



## TỈ LỆ KHÁC NHAU CỦA KIỂU GEN SIÊU VI VIÊM GAN C VỚI 2 VÙNG GIẢI TRÌNH TỰ KHÁC NHAU: 5'NC VÀ NS5B CỦA BỆNH NHÂN VIỆT NAM TẠI TRUNG TÂM Y KHOA MEDIC

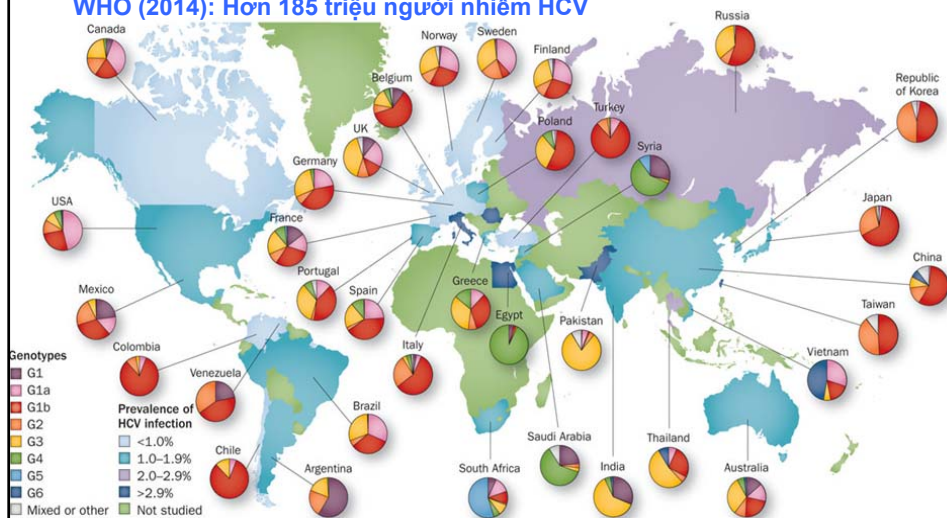


Phạm Thị Thu Thủy  
Hồ Tấn Đạt  
Nguyễn Bảo Toàn  
Trung Tâm Y Khoa Medic - TP HCM

### 1, ĐẶT VẤN ĐỀ

## TỈ LỆ NHIỄM HCV & PHÂN BỐ KIỂU GEN HCV TRÊN THẾ GIỚI

WHO (2014): Hơn 185 triệu người nhiễm HCV



Hojarizadeh, B. et al. (2013) Epidemiology and natural history of HCV infection  
*Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* doi:10.1038/nrgastro.2013.107

