

**BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ GIÁ TRỊ CỦA XÉT NGHIỆM 16S rRNA-real-time
ExBP-RT-PCR TRONG CHẨN ĐOÁN LAO PHỔI MỚI**

Đào Ngọc Bằng^{1}, Nguyễn Chí Tuấn¹
Nguyễn Thị Hoan¹, Tạ Bá Thắng¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá kết quả của xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR trong chẩn đoán lao phổi mới. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiền cứu, mô tả, cắt ngang trên 40 bệnh nhân (BN) lao phổi và 20 BN viêm phổi cộng đồng, điều trị nội trú tại Trung tâm hô hấp, Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 9/2021 - 11/2022. Đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR trong chẩn đoán lao phổi, so sánh với kết quả xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif. **Kết quả:** Xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR dương tính ở 37 BN (92,5%). Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm lần lượt là 92,5%, 100%, 100% và 86,95%. Tỷ lệ dương tính của xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR cao hơn GeneXpert/Mtb-Rif chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). **Kết luận:** Xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính trong chẩn đoán lao phổi mới cao.

Từ khoá: Lao phổi; 16S rRNA; PCR.

**INITIAL EVALUATION OF THE 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR TEST
VALUE IN NEWLY DIAGNOSED PULMONARY TUBERCULOSIS**

Abstract

Objectives: To evaluate the results of the 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR test in newly diagnosed pulmonary tuberculosis. **Methods:** A prospective, cross-sectional, descriptive study was conducted on 40 pulmonary tuberculosis patients and 20 community-acquired pneumonia patients treated as inpatients at the Respiratory Center, Military Hospital 103, from September 2021 to November 2022.

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Đào Ngọc Bằng (bsdaongocbang@gmail.com)

Ngày nhận bài: 03/01/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 25/01/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v49i2.652>

Evaluating the sensitivity and specificity of the 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR test in diagnosing pulmonary tuberculosis, compared with the results of the GeneXpert/Mtb-Rif test. **Results:** Results of the 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR test were positive in 37 patients (92.5%). The sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of the test were 92.5%, 100%, 100%, and 86.95%, respectively. The positive proportion of the 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR test was higher than GeneXpert/Mtb-Rif but was not statistically significant ($p > 0.05$). **Conclusion:** The 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR test has high sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value in newly diagnosed pulmonary tuberculosis.

Keywords: Pulmonary tuberculosis; 16S rRNA; PCR.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh lao là một gánh nặng bệnh tật trên toàn cầu, là nguyên nhân gây tử vong thứ hai trong các bệnh truyền nhiễm. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), năm 2022 có khoảng 7,5 triệu người mới mắc lao, 10,6 triệu người mắc lao và 1,3 triệu người tử vong do lao [1]. Trước đây, chẩn đoán xác định lao phổi chủ yếu dựa vào soi AFB trực tiếp trong đờm, tuy nhiên, độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm này không cao, dẫn đến chẩn đoán muộn [2]. Xét nghiệm nuôi cấy Mtb có độ đặc hiệu cao, nhưng thời gian chờ kết quả kéo dài. Cùng với sự phát triển của công nghệ sinh học phân tử, xét nghiệm PCR và GeneXpert/Mtb-Rif được ứng dụng rộng rãi, cho kết quả sớm với độ

