

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CỘNG SINH CỦA *TRICHOMONAS VAGINALIS* VÀ *MYCOPLASMA HOMINIS* BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC PHÂN TỬ TRÊN PHỤ NỮ ĐỘ TUỔI SINH SẢN Ở TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Hà Thị Ngọc Thúy, Tôn Nữ Phương Anh, Ngô Thị Minh Châu, Lê Chí Cao
Bộ môn Ký sinh trùng, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Trùng roi âm đạo *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) là tác nhân gây nhiễm trùng qua đường tình dục không do virus phổ biến nhất, nhiễm *T. vaginalis* là một vấn đề sức khỏe lớn của cộng đồng. Hiện tượng cộng sinh giữa *T. vaginalis* và *M. hominis* liên quan đến biểu hiện lâm sàng nặng của nhiễm *T. vaginalis* đã được xác định bởi nhiều nghiên cứu khác trên thế giới nhưng chưa có nghiên cứu nào ở Việt Nam. **Mục tiêu:** Xác định tỉ lệ nhiễm *T. vaginalis* ở phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế; Khảo sát tỉ lệ đồng nhiễm và cộng sinh giữa *T. vaginalis* và *M. hominis*. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang và nghiên cứu phòng thí nghiệm các chủng *T. vaginalis* ở Việt Nam. **Kết quả:** Tỉ lệ nhiễm *T. vaginalis* trên phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế là 0,5%; Tỉ lệ đồng nhiễm và cộng sinh của *T. vaginalis* với *M. hominis* lần lượt là 37,5% và 29,2%. **Kết luận:** Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam ghi nhận sự cộng sinh giữa *M. hominis* và *T. vaginalis* bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

Từ khóa: *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, cộng sinh.

Abstract

THE SYMBIOSIS CHARACTERISTICS OF *TRICHOMONAS VAGINALIS* AND *MYCOPLASMA HOMINIS* BY MOLECULAR TECHNIQUES ON WOMEN AT HUE PROVINCE

Ha Thi Ngoc Thuy, Ton Nu Phuong Anh, Ngo Thi Minh Chau, Le Chi Cao
Parasitology Department, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: The flagellate protist *Trichomonas vaginalis* is the causative agent of the most common non-viral sexually transmitted infection. *T. vaginalis* is a major health problem in the community. Symbiotic between *T. vaginalis* and *M. hominis* related to severe clinical manifestations of *T. vaginalis* infection and have been identified by many studies in the world but currently, there has not been studied in Vietnam. **Objectives:** To identify the rate of *Trichomonas vaginalis* infection in women visiting the Thua Thien Hue Reproductive Health Care Centre and the proportion of coinfection and symbiosis of *T. vaginalis* with *M. hominis*. **Methodology:** Cross-sectional and in-vitro study of vaginal discharge infected by *T. vaginalis*. **Results:** The rate of *Trichomonas vaginalis* infection in women visiting the Thua Thien Hue Reproductive Health Care Centre was 0.5%; the proportion of coinfection and symbiosis of *T. vaginalis* and *M. hominis* were 37.5% and 29.2% respectively. **Conclusion:** This is the first study in Vietnam recording the symbiosis between *T. vaginalis* and *M. hominis* by molecular techniques.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, symbiosis.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trùng roi âm đạo *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) là tác nhân gây nhiễm trùng qua đường tình dục không do virus phổ biến nhất. Theo Tổ chức Y tế thế giới hàng năm có khoảng 170-190 triệu người nhiễm *T. vaginalis*. Nhiễm *T. vaginalis* có thể

gây viêm âm đạo, viêm cổ tử cung, viêm niệu đạo, viêm vùng chậu dẫn đến vô sinh, đẻ non, tăng nguy cơ nhiễm HIV và ung thư cổ tử cung. Bên cạnh đó, có một tỷ lệ khá cao (10% - 50%) phụ nữ nhiễm không triệu chứng. Ở nam giới, khoảng 75% trường hợp mắc *T. vaginalis* không có triệu chứng nhưng có thể

