

# ÁP DỤNG KỸ THUẬT PCR TRONG CHẨN ĐOÁN NHIỄM CHLAMYDIA TRACHOMATIS ĐƯỜNG SINH DỤC TIẾT NIỆU

TRẦN HỮU KHANG, PHẠM NGUYỄN B. NG, LÊ HUYỀN MY  
Viện Da Liễu học gia

## TỔNG QUÁT

*Chlamydia trachomatis* (CT) là một trong các nguyên nhân thường gặp nhất gây nhiễm trùng niệu ở nam và nhiễm trùng âm đạo ở nữ. Nhiễm CT có thể dẫn đến các hậu quả nghiêm trọng về sức khỏe sinh sản. Do đó, nhiễm *C. trachomatis* ngày càng trở thành một vấn đề y tế và xã hội quan trọng. Các nghiên cứu trên thế giới, số bệnh nhân mắc các bệnh lây truyền qua đường tình dục có bệnh là do CT. Việt Nam ngày càng tăng (1,2). Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu quy mô lâm sàng liên quan tới các yếu tố nguy cơ nhiễm CT và các yếu tố liên quan tới các yếu tố Việt Nam. Gần đây, kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) được áp dụng tại Viện Da Liễu học gia để làm tăng tính chính xác của xét nghiệm chẩn đoán *C. trachomatis*. Việc áp dụng PCR vào chẩn đoán nhiễm CT sẽ giúp phát hiện và điều trị bệnh sớm, tránh biến chứng. Vì vậy, chúng tôi nghiên cứu tài liệu này nhằm mục đích:

- Xác định hiệu quả và chi phí của PCR trong chẩn đoán nhiễm *C. trachomatis* đường sinh dục tiết niệu.

- So sánh chẩn đoán *C. trachomatis* đường sinh dục tiết niệu bằng PCR với phương pháp miễn dịch serologic.

- Xác định các yếu tố nguy cơ nhiễm *C. trachomatis* đường sinh dục tiết niệu xuất phát từ các cách tiếp cận xét nghiệm bằng PCR.

## LIÊN QUAN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Các bệnh nhân trên 15 tuổi khám tại phòng khám Viện Da Liễu từ tháng 8/2006 đến tháng 11/2006 có biểu hiện nhiễm trùng niệu hoặc nhiễm trùng âm đạo.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

+ PCR:

- Bệnh nhân là đối tượng nam (đối với bệnh nhân nam) và đối tượng nữ (đối với bệnh nhân nữ) nhập viện vào bệnh viện.

- Tách DNA bằng Qiamp DNA Mini Kit của hãng Qiagen.

- Chẩn đoán nhiễm *C. trachomatis* bằng kỹ thuật PCR với các primers KL1-KL2 và T1-T2. Bệnh nhân được khẳng định là nhiễm *C. trachomatis* khi có 2 sản phẩm cho kết quả dương tính.

- + Kỹ thuật miễn dịch serologic sử dụng que thử và dung môi xét nghiệm Hexagon của hãng Human.

- + Phân vùng bệnh nhân xác định các yếu tố nguy cơ.

## 3. Xếp loại

Các biến ngẫu nhiên có mô tả độc lập trong mẫu. So sánh sự khác biệt về các biến ngẫu nhiên hai hay nhiều nhóm bằng test  $\chi^2$ . Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê nếu  $P < 0,05$ .

## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 1. Hiệu quả và chi phí của PCR

Trong số 555 bệnh nhân có biểu hiện viêm đường sinh dục tiết niệu được làm xét nghiệm vi PCR với các primers KL1-KL2 có 91 bệnh nhân dương tính.

Khi nghiên cứu bệnh nhân dương tính với CT, chúng tôi sử dụng các primers T1-T2. Các primers này nhận diện một đoạn gen dài 200bp của Plasmid của CT.

Đoạn gen này được enzyme giới hạn MspI cắt thành 2 đoạn dài 126bp và 74bp. Chỉ có 90 bệnh nhân dương tính với các primers T1-T2.

Như vậy sau khi chẩn đoán bằng 2 các primers riêng biệt, chúng tôi xác định có 90 bệnh nhân nhiễm CT trong số 555 bệnh nhân nghiên cứu, chiếm 16,2%. Kết quả trình bày bảng 1.

