coi là có ý nghĩa với mức độ tin cậy 0,05.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đánh giá tương quan TopSENSI® STD-12 qPCR Kit với bộ kit STD khác trên thị trường

Thực hiện đánh giá tương quan bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR được nghiên cứu và sản xuất tại Việt Nam với các bộ kit đối chứng của nước ngoài, trong 100 mẫu phết âm đạo được đánh giá ở đợt 1 của nghiên cứu, ghi nhận dương tính với sự hiện diện của 11/12 tác nhân mục tiêu mà bộ kit hướng tới, ngoại trừ *T. pallidum*. Theo Cục Y tế Dự phòng, *T. pallidum* không thể tồn tại lâu dài bên ngoài cơ thể con người và thường xuất hiện với tỉ lệ cao ở nam giới (Torrone *et al.*, 2019). Nghiên cứu này thực hiện trên mẫu phết âm đạo của nữ, nên trong số mẫu thu nhận của đánh giá này không có sự hiện diện của *T. pallidum* cũng là điều hợp lý. Dựa vào kết quả phát hiện tác nhân gây bệnh qua đường tình dục của bộ kit ABT so với kit đối chứng nhằm xác nhận chất lượng và giá trị sử dụng của bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit.

Đa số các kết quả xét nghiệm bởi kit ABT và kit đối chứng trên tác nhân mục tiêu đều ghi nhận tính nhất quán cao, tỷ lệ phần trăm nhất quán dương tính, âm tính và tổng thể đều trên 90% (Bảng 1). Riêng đối với tác nhân *T. vaginalis* và *C. albicans* tỷ lệ phần trăm nhất quán tổng thể lần lượt là 86,37% (95%CI: 78,06% to 92,42%) và 82,24% (95%CI: 73,32% to 89,16%)

Bảng 1. Phân tích tính nhất quán của kết quả xét nghiệm kit ABT và kit đối chứng theo tác nhân mục tiêu

Tiêu chí Tác nhân	Tỷ lệ phần trăm nhất quán dương tính	Tỷ lệ phần trăm nhất quán âm tính	Tỷ lệ phần trăm nhất quán tổng thể
<i>M. hominis</i>	100% 95%CI*: 86,77% to 100,00%	94,59% 95%CI: 86,73% to 98,51%	97,73% 95%CI: 95,85% to 100,00%
<i>M. genitalium</i>	100% 95%CI: 63,06% to 100,00%	96,74% 95%CI: 90,77% to 99,32%	99,84% 95%CI: 96,05% to 100,00%
<i>T. vaginalis</i>	85,71% 95%CI: 42,13% to 99,64%	98,92% 95%CI: 94,15% to 99,97%	86,37% 95%CI: 78,06% to 92,42%
<i>U. parvum</i>	90,70% 95%CI: 77,86% to 97,41%	98,25% 95%CI: 90,61% to 99,96%	91,08% 95%CI: 83,69% to 95,85%
<i>U. urealyticum</i>	100,00% 95%CI: 79,41% to 100,00%	98,81% 95%CI: 93,54% to 99,97%	99,94% 95%CI: 96,38% to 100,00%
<i>G. vaginalis</i>	93,94% 95%CI: 85,20% to 98,32%	94,12% 95%CI: 80,32% to 99,28%	93,95% 95%CI: 87,33% to 97,73%
<i>C. trachomatis</i>	100,00% 95%CI: 71,51% to 100,00%	100,00% 95%CI: 95,94% to 100,00%	100,00% 95%CI: 96,38% to 100,00%
<i>N. gonorrhoeae</i>	100,00% 95%CI: 15,81% to 100,00%	100,00% 95%CI: 96,31% to 100,00%	100,00% 95%CI: 96,38% to 100,00%
<i>C. albicans</i>	81,40% 95%CI: 66,60% to 91,61%	98,25% 95%CI: 90,61% to 99,96%	82,24% 95%CI: 73,32% to 89,16%
<i>HSV1</i>	100,00% 95%CI: 2,50% to 100,00%	100,00% 95%CI: 2,50% to 100,00%	100,00% 95%CI: 96,38% to 100,00%
<i>HSV2</i>	100,00% 95%CI: 39,76% to 100,00%	100,00% 95%CI: 96,23% to 100,00%	100,00% 95%CI: 96,38% to 100,00%
<i>T. pallidum</i>	-	-	-

Chú thích: *95%CI là Khoảng tin cậy 95%. Tỷ lệ nhất quán tổng thể nằm trong khoảng từ 0% đến 100%.