# Yếu tố tiên đoán đáp ứng điều trị

## CHẾ ĐỘ ĐIỀU TRỊ

Peginterferon  
Ribavirin  
DAA  
Đáp ứng điều trị  
Thời gian điều trị

## NGƯỜI BỆNH

Tuổi  
Giới  
Sắc tộc  
Béo phì  
Đề kháng Insulin  
IL 28B

**ĐÁP ỨNG  
ĐIỀU TRỊ**

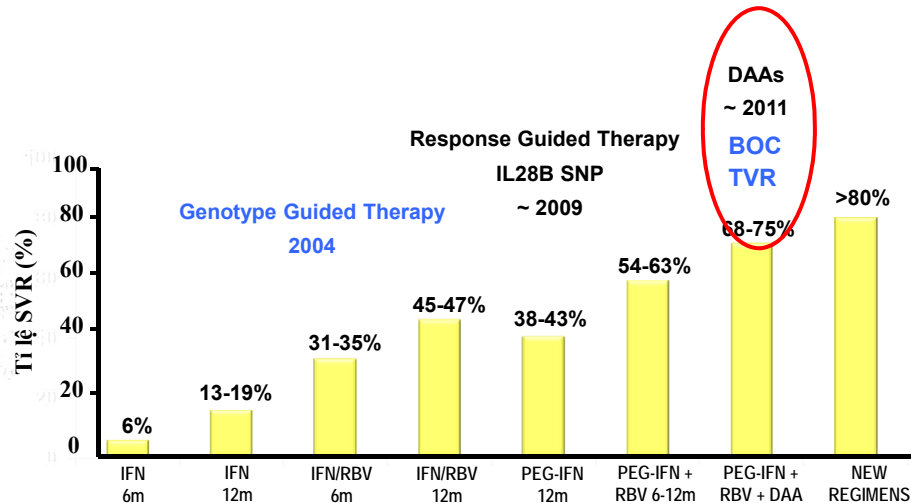
## ĐẶC ĐIỂM BỆNH

Mức độ xơ hóa  
Gan thoái hóa mỡ  
Đồng nhiễm HBV, HIV

## SIÊU VI C

Kiểu gen  
Lượng virus khi bắt đầu

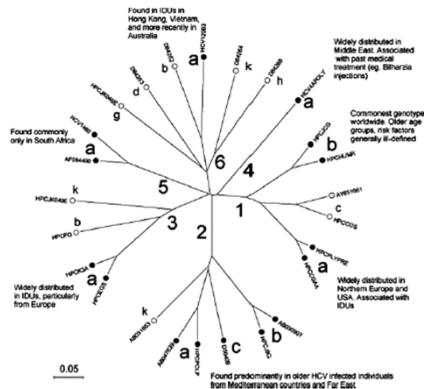
# ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN SIÊU VI C KIỂU GEN 1



## Kiểu gen siêu vi viêm gan C

Xác định kiểu gen HCV thường dựa vào đoạn 5'NC (Đích của RT-PCR)

Khuyến cáo: Có sự lẫn kiểu gen 6 vào kiểu gen 1 khi xác định kiểu gen ở đoạn 5'NC ở vùng Đông Nam Á.



6c	6d	6e	6f	6f	6g	6h	6i	6j	6k	6l
7d	7b	7a	7e	7c	11a	9a	9b	9c	8b	8a

Peter Simmonds, Jens Bukh, Christophe Combet et al (2005). Consensus Proposals for a Unified System of Nomenclature of Hepatitis C Virus Genotypes. HEPATOLOGY 2005;42: 962-973.

## MỤC ĐÍCH NGHIÊN CỨU

- Xác định tần suất kiểu gen của bệnh nhân Việt Nam viêm gan siêu vi C mạn điều trị tại Trung Tâm Y Khoa MEDIC khi giải trình tự trên đoạn gen 5'NC và NS5B.
- Tìm hiểu tần suất của các kiểu gen khác nhau khi thực hiện giải trình tự trên đoạn gen NS5B ở các trường hợp đã xác định kiểu gen 1 khi giải trình tự trên đoạn gen 5'NC.

## 2, VẬT LIỆU & PHƯƠNG PHÁP

Đây là 1 nghiên cứu hồi cứu cắt ngang.

Chúng tôi hồi cứu trên 3 nhóm bệnh nhân có xét nghiệm định kiểu gen HCV tại Trung tâm Y khoa MEDIC:

- Nhóm 1 là tổng cộng 3686 trường hợp định kiểu gen siêu vi C trên đoạn gen 5'NC từ tháng 01/2007 đến tháng 08/2011.
- Nhóm 2 là tổng cộng 176 trường hợp định kiểu gen siêu vi C trên đoạn gen NS5B từ tháng 8/2013 đến tháng 5/2014.
- Nhóm 3 là 101 trường hợp lấy ngẫu nhiên kiểu gen 1 khi xác định trên đoạn gen 5'NC xác định lại kiểu gen siêu vi C trên đoạn NS5B từ tháng 8/2013 đến tháng 4/2014.

## 2, VẬT LIỆU & PHƯƠNG PHÁP (tt)

Tất cả bệnh nhân đều đã được chẩn đoán viêm gan siêu vi C mạn và có chỉ định xét nghiệm kiểu gen HCV để điều trị Peginterferon Alfa/Ribavirin.

**Xác định kiểu gen HCV trên đoạn gen 5'NC:** Tách chiết HCVRNA rồi thực hiện RT-PCR trên đoạn 5'NC, sau đó thực hiện giải trình tự trên hệ thống TRUGENE (Siewmens).

**Xác định kiểu gen HCV trên đoạn gen NS5B:** Tách chiết HCVRNA rồi thực hiện RT-PCR trên đoạn NS5B, dùng thuốc thử giải trình tự là ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kits, máy PCR của MJ Research PTC-225 Peltier Thermal Cycler, máy giải trình tự ABI PRISM® 3730XL Analyzer, 96 capillary type (Applied Biosystems), qui trình thực hiện theo công ty *Macrogen*, 9F World Meridian Center #60-24 Gasan-dong, Geumchun-gu. Seoul, Korea, 153-023.