nhạy và độ đặc hiệu cao. Tuy nhiên, hạn chế của hai xét nghiệm này là không đánh giá được tình trạng hoạt động của vi khuẩn lao (không phân biệt được vi khuẩn lao sống hay chết), đồng thời, có thể xảy ra âm tính hoặc dương tính giả [3]. Một số nghiên cứu cho thấy xét nghiệm sinh học phân tử dựa trên phát hiện RNA của vi khuẩn lao đánh giá được tình trạng hoạt động của vi khuẩn lao, bởi thời gian bán hủy của rRNA ngắn (chỉ trong vòng vài ngày). Gene 16S rRNA là gene đích có cấu trúc đặc trưng cho mỗi vi khuẩn khác nhau và được sử dụng nhiều trong các xét nghiệm xác định các vi khuẩn [4]. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu: *Đánh giá kết quả của xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR trong chẩn đoán lao phổi mới.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* Nhóm BN lao phổi (nhóm nghiên cứu) gồm 40 BN được chẩn đoán xác định lao phổi mới; nhóm BN viêm phổi (nhóm chứng) gồm 20 BN được chẩn đoán xác định viêm phổi cộng đồng. Các BN điều trị nội trú tại Trung tâm hô hấp, Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 9/2021 - 8/2022.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* BN lao phổi mới dựa vào kết quả xét nghiệm nuôi cấy Mtb dương tính trong đờm hoặc dịch phế quản và theo tiêu chuẩn của Bộ Y tế năm 2020 [5]; BN viêm phổi cộng đồng theo tiêu chuẩn của Hội Lồng ngực Mỹ và Hội Bệnh nhiễm trùng Mỹ năm 2007 [6]; tuổi ≥ 18 ; đồng ý tham gia nghiên cứu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* BN có kèm các bệnh nhiễm trùng khác và không hợp tác nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Cỡ mẫu nghiên cứu:* Chọn mẫu thuận tiện.

* *Phương pháp tiến hành:* BN được khám lâm sàng, thu thập các biến số theo mục tiêu nghiên cứu và làm các

xét nghiệm công thức máu, sinh hoá máu, X-quang ngực quy ước, AFB, cấy khuẩn, cấy Mtb ở môi trường MGIT, xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif đờm tại Bệnh viện Quân y 103 ở thời điểm nhập viện. Những BN có kết quả AFB đờm âm tính, được nội soi phế quản lấy dịch phế quản xét nghiệm AFB, cấy khuẩn, cấy Mtb ở môi trường MGIT và xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif.

Xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR thực hiện tại Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Đánh giá kết quả nhuộm soi AFB trực tiếp, nuôi cấy Mtb, GeneXpert/Mtb-Rif theo Chương trình Chống lao Quốc gia [5].

Đánh giá kết quả xét nghiệm 16S rRNA-real-time ExBP-RT-PCR như sau: Không có Mtb; có Mtb, dương tính mạnh khi giá trị Ct ≤ 29 ; có Mtb, dương tính trung bình khi giá trị Ct 30 - 37; có Mtb, dương tính yếu khi giá trị Ct 38 - 40.

* *Xử lý số liệu:* Bằng phần mềm thống kê SPSS 20.0 theo các thuật toán thống kê y học.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được chấp thuận bởi Hội Đồng Đạo đức cơ sở số 163B/HĐĐĐ ngày 16/9/2021 tại Bệnh viện Quân y 103.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm BN nghiên cứu.

Thông số	Nhóm lao phổi (n ₁ = 40)	Nhóm chứng (n ₂ = 20)	p
Nam, n (%)	29 (72,5)	16 (80,0)	p > 0,05
Nữ, n (%)	11 (27,5)	4 (20,0)	
Tuổi ($\bar{X} \pm SD$)	52,1 ± 19,42	45,55 ± 14,54	p < 0,05

Tuổi trung bình của nhóm BN lao phổi là 52,1 ± 19,42, cao hơn nhóm viêm phổi là 45,55 ± 14,54 tuổi, có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Tỷ lệ phân bố về giới tính không có sự khác biệt giữa hai nhóm.

Bảng 2. Kết quả xét nghiệm vi sinh ở hai nhóm BN nghiên cứu.

Kết quả	Nhóm lao phổi (n ₁ = 40)	Nhóm chứng (n ₂ = 20)
Xét nghiệm AFB (n, %)		
1 - 9 AFB/100 vi trường	2 (5,0)	0 (0,0)
1 +	2 (5,0)	0 (0,0)
2 +	2 (12,5)	0 (0,0)
3 +	11 (27,5)	0 (0,0)
Âm tính	20 (50,00)	20 (100)
Xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif (n, %)		
Âm tính	6 (15,0)	20 (100)
Dương tính	34 (85,0)	0 (0,0)
Giá trị so với nuôi cấy	Se = 85%; Sp = 100%; NPV = 100%; PPV = 76,92%.	