Bảng 1: Kết quả PCR chẩn đoán CT

	T1-T2	Dương tính	Âm tính	Tổng cộng
KL1-KL2				
Dương tính		90	1	91
Âm tính		0	464	464
Tổng cộng		90	465	555

So với các phương pháp khác đã sử dụng Viện Da Liễu học gia trước đây thì PCR cho kết quả chẩn đoán cao hơn một cách có ý nghĩa (1,2). Ảnh hưởng về hiệu quả và chi phí của PCR, chúng tôi đã áp dụng phương pháp của các tác giả trên thế giới thì kết quả là so sánh với một phương pháp PCR sử dụng các primers khác (6). Phương pháp này của CDC khuyến cáo sử dụng (4). Khi so sánh PCR sử dụng các primers T1-T2, phương pháp PCR sử dụng các primers KL1-KL2 có hiệu quả 100% (phát hiện có 90 bệnh nhân) và chi phí là 99,8% (âm tính trong 464/465 người không bệnh). Hiệu quả và chi phí trong phương pháp PCR của chúng tôi cao hơn so với các phương pháp đã công bố (5).

2. So sánh kết quả của PCR và miễn dịch serologic (MDSK)

225 bệnh nhân được làm 2 xét nghiệm MDSK và PCR với các primers KL1-KL2. Kết quả cho thấy hiệu quả và chi phí của phương pháp MDSK so với PCR là như sau: hiệu quả là 74,4% (phát hiện có 29 trong số 39 bệnh nhân PCR dương tính) và chi phí là 71,0% (âm tính 132/186 bệnh nhân có PCR âm tính). Kết quả xác định bảng 2.

Bảng 2: Kết quả xét nghiệm MDSK và PCR với

KL1-KL2

T1-T2 KL1-KL2	D ạng tính	Âm tính	T ổng c ộng
D ạng tính	29	10	39
Âm tính	54	132	186
T ổng c ộng	83	142	225

Ph ương pháp MDSK ăng c s d ạng r ăng r ầu ch ỉ n ạo n ội m ột CT. Đây là xét nghi ệm n ội n, d ịch c ỉ n, r ất n. Tuy nhiên xét nghi ệm này s ố s ố nh ữ b ộ nh ữ n ữ và cho k ết q ủa chính xác th ực (2,7).

Chính vì v ậy hi ện nay nh ữ phòng xét nghi ệm không s ố d ạng xét nghi ệm này ch ỉ n ạo n ội CT n ữ a.

**3. Các y ếu t ố nguy ệ c ố liên quan t ới nh ữ m ột CT**

Chúng tôi xem xét các y ếu t ố có liên quan n ữ nh ữ m ột *C.trachomatis* chung cho c ả hai gi ới. N ữ u ố s ố khác bi ệt có ý ngh ĩa th ực kê v ề t ỷ l ệ nh ữ m ột *C.trachomatis* hai nhóm b ộ nh ữ n ữ có hay không có m ột y ếu t ố th ực y ếu t ố ó c ố coi là y ếu t ố nguy ệ c ố. i ể v ề các y ếu t ố mà s ố khác bi ệt không có ý ngh ĩa th ực kê khi xét chung c ả hai gi ới, chúng tôi xét riêng t ừng gi ới xem li ều u ố các y ếu t ố ó c ố làm t ăng t ỷ l ệ nh ữ m ột *C.trachomatis* m ột gi ới nào ó không. K ết q ủa nh ữ sau:

B ảng 3. K ết q ủa xét nghi ệm CT PCR theo gi ới t ính

Gi ới tính	K ết q ủa PCR		T ổng c ộng
	Âm tính	D ạng tính	
Nam	281 (80,3%)	69 (19,7%)	350 (100%)
N	184 (89,8%)	21 (10,2%)	205 (100%)
T ổng s	465 (83,8%)	90 (16,2%)	555 (100%)