Các dữ liệu được phân tích bằng phần mềm **SPSS for Win, Version 17** với ngưỡng  $p < 0,05$  được xem là có ý nghĩa thống kê.

### 3, KẾT QUẢ

- Nhóm 1 là tổng cộng 3686 trường hợp định kiểu gen siêu vi C trên đoạn gen 5'NC: Nam chiếm 48,86%, nữ chiếm 51,14% với độ tuổi trung bình là  $49,20 \pm 11,48$ .
- Nhóm 2 là tổng cộng 176 trường hợp định kiểu gen siêu vi C trên đoạn gen NS5B: Nam chiếm 43,18%, nữ chiếm 56,81% , với độ tuổi trung bình là  $50,01 \pm 8,63$ .
- Nhóm 3 là 101 trường hợp lấy ngẫu nhiên kiểu gen 1 khi xác định trên đoạn gen 5'NC xác định lại kiểu gen siêu vi C trên đoạn NS5B: Nam chiếm 41,58%, nữ chiếm 58,42% với độ tuổi trung bình  $53,12 \pm 11,02$ .

**Bảng 1. Tỷ lệ kiểu gen và dưới kiểu gen HCV khác nhau tùy thuộc vùng giải trình tự.**

Kiểu gen	Dưới kiểu gen	Nhóm 1 ( 5'NC )		Nhóm 2 ( NS5B )	
		Kiểu gen %	Dưới kiểu gen %	Kiểu gen %	Dưới kiểu gen %
1	1	59,98	9,39	42,05	
	1a		12,96		29,55
	1b		37,63		12,5
2	2	15,82	0,3	11,36	
	2a		13,67		1,14
	2b		0,52		
	2c		1,19		
	2d		0,14		
	2m				10,22
3	3a	0,05	0,025		
	3b		0,025		
6	6	24,15	1,28	46,59	1,14
	6a		22,68		19,31
	6b		0,19		
	6e				23,86
	6h				1,14
	6r				1,14

**Bảng 2. Tỷ lệ lần kiểu gen 2 và 6 vào 101 trường hợp kiểu gen 1( Xác định trên đoạn gen 5'NC) khi xác định lại kiểu gen trên đoạn gen NS5B.**

Kiểu gen	Dưới kiểu gen: Số trường hợp (%)
Kiểu gen 1: 79 trường hợp (78, 22%)	1a: 37 (36, 63%)
	1b: 42 (41, 59%)
Kiểu gen 2: 2 trường hợp (1, 98%)	2m: 2 (1, 98%)
Kiểu gen 6: 20 trường hợp (19, 80%)	6a: 1 (0, 99%)
	6e: 15 (14, 85%)
	6h: 2 (1, 98%)
	6p: 1 (0, 99%)
	6t: 1 (0, 99%)

**Bảng 3. So sánh tỷ lệ khác nhau kiểu gen 1 và 6 khi định kiểu gen trên 2 đoạn khác nhau 5'NC và NS5B.**

	Đoạn 5'NC	Đoạn NS5B	p
Kiểu gen 1	59,98 %	42,05 %	< 0,001
Kiểu gen 6	24,15 %	46,59 %	< 0,001

## 4, BÀN LUẬN (1) Xác định kiểu gen HCV với các đoạn 5'NC, NS5B hay Core với các nghiên cứu ngoài vùng Đông Nam Á

Trong lâm sàng:

- Kỹ thuật giải trình tự hay LiPA đều thích hợp cho xác định kiểu gen HCV.
- Đoạn gen 5'NC đủ để xác định kiểu gen HCV.

Dùng trong nghiên cứu hay điều tra dịch tễ: Nên xác định kiểu gen ở đoạn NS5B hay đoạn Core: Chính xác mức độ subtype.

**Norma de Paula Cavalheiro** (2007). Hepatitis C: Genotyping. The Brazilian Journal of Infectious Diseases 2007;11 (5) Suppl. 1: 25-27.

**P. HALFON, P. TRIMOULET, M. BOURLIERE** et al (2001). Hepatitis C Virus Genotyping Based on 59 Noncoding Sequence Analysis (Trugene). JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. May 2001, Vol. 39, No. 5: 1771-1773.