Địa chỉ liên hệ: Hà Thị Ngọc Thúy, email: msngocthuy@gmail.com

Ngày nhận bài: 13/6/2018, Ngày đồng ý đăng: 15/2/2019; Ngày xuất bản: 25/2/2019

DOI: 10.34071/jmp.2019.1.4

dẫn đến viêm niệu đạo, viêm tiền liệt tuyến, ung thư tiền liệt tuyến [10]. Điều này làm cho nhiễm *T. vaginalis* là một vấn đề sức khỏe lớn của cộng đồng. *T. vaginalis* là loài đơn bào có kích thước lớn (10-20µm x 2-14µm), trong điều kiện ký sinh *T. vaginalis* hấp thu các chất dinh dưỡng từ dịch tiết âm đạo, hệ khuẩn chí âm đạo vì nó không thể tổng hợp được các phân tử và lipid giúp cho việc chuyển hóa tế bào [6]. *Mycoplasma hominis* là vi khuẩn thuộc nhóm *Mycoplasma* ở khuẩn chí âm đạo, *M. hominis* có bộ gen rất nhỏ, thiếu vách tế bào, không tổng hợp được acid béo, mất các gen về tổng hợp acid amin nên *M. hominis* thường sống cộng sinh nội bào và chuyển hóa phụ thuộc vào ký chủ của nó là *T. vaginalis* [4],[7]. Bên cạnh đó hiện tượng cộng sinh giữa *T. vaginalis* và *M. hominis* liên quan đến biểu hiện lâm sàng nặng của nhiễm *T. vaginalis* đã được xác định bởi nhiều nghiên cứu khác trên thế giới [2],[5],[9]. Sự cộng sinh của *M. hominis* với *T. vaginalis* chưa có nhiều nghiên cứu ở Việt nam. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với các mục tiêu:

(1) Xác định tỉ lệ nhiễm *Trichomonas vaginalis* ở phụ nữ đến khám tại Trung tâm chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế;

(2) Khảo sát tỉ lệ đồng nhiễm và cộng sinh *Trichomonas vaginalis* và *Mycoplasma hominis* bằng kỹ thuật PCR

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Bộ môn Ký sinh trùng Trường Đại học Y Dược Huế và Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản tỉnh Thừa Thiên Huế từ tháng 3/2017 đến tháng 12/2017.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản tỉnh Thừa thiên Huế, Việt Nam.

- Chủng *T. vaginalis* phân lập từ các phụ nữ trên.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang và nghiên cứu phòng thí nghiệm

2.3.2. Kỹ thuật tiến hành: Bệnh phẩm dịch âm đạo được xét nghiệm trực tiếp với dung dịch nước

muối sinh lý để tìm mẫu dương tính *T. vaginalis*, mẫu dương tính với *T. vaginalis* từ Trung tâm chăm sóc sức khỏe sinh sản tỉnh TT Huế sẽ được chuyển ngay đến phòng thí nghiệm Bộ môn Ký sinh trùng, Trường Đại học Y Dược Huế để thực hiện nghiên cứu theo quy trình sau:

- Một phần bệnh phẩm được chiết tách DNA theo kit Gen Elute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit-G1N305-Sigma Aldrich để làm phản ứng PCR tìm *T. vaginalis*, *M. hominis*.

- Phần bệnh phẩm còn lại có chứa *T. vaginalis* được nuôi cấy thuần khiết *T. vaginalis* trong môi trường Diamond 10% huyết thanh phôi bò và kháng sinh, kháng nấm. Mẫu nuôi cấy được thay môi trường hằng ngày (24 giờ) cho đến khi mẫu nuôi cấy sạch tế bào người, không còn vi khuẩn, nấm. Thời gian nuôi cấy trung bình 2 tuần để được chủng *T. vaginalis* thuần khiết ($10^5 - 10^6$ tế bào/ml).

- Chủng *T. vaginalis* thuần khiết thu được, một phần sẽ được lưu trữ ở - 80°C để thực hiện bước tiếp theo và cho các nghiên cứu khác, phần còn lại được tách chiết DNA theo kit Gen Elute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit - G1N305 - Sigma Aldrich để làm phản ứng PCR với *M. hominis*.

- Quy trình kỹ thuật PCR phát hiện *M. hominis* với mồi RNH1-RNH2 theo quy trình của D.Riley (1992) và A.Blanchard (1993) [1],[8].

Sản phẩm PCR được điện di ở Agarose 1% TAE và đọc kết quả.

- Nhận định đặc điểm đồng nhiễm và cộng sinh của *T. vaginalis* và *Mycoplasma sp.* như sau:

+ Có sự cộng sinh nội bào (endosymbiosis) của *Mycoplasma sp.* bên trong *T. vaginalis*: Nếu sản phẩm PCR từ bệnh phẩm dịch âm đạo dương tính với *T. vaginalis* và *M. hominis* kết hợp với sản phẩm PCR từ chủng *T. vaginalis* đã nuôi cấy thuần khiết cũng dương tính với *M. hominis*.

