

# TỶ LỆ NHIỄM VÀ GENOTYPE CỦA HUMAN PAPILLOMAVIRUS Ở BỆNH NHÂN KHÁM TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y HẢI PHÒNG

Trịnh Văn Khương<sup>1,2✉</sup>, Nguyễn Hùng Cường<sup>1,2</sup>

Đào Thị Hương<sup>3</sup>, Nguyễn Ngọc Mỹ Trinh<sup>1,2</sup>, Vũ Thị Hương<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Đại học Y Dược Hải Phòng,

<sup>2</sup>Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng

<sup>3</sup>Tổng công ty Bảo đảm an toàn hàng hải miền bắc Việt Nam

Human papillomavirus (HPV) là tác nhân phổ biến nhất trong các nhiễm trùng lây truyền qua đường sinh dục. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định tỷ lệ nhiễm và sự phân bố genotype HPV ở bệnh nhân khám bệnh tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Nghiên cứu mô tả cắt ngang, sử dụng kỹ thuật Real-time PCR và Severe Dot Blot được tiến hành trên 212 bệnh nhân tới khám tại phòng khám da liễu và phòng khám sản của Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Kết quả cho thấy 24,05% (51/212) bệnh nhân nhiễm HPV, trong đó phần lớn là nhiễm đơn type 64,7%. Genotype HPV11 chiếm tỷ lệ cao nhất (38%), tiếp đến là HPV6 (18%), HPV16 và HPV18 cùng chiếm tỷ lệ 16%; 12% dương tính với 1 trong 05 type (33, 35, 51, 58, 81). Kết quả nghiên cứu này đóng góp thêm vào dữ liệu về tỷ lệ nhiễm và sự phân bố kiểu gen của HPV.

**Từ khóa:** Tỷ lệ nhiễm HPV, genotype, bệnh viện Đại học Y Hải Phòng.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Human Papillomavirus (HPV) là tác nhân thường gặp nhất trong các nhiễm trùng lây truyền qua đường tình dục và là nguyên nhân chính gây ung thư cổ tử cung trên toàn thế giới, đặc biệt là những nước đang phát triển nơi mà 85% các trường hợp tử vong xảy ra ở đây.<sup>1</sup>

HPV thuộc họ Papillomaviridea với khoảng 120 genotype khác nhau đã được xác định và dựa trên khả năng gây ra các tổn thương mô học, đặc biệt là khả năng gây ung thư cổ tử cung, HPV được chia làm 2 nhóm: HR-HPV (HPV16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, và 58,...) và LR-HPV (HPV6, 11, 40, 42, 43, 54, 61, 70, 72,...).<sup>2-4</sup>

Tại Việt Nam, tỷ lệ nhiễm HPV trong cộng đồng dân cư nữ từ 2% đến 10,9% thay đổi theo vùng địa lý<sup>1</sup> Các nghiên cứu trước đây đã xác

định HPV16 và HPV58 là các loại HPV có nguy cơ cao phổ biến nhất trong dân số nói chung của phụ nữ Việt Nam.<sup>5</sup> Tuy nhiên nhiễm HPV52 phổ biến nhất ở đối tượng gái mại dâm phía Bắc Việt Nam.<sup>1</sup>

Hiện nay có rất nhiều phương pháp phát hiện nhiễm HPV như lai phân tử (Southern-blot, Dot-blot và Slot-blot, lai huỳnh quang), PCR, Real – time PCR, DNA microarray (phương pháp DNA chip), Sequencing, phương pháp mô bệnh học,... trong đó phương pháp Real – time PCR là một công cụ chẩn đoán có độ nhạy, độ đặc hiệu rất cao và tính khả thi cao trong việc phát hiện nhiễm HPV và định type HPV, thao tác đơn giản và thời gian ngắn hơn so với PCR và hạn chế được ngoại nhiễm nhiều sản phẩm PCR dẫn đến kết quả dương tính giả. Cũng đã có rất nhiều phương pháp để xác định genotype của HPV như phương pháp lai phân tử, DNA Microarray, Sequencing,... Trong đó, phương pháp lai phân tử (Reverse dot blots) cho phép xác định được 24 type HPV khác nhau trong cùng một phản ứng, thể hiện khi đọc kết quả

Tác giả liên hệ: Trịnh Văn Khương

Đại học Y Dược Hải Phòng

Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng

Email: tvkhuong@hpmu.edu.vn

Ngày nhận: 09/09/2020

Ngày được chấp nhận: 20/10/2020

phản ứng trên mẫu bệnh phẩm. Còn những phương pháp giải trình tự gen vẫn chưa phải là một xét nghiệm thường quy do giá thành xét nghiệm cao, không phát hiện được các trường hợp đồng nhiễm nhiều type HPV trong cùng một phản ứng.