Dựa trên kết quả so sánh từng mẫu xét nghiệm giữa bộ kit ABT và bộ kit đối chứng cho thấy sự tương đồng cao về khả năng chẩn đoán. Cụ thể, hai bộ kit cho kết quả trùng khớp nhau ở 84% số mẫu xét nghiệm. Khi đánh giá chung về độ chính xác, bộ kit ABT đạt tỉ lệ nhất quán là 91,46% (95%CI*: 84,17% đến 96,12%) so với bộ kit đối chứng, trong đó tỷ lệ nhất quán dương tính đạt 93,15 % (95%CI*: 84,74% đến 97,74%). Điều này cho thấy bộ kit ABT có độ tin cậy cao trong việc phát hiện các tác nhân gây bệnh. Tuy nhiên, tỷ lệ nhất quán âm tính ghi nhận chỉ đạt 59,26% (95%CI*: 38,80% đến 77,61%) (Bảng 2), dữ liệu này cần được xem xét kỹ hơn trong phần đánh giá bên dưới.

Bảng 2. Bảng so sánh kết quả xét nghiệm tổng thể của kit ABT và kit đối chứng theo từng mẫu

Xét nghiệm	Kit đối chứng		Tổng	
	Dương tính	Âm tính		
Kit ABT	Dương tính	TP = 68	FP = 11	TP+FN = 79
	Âm tính	FN = 5	TN = 16	FN+TN = 21
Tổng		TP+FN = 73	FP+TN = 27	N = 100

Trong đó: **TP**: Bộ kit ABT cho kết quả dương tính trùng khớp tất cả các tác nhân với ít nhất 1 trong 2 bộ kit đối chứng; **TN**: Bộ kit ABT cho kết quả âm tính trùng khớp với cả 2 bộ kit đối chứng; **FP**: Bộ kit ABT cho kết quả dương tính không trùng khớp với 2 bộ kit đối chứng; **FN**: Bộ kit ABT cho kết quả âm tính trong khi kit đối chứng cho kết quả dương tính ít nhất 1 tác nhân. **N**: tổng mẫu đánh giá.

Các mẫu sai lệch kết quả giữa kit ABT so với đối chứng phần lớn là mẫu có tín hiệu phát hiện ở Ct trễ (sau chu kỳ 30), điều này có thể do giới hạn phát hiện của các bộ kit là khác nhau, từ đó dẫn đến sai khác khi phân tích kết quả ở những mẫu có nồng độ mục tiêu thấp. 6 trong 11 mẫu cho kết quả dương tính không trùng khớp giữa các bộ kit do kit ABT phát hiện nhiều hơn đối chứng ít nhất 1 tác nhân, tập trung vào *G. vaginalis*, *U. parvum*, *U. urealyticum* và *M. genitalium*. Để kiểm chứng lại độ đặc hiệu của bộ kit ABT, chúng tôi tiến hành lựa chọn mẫu có kết quả trùng khớp giữa các bộ kit, sau đó thực hiện pha loãng mẫu trong TE1X. Các mẫu pha loãng được tiến hành chạy phản ứng realtime PCR với từng bộ kit nhằm ghi nhận khả năng phát hiện mục tiêu. Kết quả ghi nhận được đối với các mẫu DNA pha loãng chạy cùng kit ABT vẫn cho tín hiệu dương tính đối với các đối tượng *G. vaginalis*, *U. parvum*, *U. urealyticum* và *M. genitalium* ở nồng độ DNA thấp nhưng không ghi nhận tín hiệu ở kit đối chứng. Kết quả trên là căn cứ củng cố cho giả thuyết về nguyên nhân kit ABT phát hiện được nhiều mẫu dương hơn kit đối chứng ở một số tác nhân là do độ nhạy (giới hạn phát hiện) của bộ kit. Tuy nhiên, đối với *C. albicans*, khả năng phát hiện ở kit đối chứng tốt hơn so với kit ABT khi có một số mẫu *C. albicans* dương tính với kit đối chứng mà kit ABT không phát hiện được. Như vậy, nhìn chung, hiệu quả sử dụng của kit ABT kit là tương đối tốt với độ chính xác cao.