Nhóm BN lao phổi có kết quả xét nghiệm AFB dương tính là 50%, xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif dương tính là 85%; nhóm chứng có kết quả xét nghiệm AFB dương tính và GeneXpert/Mtb-Rif đều âm tính. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif ở nhóm lao phổi lần lượt là 85%, 100%, 100% và 76,92%.

CHÀO MỪNG 75 NĂM NGÀY TRUYỀN THỐNG HỌC VIỆN QUÂN Y

Bảng 3. Kết quả xét nghiệm 16S rRNA-Real-time ExBP-RT-PCR so với nuôi cấy.

Kết quả	Nhóm lao phổi (n ₁ = 40)	Nhóm chứng (n ₂ = 20)
Dương tính; n (%)	37 (92,5)	0 (0,00)
Âm tính; n (%)	3 (7,5)	20 (100)
Giá trị với nuôi cấy	Se = 92,5%; Sp = 100%; NPV = 100%; PPV = 86,95%	

Kết quả xét nghiệm 16S rRNA-Real-time ExBP-RT-PCR ở nhóm lao phổi dương tính với 37 BN (92,5%) với độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính so với nuôi cấy Mtb lần lượt là 92,5%, 100%, 100% và 86,95%.

Bảng 4. Kết quả xét nghiệm 16S rRNA-Real-time ExBP-RT-PCR so với GeneXpert.

Kết quả	16S rRNA-Real-time ExBP-RT-PCR (n = 40)	GeneXpert/Mtb-Rif (n = 40)	p
Dương tính; n (%)	37 (92,5)	34 (85)	> 0,05
Âm tính; n (%)	3 (7,5)	6 (15)	> 0,05

Tỷ lệ dương tính của xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR chưa có sự khác biệt với kết quả xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

1. Đặc điểm chung BN lao phổi

Đặc điểm tuổi và giới tính: Giới tính của nhóm lao phổi trong nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu là nam giới, với tỷ lệ nam/nữ là 3/1. Đặc điểm này phù hợp với đặc điểm về giới mắc bệnh lao tại Việt Nam [1, 7]. Lứa tuổi của BN

chủ yếu ≥ 50 tuổi, với độ tuổi trung bình là $52,1 \pm 19,42$. Kết quả cho thấy BN ở độ tuổi này thường có nhiều bệnh mạn tính đồng mắc, là yếu tố nguy cơ mắc bệnh lao. Kết quả nghiên cứu của Kang W và CS (2021) cho thấy, 70% BN có ít nhất một yếu tố nguy cơ hay bệnh đồng mắc như bệnh tim mạch và đái tháo đường [8].

Kết quả xét nghiệm AFB và GeneXpert/Mtb-Rif: Tỷ lệ AFB dương tính ở nhóm BN lao phổi là 50% và xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif dương tính là 85%. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif so với kết quả nuôi cấy Mtb lần lượt là 85%, 100%, 100% và 76,92%. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây về xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif của Zhiyi L (2022)... với độ nhạy của xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif từ 61,8 - 85%, và độ đặc hiệu 98 - 99% [9]. Các nghiên cứu cũng cho thấy độ nhạy của xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif cao ở BN có AFB dương tính và thấp ở BN ho máu (dễ có kết quả âm tính giả). Đây cũng là nhược điểm của xét nghiệm GeneXpert MTB/RIF trong chẩn đoán BN lao phổi có ho máu.

2. Giá trị xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR trong chẩn đoán lao phổi

Kết quả xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR ở 40 BN lao phổi mới cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm lần lượt là 92,5%, 100%, 100% và 86,95%. Kết quả cho thấy xét nghiệm 16S rRNA

real-time ExBP-RT-PCR có độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Khi so sánh với các nghiên cứu trước đây, chúng tôi nhận thấy kết quả này tương tự với kết quả các nghiên cứu trên thế giới sử dụng gene đích là 16S rRNA, như Horita N và CS (2016), Choi Y và CS (2015), Huh HJ và CS (2015),... [10, 11, 12]. Sự khác biệt về độ nhạy và độ đặc hiệu trong các nghiên cứu liên quan đến tiêu chuẩn chọn nhóm BN nghiên cứu, bệnh phẩm xét nghiệm, kỹ thuật phân tích bệnh phẩm và cỡ mẫu của từng nghiên cứu. Đây là một kết quả khả quan, cho thấy hiệu quả cao của xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR trong chẩn đoán lao phổi. Một ưu điểm của xét nghiệm RNA là đánh giá được Mtb hoạt động (Mtb sống) tương tự như xét nghiệm nuôi cấy. Vì vậy, xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR còn ứng dụng trong chẩn đoán lao tái phát.