Chính vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: xác định tỷ nhiễm và genotype của HPV ở bệnh nhân tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng để phòng, điều trị UTCTC và góp phần hoạch định chiến lược vaccin dự phòng làm giảm gánh nặng toàn cầu của bệnh UTCTC.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Thiết kế và đối tượng nghiên cứu:

Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện tại Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng. Kỹ thuật thu thập mẫu theo phương pháp lấy mẫu thuận tiện: 212 bệnh nhân với độ tuổi từ 21 – 69 tới khám tại phòng khám da liễu và phòng khám sản phụ khoa của Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng từ 3/1/2018 đến 30/12/2019, sau khi được các bác sĩ chuyên khoa khám sàng lọc với các triệu chứng lâm sàng nghi nhiễm HPV bệnh nhân sẽ được mời tham gia nghiên cứu và tiến hành lấy một trong hai loại mẫu. Mẫu bệnh phẩm tế bào bong của cổ tử cung sẽ được lấy bằng bàn chải tế bào, mẫu sùi, u nhú hay mụn cóc thì sẽ được sinh thiết sau đó bảo quản trong eppendorf chứa 0,5 ml nước muối sinh lý và gửi đến khoa xét nghiệm.

### 2. Kỹ thuật phân tích

#### *Tách DNA*

DNA tổng số của HPV sẽ được tách chiết bằng phương pháp Phenol – Chloroform quy trình của bộ kit<sup>VA</sup> DNA Extraction Kit P (Công

ty Cổ phần Công nghệ Việt Á) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

#### *Xác định HPV*

Thực hiện khuếch đại DNA của HPV bằng phản ứng Real-time PCR: trên máy Icyclor IQ5 của hãng BIORAD (Mỹ) theo các bước: 1 chu kỳ ở 95°C trong 5 phút, 40 chu kỳ gồm: 95°/15 giây, 55°/1 phút và 72°/20 giây.

#### *Xác định HPV genotype*

Thực hiện kỹ thuật Reverse Dot-Blot xác định genotype HPV: sản phẩm PCR có kết quả dương tính với HPV được sử dụng để tiến hành kỹ thuật lai DNA với các đầu dò DNA đặc hiệu cho các kiểu gen HPV (được gắn sẵn trên màng lai) theo quy trình của bộ kit *LightPower<sup>VA</sup> HPV Genotype PCR-RDB* (Công ty Cổ phần Công nghệ Việt Á) để xác định kiểu gen. Với bộ kit này sẽ phát hiện được 16 kiểu gen HPV có nguy cơ cao: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 81 và 8 kiểu gen HPV có nguy cơ thấp: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 79.

Xác định HPV genotype bằng cách quan sát trực tiếp màu trên màng lai ứng với vị trí HPV DNA probe định sẵn.

### 3. Xử lý số liệu

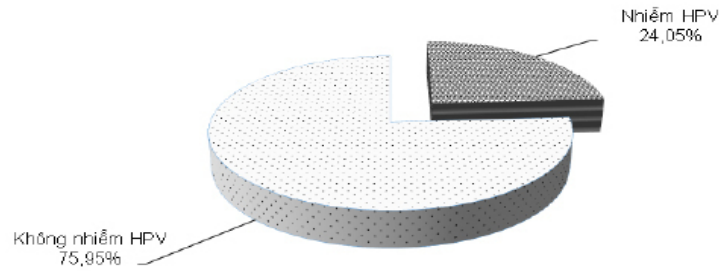
Số liệu thu thập được phân tích và xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 20.0.

### 4. Đạo đức nghiên cứu:

Tuân thủ tuyệt đối quy định về đạo đức trong nghiên cứu. Các đối tượng hoàn toàn tự nguyện tham gia và có quyền rút lui khỏi nghiên cứu khi không đồng ý tiếp tục tham gia. Số liệu và thông tin được đảm bảo chính xác, bí mật.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là  $33,6 \pm 9,4$  với 76,8% bệnh nhân nữ. 24,05% (51/212) bệnh nhân nhiễm HPV, trong đó 64,7% (33/51) trường hợp nhiễm là nữ và nhóm tuổi 26-35 có tỷ lệ nhiễm HPV cao nhất là 45,1%.