Xét nghiệm chẩn đoán xác định chính xác tác nhân gây bệnh là vô cùng quan trọng, giúp bác sĩ đưa ra chẩn đoán và phác đồ điều trị phù hợp, hiệu quả, tránh nhầm lẫn và điều trị sai các tác nhân gây bệnh có biểu hiện lâm sàng tương đồng, hạn chế tình trạng sử dụng kháng sinh bừa bãi, góp phần bảo tồn hiệu quả của kháng sinh. Xét nghiệm có độ nhạy tốt cho phép phát hiện căn nguyên ở giai đoạn đầu, giúp can thiệp sớm, ngăn ngừa biến chứng và lây truyền cho người khác, góp phần kiểm soát, phòng ngừa dịch bệnh.

Các xét nghiệm chẩn đoán có thể được chia thành ít nhất 3 loại khác nhau: phát hiện trực tiếp, phát hiện thông qua phản ứng của vật chủ hoặc phát hiện chất chuyển hóa. Trong đó, việc phát hiện trực tiếp sự hiện diện của các vi sinh vật mục tiêu thông qua kính hiển vi với sự hỗ trợ của thuốc nhuộm hoặc soi tươi hiện đang là phương pháp chính trong chẩn đoán xác định phát hiện tác nhân gây bệnh sinh dục nguy cơ cao. Mặc dù xét nghiệm trực tiếp có chi phí thấp, dễ dàng thực hiện tại cơ sở y tế, không đòi hỏi sự hỗ trợ của công nghệ cao nhưng hạn chế về độ nhạy, độ đặc hiệu và một số tác nhân gây bệnh khó soi hoặc nhuộm tế bào (HPV, HSV...). Vì vậy, xét nghiệm phân tử, đặc biệt là realtime PCR là phương pháp thay thế tiềm năng trong hỗ trợ chẩn đoán xác định ở những giai đoạn đầu, với nồng độ tác nhân thấp, hiệu quả chẩn đoán cao. Bộ TopSENSI® STD-12 qPCR Kit của ABT, ngoài đạt được chất lượng tốt, tương quan cao về hiệu quả chẩn đoán so với các bộ kit đối chứng được sản xuất bởi nước ngoài và được công nhận tại thị trường châu Âu (CE-IVD), bộ kit còn khắc phục tồn đọng liên quan đến giá thành của phương pháp do được nghiên cứu và sản xuất tại Việt Nam, mang lại nhiều lợi ích lớn về phía cá nhân người bệnh, gia đình và nguồn lực y tế.

Đánh giá sự đồng nhiễm HPV và STD trên mẫu xét nghiệm HPV ở phụ nữ

Tiếp tục triển khai nghiên cứu đợt 2 trên 212 mẫu dịch tiết (n = 212), mẫu được tách chiết thu nhận DNA và tiến hành xét nghiệm định tính DNA-HPV và 12 tác nhân STD, trong đó có 180 mẫu (84,5%) cho tín hiệu dương tính đối với HPV và 172 mẫu (80,8%) cho tín hiệu dương tính đối với ít nhất 1 tác nhân STD. Có 152 mẫu (71,4%) cho kết quả dương tính với HPV và STD; 28 mẫu (13,1%) dương tính với HPV nhưng không cho tín hiệu dương tính với tác nhân nào của STD và 20 (9,4%) mẫu phát hiện dương tính ít nhất với 1 tác nhân STD nhưng âm tính với HPV (Bảng 3).

