

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU VỀ ĐỊNH TYPE HCV TRÊN BỆNH NHÂN VIÊM GAN VIRUS C TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA TRUNG ƯƠNG CẦN THƠ

TRẦN NGỌC DUNG, CAO THỊ TÀI NGUYÊN,
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ
NGUYỄN THỊ HUỲNH NGA, BVĐKTƯ Cần Thơ

TÓM TẮT

Định type HCV trên 85 bệnh nhân có HCVRNA (+) tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR. Sau đó, chọn 6 BN để kiểm chứng lại genotype và dưới genotype bằng phương pháp giải trình tự gen. Kết quả nghiên cứu cho thấy các type HCV gây bệnh là: type 1 (47,1%), type 6 (25,9%), type 2 (21,6%) và đồng nhiễm HCV type 1 và 6 (5,8%). Định type HCV bằng kỹ thuật realtime RT-PCR là khá chính xác. Ngoài ra, phương pháp giải trình tự gen còn cho biết thêm các subtype ở 6 bệnh nhân nhiễm HCV là 1b, 2c, 6a, 6e và đồng nhiễm 1b/6e.

Từ khóa: Định type HCV, HCVRNA (+)

SUMMARY

THE FIRST RESULTS OF HCV TYPING ON HEPATITIS C VIRUS PATIENTS IN CANTHO CENTRE GENERAL HOSPITAL

Using realtime RT-PCR assay to type the HCV genotype on 85 patients with HCVRNA (+), there are 6 sample have been checked the result by the sequencing technique. The first result showed that: The type of HCV have been found type 1 (47,1%), type 6 (25,9%), and type 2 (21,6%), there is 5,8% the co-infection between type 1 and type 6 on the patient. There is the similar result between Realtime RT-PCR assay and Sequencing

technique on typing HCV genotype. Moreover, we have been known the result subtype of HCV by sequencing technique, it is 1b, 2c, and co-infection 1b/6e.

Keywords: type the HCV, HCVRNA (+)

ĐẶT VẤN ĐỀ

Các xét nghiệm miễn dịch hiện nay cho phép phát hiện phần lớn trường hợp nhiễm HCV mạn tính nhưng hoàn toàn không hiệu quả trong giai đoạn “cửa sổ”. Một số kỹ thuật phân tử như Realtime PCR vừa cho phép xác định chính xác nồng độ HCVRNA trong máu, vừa cho phép xác định chính xác các type HCV, phục vụ hữu hiệu cho việc tiên lượng bệnh, chỉ định và theo dõi điều trị.

Việc xác định nồng độ HCVRNA trong cơ thể và type HCV gây bệnh sẽ cung cấp các thông tin cần thiết giúp cho việc quyết định phác đồ và thời gian điều trị.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài “Khảo sát type và subtype HCV trên BN viêm gan virus C tại Bệnh viện đa khoa Trung ương Cần Thơ” nhằm các mục tiêu sau:

1. Xác định type HCV gây bệnh trên bệnh nhân viêm gan siêu vi C tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR.

Kiểm chứng sự chính xác về định type HCV giữa kỹ thuật Realtime RT-PCR và phương pháp giải trình tự gen

ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

85 BN viêm gan siêu vi C có HCVRNA (+), được điều trị tại Bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ từ tháng 01/2009 đến tháng 08/2010.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang

Phương tiện nghiên cứu

- Kit xét nghiệm: HCV realtime RT-PCR định type
- Thiết bị định type HCV: Máy Mx3000 Stragenatic

Phản ứng Realtime RT-PCR sử dụng mẫu dò Taqman đặc hiệu cho các type HCV 1, 2, 3 và 6 được đánh dấu huỳnh quang. Trong tube^{ivA}HCV Type 1-6 rPCR Mix, probe phát hiện type 1 được đánh dấu với màu HEX, probe phát hiện type 6 được đánh dấu với màu FAM. Trong tube^{ivA}HCV Type 2-3 rPCR Mix, probe phát hiện type 2 được đánh dấu với màu FAM, probe phát hiện type 3 được đánh dấu với màu HEX.