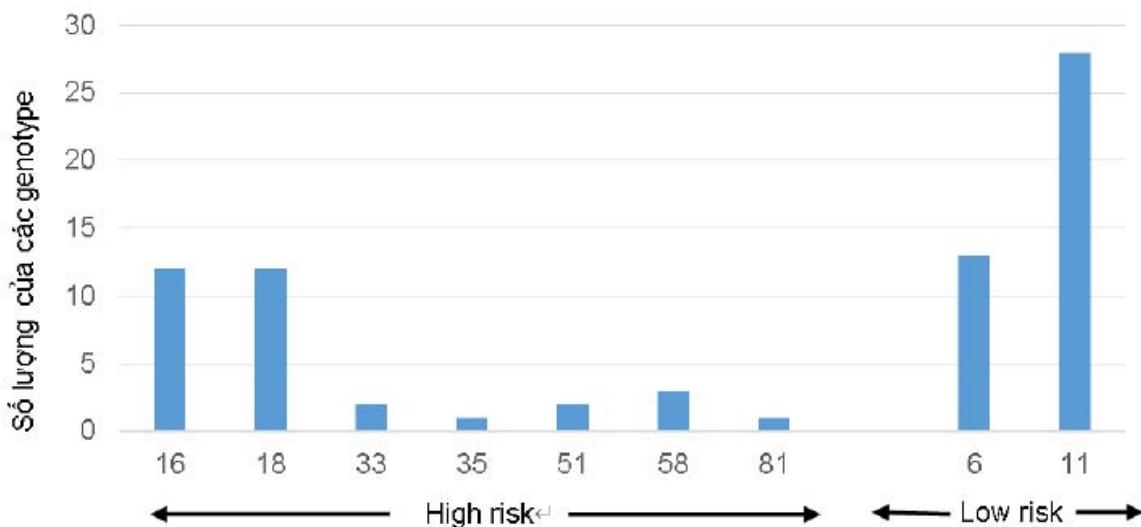


**Biểu đồ 1: Tỷ lệ nhiễm HPV**

**Bảng 1. Phân bố tỷ lệ nhiễm theo nhóm tuổi của HPV**

Nhóm tuổi	HPV (+)	HPV (-)	Tổng
≤ 25	14	29	43
26 - 35	23	60	83
> 35	14	72	86
Tổng	51	161	212

Chúng tôi đã phát hiện được 09 type trong tổng số 24 type có thể xác định được bằng kỹ thuật này. Trong đó, 64,7% (33/51) trường hợp đơn nhiễm một HPV genotype thuộc cả hai nhóm nguy cơ: Đơn nhiễm genotype nguy cơ thấp chiếm 58,8% (30/51) và đơn nhiễm genotype nguy cơ cao chiếm 5,9% (3/51). Đặc biệt, có 31,3% (16/51) bệnh nhân có sự đồng nhiễm 2 type, 1 bệnh nhân đồng nhiễm 3 type (HPV11, 33, 35) và 1 bệnh nhân đồng nhiễm với 4 type (HPV11, 18, 51, 58). Đa nhiễm genotype nguy cơ cao chiếm 17,6% (9/51), đa nhiễm nhiễm genotype nguy cơ cao + nguy cơ thấp chiếm 13,7% (7/51), đa nhiễm nhiễm genotype nguy cơ thấp + nguy cơ thấp chiếm 3,9% (2/51), trong đó đồng nhiễm HPV16 và HPV18 chiếm 15,6% (8/51).