Bảng 3. Tổng hợp kết quả xét nghiệm HPV và STD

			HPV		Total
			(-)	(+)	
STD	(-)	Count	12	28	40
		% of Total	5.7%	13.2%	18.9%
	(+))	Count	20	152	172
		% of Total	9.4%	71.7%	81.1%
Total	Count	32	180	212	
	% of Total	15.1%	84.9%	100.0%	

CÔNG NGHỆ SINH HỌC Y DƯỢC

Kết quả 212 mẫu trên được tiến hành kiểm định chi bình phương (χ^2) bằng phần mềm SPSS để đánh giá mối liên hệ giữa bệnh nhân nhiễm HPV với các tác nhân STD. Với giả thiết H_0 là HPV và STD không liên quan đến nhau; H_1 : HPV và STD có mối liên quan với nhau, giá trị sau khi phân tích là $\chi^2 = 8,547$, $p = 0,003$ ($p < 0,05$). Vì vậy bác bỏ giả thiết H_0 , chấp nhận giả thiết H_1 : Bệnh nhân nhiễm HPV và STD có mối liên hệ chặt chẽ với nhau. Trong đó, các trường hợp dương tính với HPV sẽ cho kết quả STD (+) cao gấp 5,4 lần so với các trường hợp STD (-), bất kể tác nhân vi sinh vật gây bệnh nào. Với trường hợp nhiễm ít nhất 1 tác nhân STD, tỉ lệ HPV (+) cao gấp 7,6 lần so với HPV (-).

Bên cạnh đó, nghiên cứu ghi nhận rằng, trong tổng số 212 mẫu dịch phết, *Gardnerella vaginalis* là tác nhân có tần suất xuất hiện nhiều nhất (39,82%), tiếp theo là *Ureaplasma parvum* và *Candida albicans* với tỉ lệ phát hiện lần lượt là 25,66% và 15,34% (Bảng 4). Ngoài ra, không ghi nhận tín hiệu với các tác nhân *Neisseria gonorrhoeae*, *Human herpesvirus 1* và *Treponema pallidum*.

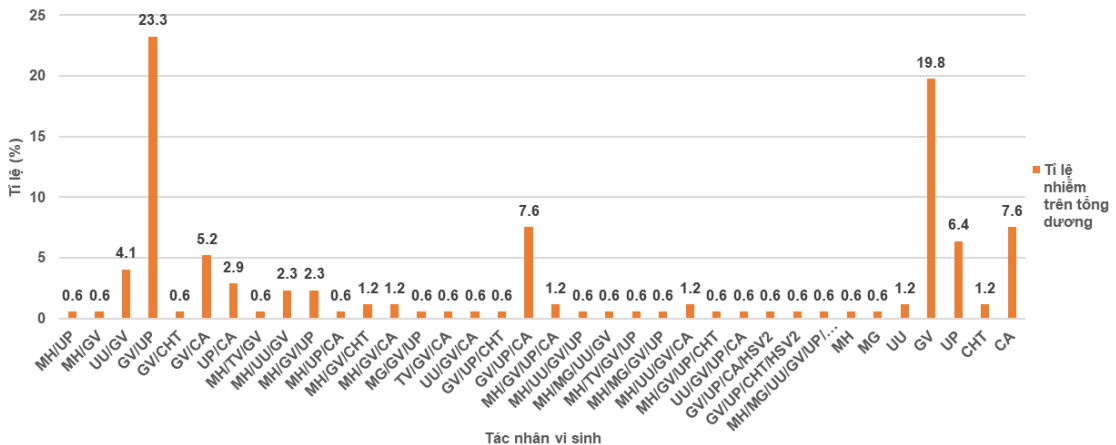
Bảng 4. Số mẫu xét nghiệm dương tính/âm tính với từng loại mầm bệnh lây truyền qua đường tình dục STD đợt 2

