

NGHIÊN CỨU CHỌC HÚT DỊCH ỒI CHẨN ĐOÁN THAI NHI NHIỄM VIRUS RUBELLA BẰNG KỸ THUẬT PCR – REALTIME TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG NĂM 2011- 2012

Nguyễn Quảng Bắc
Bệnh viện Phụ Sản Trung ương

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá kết quả chọc hút dịch ối bằng kỹ thuật PCR- Realtime với kết quả xét nghiệm sinh hóa miễn dịch máu cuống rốn nhằm chẩn đoán thai nhi nhiễm rubella, đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật PCR- Realtime. **Phương pháp:** mô tả cắt ngang ở phụ nữ mang thai nhiễm rubella ở tuổi thai 6 - 18 tuần và tự nguyện tham gia nghiên cứu. **Kết quả:** tất cả các trường hợp chọc ối chẩn đoán thai nhi nhiễm virus rubella bằng kỹ thuật PCR-Realtime đều có kết quả chính xác cao so với kết quả xét nghiệm sinh hóa miễn dịch máu cuống rốn thai nhi. Độ nhạy của phương pháp chọc ối PCR- Realtime đạt kết quả cao 94,9%, độ đặc hiệu là 100%, độ chính xác của phương pháp PCR dịch ối với xét nghiệm máu cuống rốn IgM là 98,0%. **Kết luận:** Kết quả chọc dịch ối bằng kỹ thuật PCR- Realtime có độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác cao. Nên áp dụng kỹ thuật PCR- Realtime xét nghiệm dịch ối để chẩn đoán xác định thai nhi nhiễm rubella cho tất cả các thai phụ nhiễm rubella.

Từ khóa: Se: độ nhạy, Sp: độ đặc hiệu, Ac: độ chính xác.

Abstract

RESEARCH AMNIOCENTESIS FOR FETAL RUBELLA DIAGNOSIS BY REAL-TIME PCR AT THE NATIONAL HOSPITAL OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY 2011- 2012

Objectives: To review the results of amniocentesis with the results of biochemical test from cordocentesis to diagnose rubella infection, assess the sensitivity and specificity of PCR- Realtime. **Methods:** this is a cross-sectional description in pregnant women infected with rubella in 6- 18 weeks gestation and voluntarily participate in the study. **Results:** All cases of diagnostic amniocentesis fetal rubella virus infection by PCR- Realtime results are highly accurate compared with the results biochemical test immune fetal cord blood. The sensitivity of the PCR- Realtime method amniocentesis results as high as 94,9%, specificity 100%, accuracy of amniotic fluid PCR testing umbilical cord blood IgM was 98,0%. **Conclusion:** The results proved of amniocentesis by PCR- Realtime sensitivity, specificity and accuracy. Should be applied PCR - Realtime amniotic fluid tests for fetal diagnosis of rubella infection for all pregnant women infected with rubella.

Key words: Se: sensitivity, Sp: specificity, Ac: accuracy

1. Đặt vấn đề

Rubella gặp ở cả trẻ em và người lớn, nam hay nữ, tuy nhiên, bệnh trở nên rất nguy hiểm đối với phụ nữ mang thai. Bệnh thường phổ biến vào mùa đông xuân, và giảm đáng kể ở thời điểm mùa hè và mùa thu. Sau khi xâm nhập vào cơ thể, Rubella lưu hành trong máu và xâm nhập các hạch bạch huyết, gây ra chứng sốt phát ban với 3 triệu chứng điển hình: sốt, phát ban và nổi hạch [1]. Tuy nhiên, việc chẩn đoán sốt phát ban do rubella không thật sự dễ dàng do có nhiều trường hợp không biểu hiện rõ các triệu chứng, nên có thể gây nhầm lẫn trong chẩn đoán, và còn có nhiều bệnh khác có thể gây biểu hiện tương tự như sốt dengue, nhiễm adenovirus...[2].

Phương pháp khuếch đại gen tìm Virus Rubella (PCR- Realtime) trong nước ối đã được nhiều nhà

ngiên cứu triển khai, mang lại kết quả đáng kể, giúp phát hiện được sớm nhiều trường hợp thai nhi nhiễm rubella bẩm sinh [3][4].