**Biểu đồ 2. Phân bố các Genotype của HPV**

**Bảng 2. Đơn nhiễm và đa nhiễm HPV genotype**

Đơn nhiễm và đa nhiễm HPV genotype	n	%
Đơn nhiễm	33	64,7
Đơn nhiễm HPV genotype nguy cơ thấp	30	58,8
Đơn nhiễm HPV genotype nguy cơ cao	3	5,9
Đa nhiễm	18	35,3
Đa nhiễm HPV genotype nguy cơ cao	9	17,6
Đa nhiễm HPV genotype nguy cơ cao và HPV genotype nguy cơ thấp	7	13,7
Đa nhiễm HPV genotype nguy cơ thấp	2	4,0

#### IV. BÀN LUẬN

Tỷ lệ nhiễm HPV của bệnh nhân đến khám tại bệnh viện Đại học Y Hải Phòng tương đồng với tỷ lệ nhiễm HPV của bệnh nhân đến khám ở bệnh viện tại một số quốc gia trên thế giới như Veneto – North - East Italy (21,3%)<sup>6</sup>, N'Djamena – Chad (22,9%)<sup>2</sup>, Lagos - Nigeria(36,5%)<sup>7</sup> và Nguyễn Hữu Quyền tại bệnh viện Đa khoa Medlatec (29,8%).<sup>8</sup> Trong khi đó, khi khảo sát ở trên cộng đồng, tỷ lệ nhiễm HPV theo kết quả nghiên cứu của Zheng Li tại Yunnan-China (2016) là 12,9%<sup>9</sup>, Young-Tak Kim, Korea (2009) là 10,9%<sup>10</sup> và Lâm Đức Tâm tại Cần Thơ (2017) là 6,64%.<sup>11</sup> Điều này cho thấy lệ nhiễm HPV ở bệnh nhân tới khám ở bệnh viện cao hơn nhiều so với nhóm phụ nữ bình thường tại cộng đồng.

Tuổi trung bình giữa 2 nhóm nhiễm và không nhiễm HPV không có sự khác biệt  $p > 0,05$ . Trong nhóm tuổi dưới 25 (độ tuổi còn có thể tiêm vắc xin phòng HPV) thì tỷ lệ dương tính với HPV là 14/43 (32,5%), theo MboumbaBouassa R-S (N'Djamena, Chad) phụ nữ từ 25 đến 29 tuổi bị nhiễm nhiều loại HPV nhất.<sup>2</sup> Trong nhóm tuổi dưới 35, tỷ lệ dương tính với HPV là 23/83 (27,7%), theo tác giả Kehinde Sharafadeen Okunade (Nigeria) có đến 46,6% bệnh nhân ở nhóm tuổi này dương tính với HPV7, Young-

Tak Kim (Korea) tỷ lệ nhiễm HPV cao nhất là ở nhóm tuổi < 30.<sup>10</sup> Trong nhóm tuổi trên 35, tỷ lệ dương tính là 14/86 (16,2%). Phụ nữ dưới 25 tuổi có tỷ lệ nhiễm cao nhất, sau đó giảm dần theo tuổi<sup>12</sup>, nhưng độ tuổi lây nhiễm HPV tập trung vào 20 - 35 tuổi, là lứa tuổi hoạt động tình dục nhiều nhất<sup>3,13,14</sup>, do đó đây chính là độ tuổi thuận lợi cho việc lây nhiễm HPV.

Nghiên cứu đã phát hiện tỷ lệ nhiễm HPV11 cao nhất (38%), tiếp đến HPV6 (18%) HPV16 (16%) và HPV18 (16%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng có sự khác biệt so với các nghiên cứu trước đây. Nếu như kết quả của Andrea C Tricco tại (Canada) chỉ ra HPV16 và HPV18 có tỷ lệ cao nhất<sup>13</sup>, Kehinde Sharafadeen Okunade (Nigeria) cho thấy HPV31 (25%) là chiếm ưu thế nhất, tiếp theo là HPV35 (8,0%) và HPV16 (3,5%).<sup>7</sup> Hoàng Thị Thanh Huyền sử dụng kỹ thuật GeneSquare HPV Typing DNA Microarray Kit trên đối tượng gái mại dâm tại Hải Phòng lại cho thấy HPV52 (13,33%) là phổ biến nhất, tiếp theo là HPV16 (12,53%) và HPV58 (8,09%), HPV18 (6,5%).<sup>1</sup> Sự khác biệt về kết quả nghiên cứu sự phân bố genotype HPV có thể do việc sử dụng các phương pháp khác nhau trong nghiên cứu.