Tác nhân	Dương tính (+)		Âm tính (-)		Tần suất nhiễm bệnh
	Mẫu	%	Mẫu	%	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	135	63,40%	78	36,60%	39,82%
<i>Ureaplasma parvum</i>	87	40,80%	126	59,20%	25,66%
<i>Candida albicans</i>	52	24,40%	161	75,60%	15,34%
<i>Mycoplasma hominis</i>	27	12,70%	186	87,30%	7,96%
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	20	9,40%	193	90,60%	5,90%
<i>Chlamydia trachomatis</i>	8	3,80%	205	96,20%	2,36%
<i>Mycoplasma genitalium</i>	5	2,30%	208	97,70%	1,47%
<i>Trichomonas vaginalis</i>	3	1,40%	210	98,60%	0,88%
<i>Human herpesvirus 2</i>	2	0,90%	211	99,10%	0,59%

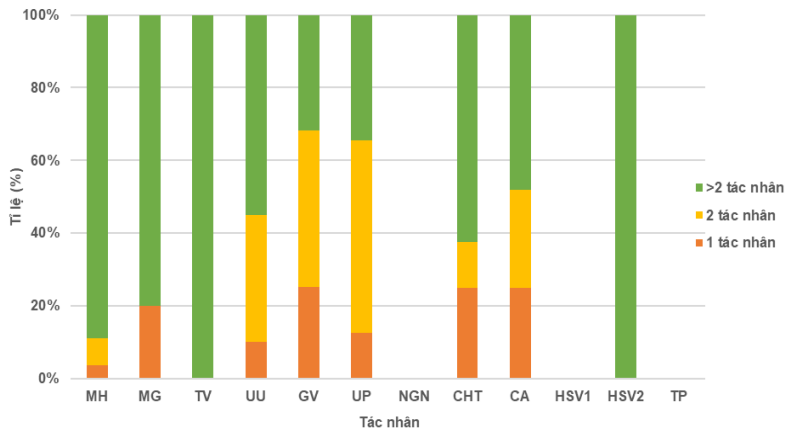
**Neisseria gonorrhoeae*, *Human herpesvirus 1*, *Treponema pallidum*: không có mẫu dương tính

Các nghiên cứu trước đây cũng ghi nhận rằng có sự liên quan đáng kể về tình trạng của hệ vi sinh âm đạo, tỷ lệ vi sinh vật gây nhiễm trùng lây truyền qua đường tình dục gia tăng ở phụ nữ bị viêm âm đạo (BV). Trong đó *G. vaginalis* được xem là tác nhân đóng vai trò chính trong cơ chế gây bệnh BV. Đây là vi khuẩn xâm lấn ban đầu của biểu mô âm đạo do khả năng bám dính, gây độc tế bào và xu hướng hình thành màng sinh học cao hơn (so với các vi khuẩn liên quan đến BV khác) và tác động như một cầu nối, thu hút và hỗ trợ các loài khác sau đó có thể trú ngụ vào và gây bệnh (Kairys et al., 2023). *Ureaplasma parvum* và *Candida albicans* làm tăng nguy cơ nhiễm các loại HPV gây ung thư và có thể làm tăng sự tồn tại của một số loại HPV (Vriend et al., 2015).

Tỷ lệ đồng nhiễm khác nhau tùy theo tác nhân lây truyền qua đường tình dục, tỉ lệ đồng nhiễm dao động từ 75% đến 100%. Trong đó, mầm bệnh phổ biến nhất là *Gardnerella vaginalis/Ureaplasma parvum* (23,3%), *Gardnerella vaginalis* (19,8%) (Biểu đồ 1). *M. hominis*, *U. parvum*, *U. urealyticum* có tỷ lệ nhiễm đơn lẻ thấp và tỷ lệ đồng nhiễm cao. Những mẫu nhiễm *M. hominis*, *T. vaginalis*, *HSV2* đều bị đồng nhiễm với hơn hai tác nhân gây bệnh trở lên (Biểu đồ 2).