Ngoài v ề c ả nam gi ới chi ếm t ỷ l ệ cao trong t ổng s ố b ộ nh ữ n ữ, t ỷ l ệ nh ữ m ột CT c ả nam gi ới c ố ng cao h ữ n so v ề i ể gi ới là 19,7% so v ề i 10,2%. S ố khác bi ệt này là có ý ngh ĩa th ực kê (P < 0,01). K ết q ủa c ả chúng tôi c ố ng phù h ợp v ề i m ột nghi ệm c ố n ữ b ộ nh ữ k ết q ủa PCR và m ột nghi ệm c ố M b ộ nh ữ k ết q ủa LCR (ligase chain reaction) u ố cho th ực y ết l ệ nh ữ m ột *C.trachomatis* b ộ nh ữ n ữ nam cao h ữ n b ộ nh ữ n ữ. S ố khác bi ệt này có l ệ do n ữ có r ất nh ữ u ố nguyên nh ữ n ữ gây t ỷ d ịch âm ộ, trong ó có m ột t ỷ l ệ b ộ nh ữ viêm âm ộ v ề i khu ực.

B ảng 4. K ết q ủa xét nghi ệm CT PCR theo tình tr ạng hôn nh ữ n

Hôn nh ữ n	K ết q ủa PCR		T ổng c ộng
	Âm tính	D ạng tính	
c ả thân	121 (74,2%)	42 (25,8%)	163 (100%)
Có gia ỡnh	341 (87,7%)	48 (12,3%)	389 (100%)
ã l ệ d	3 (100%)	0 (0%)	3 (100%)
T ổng s	465 (83,8%)	90 (16,2%)	555 (100%)

Nhóm b ộ nh ữ n ữ c ả thân, t ỷ l ệ PCR CT d ạng tính cao h ữ n h ữ n nhóm b ộ nh ữ n ữ có gia ỡnh là 25,8% so v ề i 12,3%. S ố khác bi ệt này có ngh ĩa th ực kê (P < 0,01).

B ảng 5. K ết q ủa xét nghi ệm CT PCR theo các

nhóm tu ổi b ộ nh ữ n ữ n

Nhóm tu ổi (n=207)	K ết q ủa PCR		T ỷ d ịch tính
	Âm tính	D ạng tính	
≤ 25	33	13	28,3%
>25	151	8	5,0%

T ỷ l ệ nh ữ m ột CT nhóm tu ổi d ưới 25 là 28,3% cao h ữ n có ý ngh ĩa th ực kê so v ề i nhóm tu ổi trên 25 là 5% (P < 0,01). K ết q ủa c ả chúng tôi t ừng ng ữ v ề i m ột nghi ệm c ố trên 3.860 ph ần trong tu ổi 12-60 M ột n ữ khám t ỷ các phòng khám hoa li ều và phòng khám k ết q ủa hoá gia ỡnh b ộ nh ữ k ết q ủa PCR có t ỷ l ệ nh ữ m ột *C.trachomatis* l ệ a tu ổi d ưới 25 cao h ữ n h ữ l ệ a tu ổi trên 25 (13,8% so v ề i 3,3%) [3].

i ể v ề các b ộ nh ữ n ữ nam, k ết q ủa c ả chúng tôi c ố ng gi ới ng ữ v ề i k ết q ủa c ả các nghi ệm c ố trên th ực gi ới l ệ u ố t ỷ i ể không có liên quan n ữ t ỷ l ệ nh ữ m ột *C.trachomatis*. Do ó, nh ữ u ố tác gi ới khuy ể n ữ cáo nh ữ sàng l ệ th ực quy ể v ề i *C.trachomatis* cho m ột i ể ph ần d ưới 25 tu ổi.

B ảng 6. K ết q ủa xét nghi ệm CT PCR theo tính ch ết d ịch t ỷ b ộ nh ữ n ữ nam

Tính ch ết d ịch (n=240)	K ết q ủa PCR		T ổng c ộng
	Âm tính	D ạng tính	
Trong	129 (83,8%)	25 (16,2%)	154 (100%)
c	62 (72,1%)	24 (27,9%)	86 (100%)
T ổng s	191 (79,6%)	49 (20,4%)	240 (100%)

Trong các b ộ nh ữ n ữ nam có d ịch t ỷ t ỷ c ả t ỷ l ệ nh ữ m ột CT là 27,9%, cao h ữ n nhóm b ộ nh ữ n ữ có d ịch t ỷ t ỷ trong là 16,2%. S ố khác bi ệt t ỷ này có ý ngh ĩa th ực kê (P < 0,05).