Tỷ lệ đơn nhiễm genotype HPV 64,7% và tỷ lệ đa nhiễm genotype HPV chiếm 35,3%, đặc biệt trong nhóm đa nhiễm có 16/51 (31,3%) đồng nhiễm 2 genotype, (4,0%) đồng nhiễm với 3 và 4 genotype khác nhau. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Kehinde Sharafadeen Okunade (Nigeria) với tỷ lệ 76,1%<sup>7</sup>, Zheng Li (China) 82%<sup>9</sup> và Kyeong A So (Korea) có tỷ lệ 77,9%<sup>15</sup> các mẫu xét nghiệm chỉ dương tính với một loại HPV genotype duy nhất.<sup>7</sup> Trái ngược với nghiên cứu của tác giả Hoàng Thị Thanh Huyền (2013) với tỷ lệ đa nhiễm chiếm đa số (67,89%) trong đó, tất cả các trường hợp đa nhiễm đều nhiễm ít nhất một HPV genotype “nguy cơ cao”.<sup>1</sup>

Khi chia theo nhóm nguy cơ, LR-HPV 56% và HR-HPV 44%. Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả tương tự kết quả nghiên cứu của Kehinde Sharafadeen Okunade (Nigeria) với LR-HPV chiếm 73,5%.<sup>7</sup> Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác lại chỉ ra HR-HPV là chiếm ưu thế: nghiên cứu của Kyeong A So (Korea) HR-HPV chiếm đến 97,4%<sup>15</sup>, Zheng Li (China) HR-HPV chiếm tỷ lệ 81,4%<sup>9</sup>, Hoàng Thị Thanh Huyền (2013) 75,2%.<sup>1</sup> Sự khác nhau này có thể lý giải là do đối tượng nghiên cứu chúng tôi lựa chọn là khác so với các đối tượng nghiên cứu của các nghiên cứu trên.

## V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm HPV của bệnh nhân đến khám tại BVĐHY HP là 24,05%. Tỷ lệ này cao nhất ở những bệnh nhân thuộc nhóm tuổi 26 - 35.

Nghiên cứu đã xác định được 09 genotype HPV. Các genotype HPV “nguy cơ thấp” chiếm đa số (56%), genotype “nguy cơ cao” chiếm 44%. Genotype HPV11 chiếm tỷ lệ cao nhất (38%), tiếp đến là HPV6 (18%) và HPV16, HPV18 cùng chiếm 16%. Tình trạng đơn nhiễm genotype HPV của bệnh nhân đến khám tại BVĐHY HP là 64,7% và tỷ lệ đa nhiễm genotype

HPV chiếm 35,3%.

## Lời cảm ơn

Các tác giả xin cảm ơn tập thể nhân viên Khoa Xét nghiệm tổng hợp, phòng khám Sản phụ khoa, phòng khám Da liễu – Bệnh viện Đại học Y Hải Phòng và Labo trung tâm công nghệ cao – Trường Đại học Y Dược Hải Phòng đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoang HTT, Ishizaki A, Nguyen CH, et al. Infection with high-risk HPV types among female sex workers in northern Vietnam. *J Med Virol*. 2013;85(2):288-294. doi:10.1002/jmv.23456
2. Bouassa R-SM, Nodjikoambaye ZA, Sadjoli D, et al. High prevalence of cervical high-risk human papillomavirus infection mostly covered by Gardasil-9 prophylactic vaccine in adult women living in N'Djamena, Chad. *PLOS ONE*. 2019;14(6):e0217486. doi:10.1371/journal.pone.0217486
3. Jiang L, Tian X, Peng D, et al. HPV prevalence and genotype distribution among women in Shandong Province, China: Analysis of 94,489 HPV genotyping results from Shandong's largest independent pathology laboratory. Qu F, ed. *PLOS ONE*. 2019;14(1):e0210311. doi:10.1371/journal.pone.0210311
4. Rumbold AR, Tan SE, Condon JR, et al. Investigating a cluster of vulvar cancer in young women: a cross-sectional study of genital human papillomavirus prevalence. *BMC Infect Dis*. 2012;12(1):243. doi:10.1186/1471-2334-12-243
5. Phân bố genotype của human papillomavirus trên bệnh nhân ung thư cổ tử cung ở phía bắc, Việt Nam - TaiLieu.VN.