Biểu đồ 1. Tổng hợp tỉ lệ phát hiện bệnh của mỗi tác nhân gây lây truyền qua đường sinh dục



Biểu đồ 2. Tỷ lệ đồng nhiễm theo từng tác nhân gây bệnh

Dữ liệu của nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả trong các nghiên cứu trước đó. Một nghiên cứu khác của Shipitsyna và đồng tác giả (2020), ghi nhận mối liên hệ đáng kể không phụ thuộc vào độ tuổi giữa viêm âm đạo liên quan đến vi khuẩn gây viêm và sự hiện diện của *M. hominis*, *T. vaginalis* và *C. trachomatis*. Dữ liệu trong nghiên cứu này không ghi nhận trường hợp *N. gonorrhoeae* và *T. pallidum* nào được phát hiện. Điều này phù hợp với loại mẫu được sử dụng cho đánh giá (phết âm đạo ở nữ) và công tác kiểm soát, điều trị hiện tại đã làm giảm tỷ lệ nhiễm các vi sinh vật lây truyền qua đường tình dục liên quan đến lậu và giang mai. Việc nắm bắt được xu hướng đồng nhiễm các tác nhân là tư liệu hữu ích cho xây dựng phát đồ điều trị hiệu quả đa tác nhân, tăng hiệu quả sử dụng thuốc và rút ngắn thời gian chữa trị. Các dữ liệu ghi nhận từ khảo sát tần số xuất hiện và tỷ lệ đồng nhiễm các tác nhân cung cấp thêm thông tin cho các cơ quan dịch tễ hoặc các đơn vị liên quan.

KẾT LUẬN

Bộ kit TopSENSI® STD-12 qPCR Kit (ABT, Việt Nam) đạt chất lượng và hiệu quả phát hiện mục tiêu tương đương với các bộ kit nước ngoài (CE-IVD) có cùng mục đích sử dụng. Trong 100 mẫu lâm sàng được dùng để so sánh giữa các bộ kit xét nghiệm 12 tác nhân nguy cơ cao gây bệnh đường sinh dục đợt 1, 10/12 tác nhân có tỷ lệ phần trăm nhất quán tổng thể trên 90%; tỷ lệ phần trăm nhất quán tổng thể theo sự trùng khớp hoàn toàn theo từng mẫu xét nghiệm (đúng và đủ tất cả tác nhân trong mẫu) giữa kit ABT với kit đối chứng là 91,46% (95%CI*: 84,17% đến 96,12%), trong đó, tỷ lệ phần trăm nhất quán dương tính là 93,15 % (95%CI*: 84,74% đến 97,74%). Những kết quả này chứng minh tiềm năng của Bộ xét nghiệm TopSENSI® STD-12 qPCR (ABT) như một công cụ có giá trị để cải thiện hiệu quả chẩn đoán và phòng ngừa STD. Đồng thời nghiên cứu này cũng đóng góp thêm thông tin về mức độ đồng nhiễm HPV với STD vào cơ sở dữ liệu lâm sàng cùng với các nghiên cứu trước đó. Thông qua phân tích thống kê chi bình phương ghi nhận mối tương quan chặt chẽ giữa HPV và STD với giá trị $\chi^2 = 8,547$ ($p = 0,003$). Ngoài ra, nghiên cứu ghi nhận *Gardnerella vaginalis* là tác nhân có tần suất xuất hiện nhiều nhất (39,82%), tiếp theo là *Ureaplasma parvum* (25,66%) và *Candida albicans* (15,34%). *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum* có tỷ lệ nhiễm đơn lẻ thấp và tỷ lệ đồng nhiễm cao. Những mẫu dương tính *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Human herpesvirus 2* đều bị đồng nhiễm với hơn hai tác nhân gây bệnh. Xác suất và tỷ lệ đồng nhiễm tùy thuộc vào tác nhân gây bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Berensmeier S (2006). Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids. *Appl Microbiol Biotechnol*, 73(3), 495-504. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0675-0>.
- Cục Y tế Dự phòng (2016). BỆNH GIANG MAI (Syphilis). <https://vncdc.gov.vn/benh-giang-mai-nd14525.html>
- Kairys N, Carlson K, Garg M. Vaginalis G. [Updated 2023 Nov 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
- O'Leary JJ, Sheils O, Martin C, et al., Crocker J, Murray PG (2003). TaqMan® technology and realtime polymerase chain reaction. *Molecular biology in cellular pathology*. Chichester John Wiley & Sons, Ltd: 251-268.
- Shipitsyna E, Khusnutdinova T, Budilovskaya O, Krysanova A, Shalepo K, Savicheva A, Unemo M (2020). Bacterial vaginosis-associated vaginal microbiota is an age-independent risk factor for Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium and Trichomonas vaginalis infections in low-risk women, St. Petersburg, *Russia Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 39, 1221–1230.
- Torrone EA, Miller WC (2018). Congenital and Heterosexual Syphilis: Still Part of the Problem. *Sexual Trans Dis*, 45(9S), S20-S22. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000837>
- United Nations Viet Nam (2020). VN032 - National consultant for revision and update of national guidelines on diagnosis and treatment of sexual transmitted infections. <https://vietnam.un.org/en/91238-vn032-national-consultant-revision-and-update-national-guidelines-diagnosis-and-treatment>.