B ảng 7. K ết q ủa xét nghi ệm CT PCR theo tri ệu ch ết ng ữ th ực b ộ nh ữ n ữ nam

Tri ệu ch ết ng ữ th ực (n=241)	K ết q ủa PCR		T ổng c ộng
	Âm tính	D ạng tính	
Không viêm	95 (85,6%)	16 (14,4%)	111 (100%)
Có viêm	97 (74,6%)	33 (25,4%)	130 (100%)
T ổng s	192 (79,7%)	49 (20,3%)	241 (100%)

i ể v ề các b ộ nh ữ n ữ nam có viêm quy ể u, t ỷ l ệ nh ữ m ột CT là 25,4%, cao h ữ n so v ề i nhóm b ộ nh ữ n ữ không có viêm là 14,4%. S ố khác bi ệt t ỷ này có ý ngh ĩa th ực kê (P < 0,05).

**K ẾT LU ẬN**

- nh ữ y ết và c ả hi ệu c ả PCR s ố d ạng c ố p m ột KL1-KL2 ch ỉ n ạo n ội m ột CT ng ữ sinh d ịch t ỷ t ỷ n ữ u ố là 100% và 99,8%.

- nh ữ y ết và c ả hi ệu c ả ph ương pháp m ột d ịch s ố c ố ký (so sánh v ề i PCR s ố d ạng c ố p m ột KL1-KL2) trong ch ỉ n ạo n ội m ột CT ng ữ sinh d ịch t ỷ t ỷ n ữ u ố là 74,4% và 71,0%.

- Các y ếu t ố nguy ệ c ố có liên quan t ỷ nh ữ m ột CT ng ữ sinh d ịch t ỷ t ỷ n ữ u ố là: Nam gi ới, viêm bao qui ể u, có d ịch t ỷ t ỷ c, n ữ gi ới d ưới 25 tu ổi, s ố ng ữ c ả thân.

## SUMMARY

We developed a Polymerase Chain Reaction (PCR) assay with primers KL1-KL2 and T1-T2 for detection of urogenital tract infections of Chlamydia Trachomatis (CT). The results showed that among 555 (350 males and 205 females) with discharges from urogenital tract tested, 90 (16.2%) was positive by CT PCR with both primers KL1-KL2 and T1-T2. The sensitivity of PCR (KL1-KL2) for CT was 100% (90/90 specimens) and the specificity of PCR was 99.8% for CT (464/465 specimens). The sensitivity and specificity of Chromatographic immuno assay for CT in comparison with PCR were 74.4% and 71.0% respectively.

Keywords: PCR, KL1-KL2, Chlamydia Trachomatis.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Di p Xuân Thanh (1999), Tình hình nhiễm trùng sinh dục do lậu cầu và chlamydia trachomatis tại Viện Da Liễu 2 năm 1997-1998, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.
2. Nguyễn Thị Ngọc Yến, Trần Hữu Khang (2002),

hiệu quả điều trị nhiễm trùng sinh dục do Chlamydia trachomatis bằng Zithromax, Y học thực hành, 471(3), 27-29.

3. Burstein G.R. et al (2001), Predictors of repeat Chlamydia trachomatis infections diagnosed by DNA amplification testing among inner city females, Sex. Transm. Inf., 77, 26-32.

4. Center for Diseases Control and Prevention. Recommendation for the prevention and management of Chlamydia trachomatis infections 1993, MMWR 42 (No.RR-12).

5. George J.A. et al (2003), Evaluation of diagnostic efficacy of PCR methods for Chlamydia trachomatis infection in genital and urine specimens of symptomatic men and women in India, Jpn. J. Infect. Dis., 56, 88-92.

6. Mahony J.B et al (1992), Confirmatory PCR testing for Chlamydia trachomatis in First-Void Urine from Symptomatic. Men, J. Clin. Microbiol, 30 (9), 2241-45.

7. Paavonen J. et al (1999), Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction, Human Reproduction Update, 5(5), 433-447.