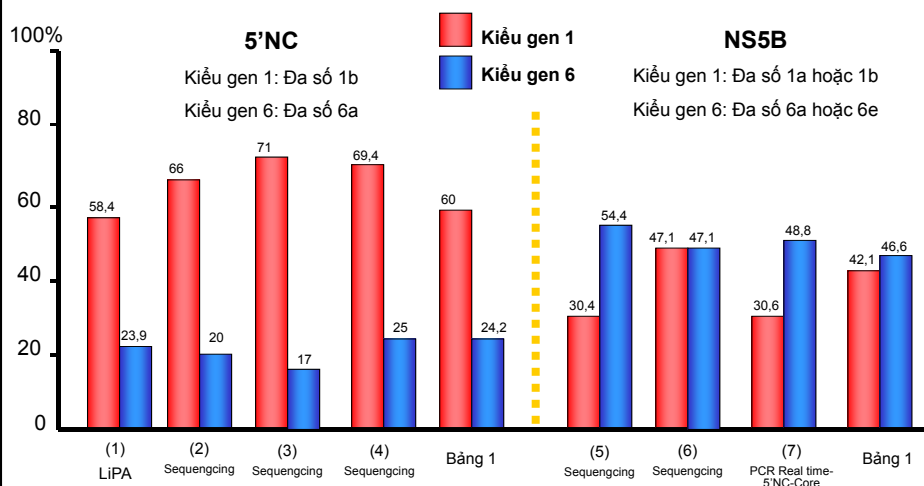
**Syria Laperche, Franc oise Lunel, Jacques Izopet** et al (2005). Comparison of Hepatitis C Virus NS5b and 5' Noncoding Gene Sequencing Methods in a Multicenter Study. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Feb. 2005, Vol. 43, No. 2: 733-739.

**Frederick S. Nolte, Alicia M. Green, Kristin R. Fiebelkorn** et al (2003). Clinical Evaluation of Two Methods for Genotyping Hepatitis C Virus Based on Analysis of the 5' Noncoding Region. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2003, Vol. 41, No. 4: 1558-1564.

**Evelyn Stelzi, Carola van der Meer, Remko Gouw** et al (2006). Determination of the hepatitis C virus subtype: comparison of sequencing and reverse hybridization assays. Clin Chem Lab Med 2007;45:167-70.

**M.P. Espirito-Santo, M.A.S. Carneiro, N.R.S. Reis** et al (2007). Genotyping hepatitis C virus from hemodialysis patients in Central Brazil by line probe assay and sequence analysis. Brazilian Journal of Medical and Biological Research (2007) 40: 545-550.