Tại Việt Nam, bệnh rubella và hội chứng Rubella bẩm sinh còn đang là vấn đề bỏ ngỏ, trong thời gian từ đầu năm 2011 đến nay, tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương đã ghi nhận sự tăng đáng kể số lượng các bà mẹ mang thai bị nhiễm hoặc nghi nhiễm rubella, với số lượng thai phụ đến khám hội chẩn vì rubella là trên 2.000 ca, số thai phụ được tư vấn phá thai vì nguy cơ thai nhi bị nhiễm rubella hoặc xin phá thai vì thai phụ bị nhiễm rubella chiếm khoảng trên dưới 50% [3][5]. Điều này cho thấy vấn đề chẩn đoán sớm, can thiệp kịp thời các trường hợp thai nhi nhiễm rubella là việc làm rất cần thiết. Một số nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy, việc chẩn đoán nhiễm rubella ở thai nhi không thể đơn thuần dựa vào

các triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm sinh hóa miễn dịch của mẹ [6]. Do vậy, nghiên cứu áp dụng phương pháp PCR- Realtime để phát hiện thai nhi nhiễm rubella ở các thai phụ mắc rubella có tuổi thai từ 13 tuần đến 18 tuần đã được tiến hành với mục tiêu: Đánh giá kết quả chọc hút dịch ối bằng kỹ thuật PCR- Realtime với kết quả xét nghiệm sinh hóa miễn dịch máu cuống rốn nhằm chẩn đoán thai nhi nhiễm rubella, đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật PCR- Realtime.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

* **Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu:**

- Phụ nữ mang thai có các triệu chứng lâm sàng như sốt, phát ban và nổi hạch (tuổi thai từ 5 - 18 tuần) đến khám thai, theo dõi thai tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương.

- Tuổi thai chọc ối từ 18 - 26 tuần.

- Thời điểm chọc ối sau khi nhiễm rubella 5-7 tuần.

- Có chỉ định chọc ối, bệnh nhân đồng ý có giấy cam kết tự nguyện tham gia vào nghiên cứu chọc ối qua thành bụng.

* **Tiêu chuẩn loại trừ:**

- Hồ sơ không đầy đủ các thông tin cần nghiên cứu.

- Thiếu xét nghiệm chẩn đoán rubella.

- Bệnh nhân không chấp nhận tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

* **Mẫu nghiên cứu:** Tất cả bệnh nhân đủ tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu trong thời gian 2011- 2012

- Cỡ mẫu nghiên cứu: được tính theo công thức sau:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{p(1-p)}{(\epsilon p)^2}$$

Trong đó:

p: Tỷ lệ phụ nữ mang thai có thai nhi bị nhiễm rubella (theo nghiên cứu của Vũ Xuân Nghĩa và cộng sự (2011) kết quả tỷ lệ có ARN của rubella trong dịch ối là 55%) (Giá trị p = 0,55) [2].

$Z_{(1-\alpha/2)}$: Hệ số tin cậy ở mức xác suất 95% (= 1,96)

ϵ : Sai số tương đối (= 0,2).

Theo công thức tính trên $n = 78$. Lấy thêm 10% để phòng trường hợp đối tượng không tham gia đến hết nghiên cứu, như vậy cỡ mẫu của nghiên cứu tính được sẽ là 86. Trên thực tế, trong nghiên cứu của chúng tôi đã được thực hiện trên 99 bệnh nhân.

* **Kỹ thuật chọc hút dịch ối:** Chọc ối dưới hướng dẫn của siêu âm. Kết quả:

• PCR (+): Thai nhi bị nhiễm rubella

• PCR (-): Thai nhi không bị nhiễm rubella

3. Kết quả

Trong năm 2011- 2012, chúng tôi thực hiện được 99 trường hợp chọc ối tại trung tâm chẩn đoán trước sinh, kết quả thu được như sau:

Bảng 1. Phân bố tuổi thai phụ chọc dịch ối

Tuổi thai phụ	Tổng	
	Số lượng	Tỷ lệ %
< 20 tuổi	7	7,0
20 - 30 tuổi	75	75,8
>30 tuổi	17	17,2
Tổng	99	100,0

Bảng 1 cho thấy tuổi thai phụ chọc ối từ 20 - 30 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất 75,8%, tiếp đến là thai phụ >30 tuổi chiếm tỷ lệ 17,2%. Thai phụ <20 tuổi có tỷ lệ chọc ối thấp nhất với 7,0%.