So sánh với kết quả xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR với xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif, chúng tôi nhận thấy, chưa có sự khác biệt về kết quả giữa hai kỹ thuật này. Như vậy, bước đầu cho thấy xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR có hiệu quả chẩn đoán cao tương tự như xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif và còn

có ưu điểm hơn là đánh giá được tình trạng vi khuẩn lao hoạt động. Tuy nhiên, cỡ mẫu nghiên cứu này chưa đủ lớn. Vì vậy, cần phải đánh giá trên số lượng mẫu lớn hơn để đánh giá chính xác sự khác biệt về độ nhạy và độ đặc hiệu của hai kỹ thuật xét nghiệm này.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu giá trị của xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR trong chẩn đoán lao phổi mới trên 40 BN, kết quả bước đầu cho thấy: Xét nghiệm 16S rRNA real-time ExBP-RT-PCR có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính cao và tương đương xét nghiệm GeneXpert/Mtb-Rif trong chẩn đoán lao phổi mới.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn UBND Thành phố Hà Nội đã cấp kinh phí cho đề tài mã số 01C-08/02-2021-3, nghiên cứu thuộc chương trình Khoa học và Công nghệ cấp thành phố và Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ thực hiện đề tài và chúng tôi cam kết không xung đột lợi ích từ kết quả nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. WHO. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization. 2022.

2. Cattamanchi A, Dowdy DW, Davis JL, et al. Sensitivity of direct versus concentrated sputum smear microscopy in HIV-infected patients suspected of having pulmonary tuberculosis. *BMC Infect Dis.* 2009; 9(1):53.

3. Pang Y, Lu J, Su B, et al. Misdiagnosis of tuberculosis associated with some species of nontuberculous mycobacteria by GeneXpert MTB/RIF assay. *Infection.* 2017; 45(5):677-681.

4. Emerson JB, Adams RI, Román CMB et al. Schrödinger's microbes: Tools for distinguishing the living from the dead in microbial ecosystems. *Microbiome* 5. 2017; 86.

5. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và dự phòng bệnh lao. 2020.

6. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious diseases society of America/American thoracic society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clinical infectious diseases: An official publication of the infectious diseases society of America.* 2007; 44 Suppl 2(Suppl 2):27-72.

7. Phạm Ngọc Hào. Nghiên cứu giá trị của lâm sàng, X-quang phổi chuẩn và PCR trong chẩn đoán lao phổi AFB tính. *Luận văn cao học*, Đại học Y Hà Nội. 2013.

8. Kang W, Du J, Yang S, et al. The prevalence and risks of major comorbidities among inpatients with pulmonary tuberculosis in China from a gender and age perspective: A large-scale multicenter observational study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021; 40:787-800.
9. Zhiyi L. The Value of GeneXpert MTB/RIF for detection in tuberculosis: A bibliometrics-based analysis and review. *J Anal Methods Chem.* 2022 Oct ;15:2915018.
10. Horita N, Yamamoto M, Sato T, et al. Sensitivity and specificity of Cobas TaqMan MTB real-time polymerase chain reaction for culture-proven *Mycobacterium tuberculosis*: Meta-analysis of 26999 specimens from 17 Studies. *Sci Rep* 5. 2016; 18113.
11. Choi Y, Hong SR, Jeon BY, et al. Conventional and real-time PCR targeting 16S ribosomal RNA for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015; 19:1102-1108.
12. Huh HJ, Koh WJ, Song DJ, et al. Evaluation of the Cobas TaqMan MTB test for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex according to acid-fast-bacillus smear grades in respiratory specimens. *Journal of clinical microbiology.* 2015; 53(2):696-698.