## 4, BÀN LUẬN (2) Tỷ lệ kiểu gen HCV khác nhau khi xác định kiểu gen ở các đoạn gen khác nhau

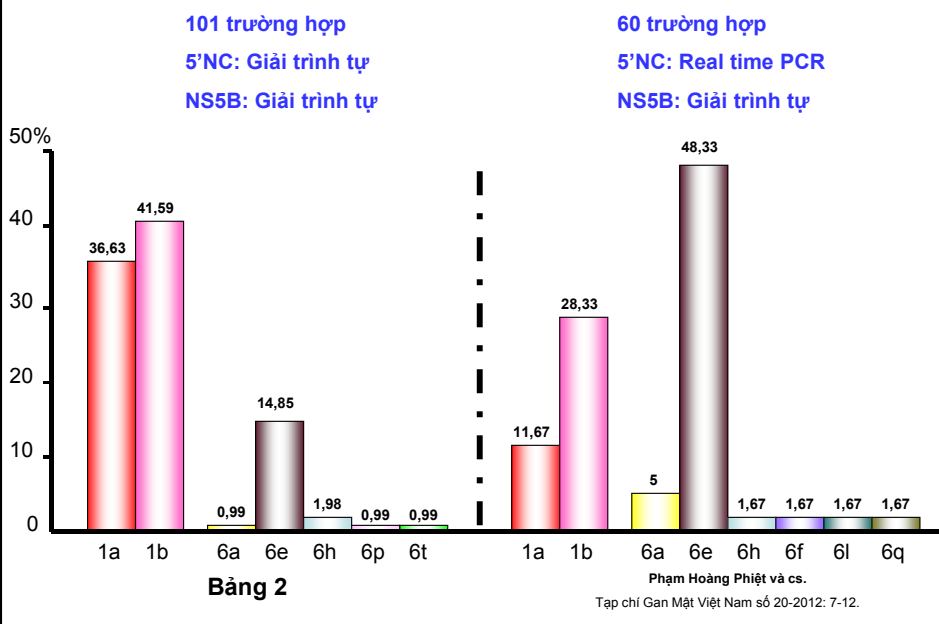


1. Hồ Tấn Đạt và cộng sự (2006). Kiểu gen của siêu vi viêm gan C ở Việt Nam. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, năm 2006, tập 10, số 1, p 28 - 34.  
 2. Nguyễn Báo Toàn và cộng sự (2005). Xác định kiểu gen của virus viêm gan C (HCV) dựa vào kỹ thuật giải trình tự chuỗi (sequencing) trên vùng 5' không mã hóa. Tạp chí y học TP. Hồ Chí Minh - chuyên đề hóa sinh và sinh học phân tử, 9 (2): 25 - 29.  
 3. Nguyễn Thanh Sào, Phạm Hùng Văn (2009). Áp dụng kỹ thuật giải trình tự trực tiếp sản phẩm PCR thu nhận được từ thử nghiệm RT Real - time PCR vùng 5' - NC để làm xét nghiệm định kiểu gen HCV. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, Vol. 13 - Supplement 06 No 1 - 2009: 243 - 248.  
 4. Nguyễn Nghiêm Luật và cộng sự (2012). Phát hiện các kiểu gen và kiểu gen phụ của virus viêm gan C lây nhiễm ở khu vực Hà Nội bằng kỹ thuật giải trình tự gen trực tiếp. Tạp chí Gan Mật Việt Nam số 20-2012: 13-19.  
 5. Van H. Pham et al (2011). Very High Prevalence of Hepatitis C Virus Genotype 6 Variants in Southern Vietnam: Large-Scale Survey Based on Sequence Determination. Jpn. J. Infect. Dis., 64: 537-539.  
 6. Duc Anh Pham et al (2009). High Prevalence of Hepatitis C Virus Genotype 6 in Vietnam. ASIAN PACIFIC JOURNAL OF ALLERGY AND IMMUNOLOGY (2009) 27: 153-160.  
 7. Đông Thị Hoài An và cộng sự (2013). Ứng dụng kỹ thuật Real-time PCR trên vùng 5'-UTR-core để xác định kiểu gen virus viêm gan C. Tạp chí Gan Mật Việt Nam số 26-2013: p 11-17.

**4, BÀN LUẬN (3)** So sánh tỉ lệ khác nhau kiểu gen 1 và 6 khi định kiểu gen trên 2 đoạn khác nhau 5'NC và NS5B (Bảng 3).

	Đoạn 5'NC	Đoạn NS5B	p
Kiểu gen 1	59,98 %	42,05 %	< 0,001
Kiểu gen 6	24,15 %	46,59 %	< 0,001

**4, BÀN LUẬN (4)** Sự lẫn của kiểu gen 6 khi định kiểu gen với đoạn NS5B ở kiểu gen 1 khi xác định với đoạn 5'NC





## 5, Kết luận

☞ Khi dùng kỹ thuật xác định kiểu gen của siêu vi C trên đoạn gen NS5B thì kiểu gen 6 có tỉ lệ cao nhất ở bệnh nhân Việt Nam.

☞ Chúng tôi cũng thấy rằng nếu dùng kỹ thuật xác định kiểu gen trên đoạn gen 5'UT thì tỉ lệ lẫn kiểu gen 6 vào kiểu gen 1 khi xác định trên đoạn gen NS5B là 19,80% trong đó kiểu gen 6e chiếm đa số là 75% trong nhóm kiểu gen 6.

☞ Do có sự khác nhau trong thời gian điều trị, tiên lượng thành công của điều trị giữa kiểu gen 1 và 6, cũng như các thuốc uống mới chỉ được công nhận cho những kiểu gen nhất định nên đòi hỏi phải xác định chính xác giữa kiểu gen 1 và 6, từ đó chúng tôi thấy rằng khi xác định kiểu gen HCV ở bệnh nhân Việt Nam nên chọn đoạn gen đích là đoạn lõi (Core) hay NS5B.