EVALUATION OF THE QUALITY OF THE TOPSENSI®STD-12 qPCR KIT AND ITS APPLICATION IN ASSESSING HPV COINFECTION WITH STD AGENTS IN HPV TEST SAMPLES

Phan Thi Ngoc Diem, Nguyen Duy Khanh^{*}, Do Ngoc Diem Truc, Truong Gia Hung, Mai Hoang Khanh Chi

ABT Biological Solutions Co., Ltd – Long Hau Branch, Vietnam

SUMMARY

Sexually transmitted diseases (STDs) are a health concern worldwide. Thus, finding a method to identify sexually transmitted pathogens that are of good quality and reasonably priced plays an important role in supporting the diagnosis, treatment, and prevention of these diseases. This can contribute to protecting public health and reducing related medical burdens. The research team evaluated the quality of the TopSENSI® STD-12 qPCR Kit (ABT), a Vietnamese-made kit for detecting 12 common sexually transmitted pathogens using realtime PCR, and applied it to assess the co-infection of STDs with HPV. Compared with other foreign kits (CE-IVD) that have the same features and purpose of use, this kit has equivalent quality and diagnostic efficiency. The results show that 10/12 target pathogens have an overall consistency percentage of over 90%; The overall consistency percentage according to the complete match between the ABT kit and the control kit was 91.46% (95%CI*: 84.17% to 96.12%) with the consistent positive percentage according to the test sample was 93.15% (95%CI*: 84.74% to 97.74%). These results demonstrate the potential of the ABT TopSENSI® STD-12 qPCR Kit as a valuable tool for improving STD diagnosis and prevention. Besides, this study also contributed information about the level of co-infection between HPV and STIs to the existing clinical database from previous studies. Through the statistical analysis of chi-square, a strong correlation was recorded between HPV and sexually transmitted agents with a value of $\chi^2 = 8.547$ ($p = 0.003$). In addition, the study recorded that *Gardnerella vaginalis* was the agent with the highest frequency of occurrence (39.82%), followed by *Ureaplasma parvum* (25.66%) and *Candida albicans* (15.34%). The above data may be explained by the similar characteristics and transmission routes of these pathogens, coupled with the diverse and potentially high-risk population sampled.

Keywords: Sexually Transmitted Diseases, co-infection, HPV, realtime PCR, STD, STIs.

^{*} Author for correspondence: Tel: 0938647377; Email: ndkhanh@abt-vn.net