Bảng 2. Kết quả xét nghiệm dịch chọc ối bằng kỹ thuật PCR

Xét nghiệm dịch chọc ối	Số lượng	Tỷ lệ %
Dịch ối (+)	39	39,4
Dịch ối (-)	60	60,6
Tổng	99	100,0

Trong 99 thai phụ được chọc ối làm xét nghiệm dịch chọc ối bằng kỹ thuật PCR thì tỷ lệ có kết quả dương tính chiếm 39,4%, còn lại là kết quả âm tính chiếm 60,6% (bảng 2).

Bảng 3. Mối liên quan giữa sốt và kết quả chọc dịch ối ở thai phụ (bằng kỹ thuật PCR)

Triệu chứng	Mẫu dịch ối dương tính		Mẫu dịch ối âm tính		OR	95% CI
	n	%	n	%		
Sốt	30	48,4	32	51,6	1	
Không sốt	9	24,3	28	75,7	0,3	0,14-0,84

Trong số thai phụ có triệu chứng sốt, kết quả chọc dịch ối dương tính chiếm tỷ lệ 48,4%, cao gấp gần 3 lần so với nhóm thai phụ không có triệu chứng sốt (24,3%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với OR=0,3 và 95% CI: 0,14-0,84.

Bảng 4. Mối liên quan giữa triệu chứng phát ban và kết quả chọc ối ở thai phụ (bằng kỹ thuật PCR)

Triệu chứng	Mẫu dịch ối dương tính		Mẫu dịch ối âm tính		OR	95% CI
	n	%	n	%		
Có phát ban	37	48,7	39	51,3	1	
Không phát ban	2	8,7	21	91,3	0,1	0,02-0,46

Kết quả cho thấy tỷ lệ chọc ối dương tính ở thai phụ có triệu chứng phát ban chiếm 48,7%, cao gấp

Bảng 5. Mối liên quan giữa triệu chứng nổi hạch và kết quả chọc dịch ối ở thai phụ (bằng kỹ thuật PCR)

Triệu chứng	Mẫu dịch ối dương tính		Mẫu dịch ối âm tính		OR	95% CI
	n	%	n	%		
Nổi hạch	12	37,5	20	62,5	1	
Không nổi hạch	27	40,3	40	59,7	1,1	0,47-2,68

gần 9 lần tỷ lệ này ở thai phụ không có triệu chứng phát ban (8,7%). Sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê với $OR=0,1$ và $95\% CI: 0,02-0,46$.

Bảng 5 cho thấy tỷ lệ chọc ối dương tính ở thai phụ có triệu chứng nổi hạch chiếm 37,5%, thấp hơn với tỷ lệ này ở thai phụ không có nổi hạch (40,3%). Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $OR=1,1$ và $95\% CI: 0,47 - 2,68$.

Bảng 6. Mối liên quan giữa tuổi thai nhiễm rubella và kết quả chọc ối ở thai phụ

Tuổi thai nhiễm rubella	Mẫu dịch ối dương tính		Mẫu dịch ối âm tính		OR	95% CI
	n	%	n	%		
< 12 tuần	12	40,0	18	60,0	1	
13 - 15 tuần	19	38,0	31	62,0	0,9	0,36-2,32
16 - 18 tuần	8	42,1	11	57,9	1,1	0,34-3,51

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có mối liên quan giữa tuổi thai nhiễm rubella và kết quả chọc ối dương tính ở thai phụ với $95\% CI$ là $0,36-2,32$ và $0,34-3,51$.

Bảng 7. Kết quả chọc dịch ối ở thai phụ và kháng thể IgM ở máu cuống rốn

Xét nghiệm máu cuống rốn	Mẫu dịch ối dương tính		Mẫu dịch ối âm tính	
	Số lượng	%	Số lượng	%
IgM dương tính	37	100,0	0	0,0
IgM âm tính	2	3,2	60	96,8
Tổng	39	39,4	60	60,6
	Se=94,9	Sp=100,0	Ac=98,0	

Bảng 7 cho thấy độ nhạy của phương pháp chọc ối PCR - Realtime đạt kết quả cao 94,9% (Se). Độ đặc hiệu là 100% (Sp). Độ chính xác của phương pháp PCR dịch ối với xét nghiệm máu cuống rốn IgM là 98,0% (Ac).