Chọn màu FAM và HEX cho tất cả các mẫu, chứng dương và chứng âm

- Số liệu thu được phân tích bằng phần mềm SPSS 13.0

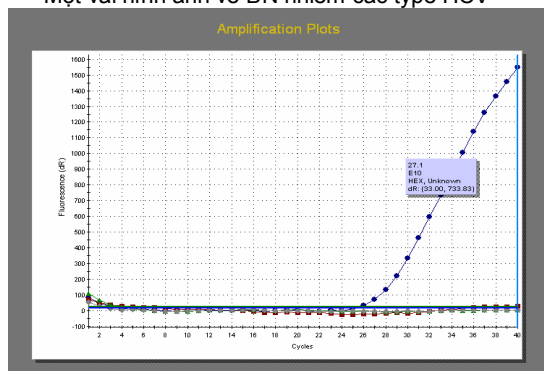
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bảng 1. Kết quả định type HCV trên 85 BN bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR

Type HCV (copies/ml)	Realtime RT-PCR	
	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
1	40	47,1
2	18	21,2
6	22	25,9
Đồng nhiễm type 1 & 6	5	5,8
Tổng	85	100

Nhận xét: Type 1 chiếm tỷ lệ cao nhất (47,1%); kế đó là type 6 (25,9%) và type 2 chiếm tỷ lệ thấp hơn (21,2%). Tỷ lệ BN đồng nhiễm type 1 và 6 chiếm 5,8%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Huỳnh Văn Trương và cs năm 2009 tại thành phố Cần Thơ.

Một vài hình ảnh về BN nhiễm các type HCV



Hình 1. BN nhiễm HCV type 1

Một số hình ảnh về định genotype HCV bằng phương pháp giải trình tự gen

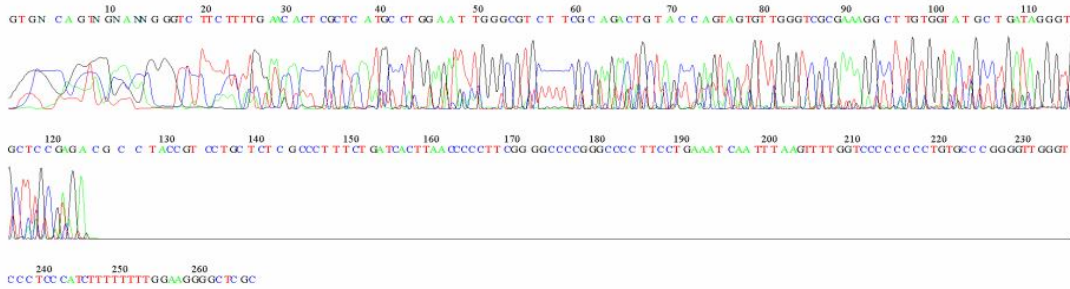
Hình 2. BN đồng nhiễm type HCV 1-6

Định genotype HCV bằng phương pháp giải trình tự gen:

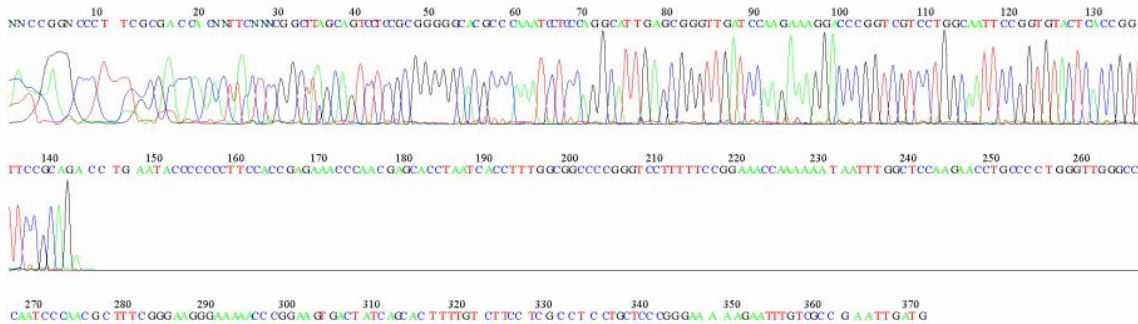
Vì kinh phí nghiên cứu hạn chế nên chúng tôi chỉ chọn ra 6 mẫu có nồng độ $>10^4$ copies/ml trong 85 mẫu đã định type HCV bằng Realtime RT-PCR để định type bằng phương pháp giải trình tự gen trên cả 2 mạch forward và reverse. 6 mẫu giải trình tự gen gồm có: 1 BN type 1, 2 BN type 2, 2 BN type 6 và 1 BN đồng nhiễm type 1 và 6. Sau khi có kết quả giải trình tự gen, chúng tôi sử dụng phần mềm Blast của NCBI để tìm độ tương đồng và đưa ra kết luận về các subtype của 6 mẫu BN nhiễm HCV, kết quả như sau:

Số mẫu	Realtime RT-PCR	Giải trình tự	
	Type HCV	Genotype	Subtype
1	1	1	1b
2	2	2	2c
2	6	6	6a và 6e
1	Đồng nhiễm type 1 và 6	Đồng nhiễm type 1 và 6	1b/6e

1 BN type 1 có subtype 1b; 2 BN type 2 đều có subtype 2c; 2 BN type 6: 1BN type 6a và 1 BN type 6e. Riêng đối với 1 trường hợp đồng nhiễm type 1 và 6, BN có subtype 1b/6e. So với kết quả định type bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR cho thấy có sự phù hợp về type HCV. Ngoài ra, kết quả giải trình tự còn cho biết thêm subtype của BN. 6 mẫu giải trình tự gen có subtype là 1b, 2c, 6a, 6e và 1b/6e. Do kinh phí hạn chế nên chúng tôi không thể giải trình tự hết 85 mẫu đã được định type bằng Realtime RT-PCR. Tuy nhiên, qua kết quả giải trình tự gen cũng cho chúng ta thấy giá trị của việc định type HCV bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR.



Kết quả giải trình tự đoạn forward của BN nhiễm HCV có độ dài 267 bases, nhiễm type 1, subtype 1b



Kết quả giải trình tự đoạn forward của BN nhiễm HCV có độ dài 372 bases, đồng nhiễm type 1 và 6, subtype1b/6e

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Các type HCV đang lưu hành trên 85 bệnh nhân viêm gan siêu vi C điều trị tại bệnh viện Đa khoa Trung ương Cần Thơ là: type 1 (47,1%), type 6 (25,9%) và type 2 (21,2%).

- Kết quả định type bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR và giải trình tự gen cho thấy có sự phù hợp về type HCV và genotype HCV.

- Phát hiện 5,8% đồng nhiễm type HCV trên bệnh nhân, đây là vấn đề mà các tác giả khác chưa được đề cập đến

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Châu Hữu Hậu. 2006. *Viêm gan virus C*, Nhà xuất bản y học.
2. Nguyễn Hữu Chí. 1998. *Một số đặc điểm của bệnh viêm gan virus*, Nhà xuất bản Thành phố Hồ Chí Minh, tr.26-28
3. Phạm Hoàng Phiệt. 2000. *Viêm gan virus C từ cấu trúc virus đến điều trị*, Nhà xuất bản y học chi nhánh Thành

phố Hồ Chí Minh, tr.69-86.

4. Adrian M Di Bisceglie. 2009. *Essentials of hepatitis C infection*. Current Medicine Group

5. Mindie H. Nguyen et al. 2004. *Epidemiology and treatment outcomes of patients with chronic hepatitis C and genotypes 4 to 9*. Reviews in Gastroenterological disorders. Vol 4, suppl 1.

6. Simmonds P. 2005. *Evolution of hepatitis viruses*, Viral hepatitis 3rd edition, Blackwell, pp. 65-75

7. <http://www.drthuthuy.com/research/VNgenotype.html>

8. <http://www.drthuthuy.com/research/XetnghiemVGC.htm>

9. http://www.hcvadvocate.org/hepatitis/hepC/Vietnamese_info.htm

10. http://www.hcvadvocate.org/news/reports/DDW_2004/wednesday.htm.

11. <http://www.Hepatitis-central.com/hcv/genotype>