Accessed August 31, 2020. <https://tailieu.vn/doc/phan-bo-genotype-cua-human-papillomavirus-tren-benh-nhan-ung-thu-co-tu-cung-o-phia-bac-viet-nam-2066814.html>

6. Baldo V, Cocchio S, Buja A, et al. Hospitalization for diseases attributable to human papillomavirus in the Veneto Region (North-East Italy). *BMC Infect Dis.* 2013;13:462. doi:10.1186/1471-2334-13-462

7. Okunade KS, Nwogu CM, Oluwole AA, Anorlu RI. Prevalence and risk factors for genital high-risk human papillomavirus infection among women attending the out-patient clinics of a university teaching hospital in Lagos, Nigeria. *Pan Afr Med J.* 2017;28. doi:10.11604/pamj.2017.28.227.13979

8. Nghiên cứu tỷ lệ nhiễm HPV ở bệnh nhân khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa MEDLATEC bằng kỹ thuật Real - Time PCR và Reverse Dot Blot Hybridization. Accessed September 1, 2020. <https://medlatec.vn/tin-tuc/nghien-cuu-ty-le-nhiem-hpv-o-benh-nhan-kham-phu-khoa-tai-benh-vien-da-khoa-medlatec-bang-ky-thuat-real--time-pcr-va-reverse-dot-blot-hybridization-s28-n3025>

9. Li Z, Liu F, Cheng S, et al. Prevalence of HPV infection among 28,457 Chinese women in Yunnan Province, southwest China. *Sci Rep.* 2016;6(1):21039. doi:10.1038/srep21039

10. Kim Y-T. Current status of cervical cancer and HPV infection in Korea. *J Gynecol Oncol.* 2009;20(1):1-7. doi:10.3802/jgo.2009.20.1.1

11. Lâm Đức Tâm. Nghiên cứu tỷ lệ nhiễm Human Papilloma virus, một số yếu tố liên quan và kết quả điều trị các tổn thương cổ tử cung. Luận Văn Y Học. Published February 27, 2019. Accessed September 1, 2020. <https://luanvanyhoc.com/nghien-cuu-ty-le-nhiem-human-papilloma-virus/>

12. Depuydt C, Simoens C, Benoy I. Prevacination Distribution of Human Papillomavirus Types in Women Attending at Cervical Cancer Screening in Belgium. *Cancer Epidemiol Biomark Amp Prev.* Accessed September 7, 2020. [https://www.academia.edu/23751871/Prevaccination\\_Distribution\\_of\\_Human\\_Papillomavirus\\_Types\\_in\\_Women\\_Attending\\_at\\_Cervical\\_Cancer\\_Screening\\_in\\_Belgium](https://www.academia.edu/23751871/Prevaccination_Distribution_of_Human_Papillomavirus_Types_in_Women_Attending_at_Cervical_Cancer_Screening_in_Belgium)

13. Tricco AC, Ng CH, Gilca V, Anonychuk A, Pham B, Berliner S. Canadian oncogenic human papillomavirus cervical infection prevalence: Systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2011;11:235. doi:10.1186/1471-2334-11-235

14. Ogembo RK, Gona PN, Seymour AJ, et al. Prevalence of Human Papillomavirus Genotypes among African Women with Normal Cervical Cytology and Neoplasia: A Systematic Review and Meta-Analysis. Schabath MB, ed. *PLOS ONE.* 2015;10(4):e0122488. doi:10.1371/journal.pone.0122488

15. So KA, Lee IH, Lee KH, et al. Human papillomavirus genotype-specific risk in cervical carcinogenesis. *J Gynecol Oncol.* 2019;30(4):e52. doi:10.3802/jgo.2019.30.e52

**Summary**  
**INFECTION RATE AND GENOTYPE**  
**OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS AMONG OUTPATIENTS**  
**AT HAIPHONG MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL**

Human papillomavirrus (HPV) has been one of the most common agents in sexually transmitted infections (STIs). Objective: The aim of this study is to determine the infection rate and the distribution of HPV genotype among patients at Hai Phong Medical University Hospital. Subjects and methods: this is a descriptive cross-sectional study, using Real - timePCR and Reverse Dot Blot technique on samples from 212 outpatients who visited dermatology clinic and obstetrics clinic of Hai Phong Medical University Hospital. Results: the infection rate was 24.05% (51/212) patients having HPV with the majority of which being single type infection (64.7%). The dominated genotype was HPV11 with 38%, followed by HPV6 (18%), while both HPV16 and HPV18 accounted for 16%. Meanwhile, 12% patients were positive with 1 in 5 types (33, 35, 51, 58, 81). Acquired results from this study could help contribute to the database of infection rate and HPV genotype distribution.

**Keywords:** HPV infection rate, HPV genotype, Hai Phong Medical University Hospital.