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu của tôi cho thấy tuổi thai phụ chọc ối từ 20 - 30 tuổi có 75 trường hợp chiếm cao nhất 75,8%, dưới 20 tuổi có 7 trường hợp chiếm 7,0%, trên 30 tuổi có 17 trường hợp chiếm 17,2%. Như vậy tuổi thai phụ chủ yếu tập trung ở độ tuổi sinh đẻ. Kết quả cho thấy có mối liên quan giữa thai phụ có các triệu chứng sốt, phát ban với kết quả chọc ối dương tính ở thai phụ. Trong số thai phụ có triệu chứng sốt thì kết quả chọc dịch ối dương tính chiếm tỷ lệ 48,4%, tỷ lệ này cao gấp gần 3 lần so với nhóm thai phụ không có triệu chứng sốt (24,3%). Tỷ lệ chọc ối dương tính ở thai phụ có triệu chứng phát ban chiếm 48,7%, cao gấp gần 9 lần tỷ lệ này ở thai phụ không có triệu chứng phát ban (8,7%). Tuy nhiên chưa tìm thấy mối liên quan giữa tuổi thai nhiễm rubella và thai phụ có triệu chứng phát ban với kết quả chọc dịch ối dương tính ở thai phụ. Tỷ lệ chọc ối dương tính ở thai phụ có triệu chứng nổi hạch chiếm 37,5%, thấp hơn với tỷ lệ này ở thai phụ không có nổi hạch (40,3%).

Để chẩn đoán nhiễm rubella trong giai đoạn hiện nay nói chung, thai phụ nhiễm rubella nói riêng chủ yếu dựa vào dấu hiệu lâm sàng như: sốt nhẹ, phát ban từ mặt lan xuống thân và có thể nổi hạch... Tiếp đến là yếu tố dịch tễ học hay nguồn lây nhiễm; thứ ba là các xét nghiệm sinh hóa miễn dịch, đặc biệt là IgM dương tính hay không? Trong nghiên cứu này, chúng tôi chẩn đoán chủ yếu dựa vào dấu hiệu lâm sàng như phát ban, sốt nhẹ và nổi hạch và xét nghiệm sinh hóa miễn dịch, tuy nhiên đa số các thai phụ đều không rõ nguồn lây. Tất cả các trường hợp này đều được siêu âm chẩn đoán hình thái học nhưng chưa phát hiện thấy các bất thường gì mặc dù đều làm siêu âm ở thời điểm tối thiểu 20 tuần [3].

Trong số tuổi thai nhiễm rubella từ 13 - 15 tuần có 19 mẫu dịch ối dương tính chiếm (38,0%), có 31 mẫu dịch ối âm tính chiếm (62,0%). Tuổi thai nhiễm rubella <12 tuần có 12 mẫu dịch ối dương tính chiếm (40,0%), có 18 mẫu dịch ối âm tính chiếm (60,0%). Tuổi thai nhiễm rubella từ 16 - 18 tuần có 8 mẫu dịch ối dương tính chiếm (42,1%), có 11 mẫu dịch ối âm tính chiếm (57,9%).

Tất cả các trường hợp này đều có dấu hiệu lâm sàng phát ban và xét nghiệm IgG dương tính, IgM dương tính. Theo Shigetaka Katow virus được phát hiện ở bánh rau sau 10 ngày mẹ bị nhiễm và sau 35-45 ngày mới tìm thấy virus trong bệnh phẩm thai nhi như: dịch ối và máu cuống rốn [6]. Vì vậy chúng tôi đã tiến hành chọc hút dịch ối chẩn đoán thai nhi nhiễm Rubella sau 5 tuần tính từ ngày có dấu hiệu phát ban cho tất cả 99 trường hợp nghiên cứu trên. Trong 99 thai phụ được chọc ối làm xét nghiệm dịch chọc ối bằng kỹ thuật PCR cho kết quả dương tính 39 trường hợp, chiếm 39,4%, kết quả âm tính 60 trường hợp chiếm 60,6%.

Trong nghiên cứu này cho thấy độ nhạy của phương pháp chọc ối RT-PCR đạt kết quả cao 96,6%, độ đặc hiệu là 100%, độ chính xác của phương pháp PCR dịch ối với xét nghiệm máu cuống rốn IgM là 98,4%. Theo tác giả Bùi xuân Nghĩa và cộng sự, ứng dụng kỹ thuật Nested PCR trên 20 bệnh nhân nghiên cứu chọc ối có xét nghiệm máu IgM (+), cho thấy có 11 trường hợp dịch chọc ối (+) chiếm 55%, có độ đặc hiệu 100% [7]. Theo tác giả Lê Anh Tuấn và cộng sự, chọc ối 5 trường hợp đều cho kết quả chính xác với kết quả sinh hóa miễn dịch [3]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 1 kết quả chọc ối dương tính, tuy nhiên khi xét nghiệm kháng thể IgM âm tính, có thể lúc đình chỉ thai

ngén thai nhi dưới 20 tuần nên chưa đủ khả năng tạo nên kháng thể đặc hiệu. Điều này cho thấy giá trị bước đầu của phương pháp chẩn đoán xác định nhiễm virus rubella ở thai nhi.

Hiện nay trên thế giới, việc áp dụng tiêm chủng hàng loạt cho những bé gái trước thời kỳ sinh sản, vì vậy bệnh rubella đã và đang được kiểm soát rất tốt, đặc biệt tại các nước phát triển [2]. Do đó số lượng các thai phụ bị nhiễm Rubella trong thời kỳ thai nghén và số lượng trẻ bị hội chứng rubella bẩm sinh cũng theo đó giảm đáng kể. Tuy nhiên ở nước ta do chưa đưa vaccin rubella vào tiêm chủng mở rộng nên hàng năm còn một số lượng nhất định các bà mẹ mang thai bị mắc rubella. Đặc biệt trong những đợt dịch lớn ở các địa phương nhiều thai phụ bị nhiễm rubella cho nên việc chẩn đoán xác định thai nhi nhiễm rubella là một vấn đề được nhiều nước quan tâm nghiên

cứu. Như vậy, áp dụng phương pháp chọc ối bằng kỹ thuật PCR-realtime để chẩn đoán thai nhi nhiễm rubella có độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

5. Kết luận

Trong 99 thai phụ được chọc ối làm xét nghiệm dịch chọc ối bằng kỹ thuật PCR cho kết quả dương tính 39,4%, kết quả âm tính chiếm 60,6%. Có mối liên quan giữa triệu chứng sốt và phát ban với kết quả chọc ối dương tính ở thai phụ.

Độ nhạy của phương pháp chọc ối PCR-Realtime đạt kết quả cao 94,9%, độ đặc hiệu là 100%, độ chính xác của phương pháp PCR dịch ối với xét nghiệm máu cuống rốn IgM là 98,0%. Nên áp dụng kỹ thuật PCR- Realtime xét nghiệm dịch ối để chẩn đoán xác định thai nhi nhiễm rubella cho tất cả các thai phụ nhiễm rubella.

Tài liệu tham khảo

1. Klaus-Peter Wandinger, Sandra Saschenbrecker và cộng sự. Diagnosis of recent primary rubella virus infections: Significance of glycoprotein-based IgM serology, IgG avidity and immunoblot analysis, Journal of Virological Methods. 2011;174: 85–93.
2. Organisation mondiale de la Santé. Directives concernant la surveillance du syndrome de rubéole congénitale et de la rubéole - WHO/V&B/99.22. 1999.
3. Lê Anh Tuấn, Hoàng Thị Ngọc Lan, Nguyễn Quảng Bắc và cộng sự. Báo cáo 5 trường hợp chọc hút dịch ối chẩn đoán thai nhi nhiễm virus rubella bằng kỹ thuật Realtime - PCR tại Bệnh viện Phụ Sản Trung ương. Tạp chí y học Việt Nam. 2011; Tập 387, số 1, tháng 11/2011, tr 10- 13.
4. Linda Ho-Terry, George M. Terry and Philip

Londesborough. Diagnosis of foetal rubella virus infection by polymerase chain reaction, Journal of General Virology. 1990;71: 1607-1611.

5. Lê Diễm Hương, Lê Quang Tân, Phạm Văn Ánh và cộng sự. Nhận xét một số trường hợp mắc hội chứng rubella bẩm sinh đề xuất biện pháp phòng ngừa. Hội nghị Việt – Pháp về sản phụ khoa vùng Châu á Thái Bình Dương lần 5. 2005. tr 101 – 106.

6. Shigetaka Katow. Rubella Virus Genome Diagnosis during Pregnancy and Mechanism of Congenital Rubella, Intervirology 1998;41:163–169.

7. Vũ Xuân Nghĩa, Phạm Đức Minh, Nguyễn Quảng Bắc và cộng sự. Nghiên cứu thiết kế Nested PCR phát hiện virus rubella trong dịch ối thai phụ. Tạp chí y học thực hành. 2011 ; số 11/2011, tr 55-57.