+ Có sự đồng nhiễm (co-infection) *T. vaginalis* và *Mycoplasma sp.*: Nếu sản phẩm PCR từ bệnh phẩm dịch âm đạo dương tính với *T. vaginalis* và *M. hominis* kết hợp với sản phẩm PCR từ chủng *T. vaginalis* đã nuôi cấy thuần khiết âm tính với *M. hominis*.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỉ lệ nhiễm *T. vaginalis* ở phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế

Bảng 1. Tỉ lệ nhiễm *Trichomonas vaginalis* ở phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế

	Số lượng	Tỉ lệ
Phụ nữ đến xét nghiệm DAD	4830	99,5%
Phụ nữ dương tính với <i>T. vaginalis</i>	24	0,5%
Tổng	4854	100%

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm *T. vaginalis* ở phụ nữ đến khám tại Trung tâm chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế là 0,5%.

3.2. Tỷ lệ đồng nhiễm và cộng sinh của *M. hominis* với *T. vaginalis*

Có 24 chủng *T. vaginalis* được phân lập từ dịch âm đạo của phụ nữ trong độ tuổi sinh sản từ tháng 3/2017 đến 12/2017 tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản tỉnh Thừa Thiên Huế. Ở mỗi chủng, phản ứng PCR được thực hiện ở 2 thời điểm: trước nuôi cấy và sau khi nuôi cấy thuần khiết.

Bảng 2. Tỷ lệ đồng nhiễm và cộng sinh của *M. hominis* với *T. vaginalis*

	Số lượng mẫu	Tỷ lệ nhiễm (%)
<i>T. vaginalis</i> nhiễm đơn thuần	8	33,3
<i>M. hominis</i> đồng nhiễm với <i>T. vaginalis</i>	9	37,5
<i>M. hominis</i> cộng sinh với <i>T. vaginalis</i>	7	29,2
Tổng số	24	100

Nhận xét: Tỷ lệ *T. vaginalis* nhiễm đơn thuần là 33,3%, tỷ lệ *M. hominis* đồng nhiễm với *T. vaginalis* là 37,5%; Tỷ lệ *M. hominis* cộng sinh với *T. vaginalis* là: 29,2%. Trong 24 chủng *T. vaginalis* dương tính thì *M. hominis* hiện diện ở 16 chủng, chiếm 66,7%.



Hình 1. Kết quả PCR *M. hominis*, Ladder 100bp, Lane 1: chứng dương 310 bp, lane 2: chứng âm. Lane 1,2,3,8,9,10,12: mẫu *T. vaginalis* dương tính với *M. hominis*.

4. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ nhiễm *T. vaginalis* ở phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế

Tỷ lệ nhiễm *T. vaginalis* của phụ nữ đến khám tại Trung tâm Chăm sóc SKSS tỉnh Thừa thiên Huế là 0,5%, so với nghiên cứu của chúng tôi vào năm 2014 là 0,7% ở đối tượng bệnh nhân có triệu chứng rõ ràng[14]. Tỷ lệ này phần nào làm rõ hơn tình hình nhiễm *T. vaginalis* ở Thừa thiên Huế nói riêng và của Việt Nam nói chung.

4.2. Tỷ lệ đồng nhiễm và cộng sinh của *T. vaginalis* với loài *M. hominis*.

Hiện tượng *M. hominis* cộng sinh bắt buộc bên trong *T. vaginalis* đã được nhiều nghiên cứu chứng minh. *T. vaginalis* đóng vai trò như một vector truyền bệnh của *M. hominis* gây biểu hiện lâm sàng nặng hơn ở người nhiễm cả 2 loại *T. vaginalis* và *M. hominis* hơn là chỉ nhiễm *T. vaginalis* đơn thuần [9]. Chính sự cộng sinh và đồng nhiễm hay chỉ nhiễm *T. vaginalis* đơn thuần mà làm cho biểu hiện lâm sàng của bệnh lý viêm âm đạo do *T. vaginalis* thay đổi từ không có triệu chứng đến các mức độ biểu hiện lâm

sàng khác nhau và gây ra nhiều biến chứng nặng [5],[11]. Đồng thời tỷ lệ không triệu chứng cũng rất thay đổi từ 10-50% theo các nghiên cứu khác nhau [3],[10]. Trong nghiên cứu của chúng tôi năm 2012 ở Huế thì tỷ lệ nhiễm *T. vaginalis* không triệu chứng là 10,9% và tỷ lệ nhiễm *M. hominis* trong các mẫu *T. vaginalis* là 57%[12]. Ở nghiên cứu này, sử dụng kỹ thuật nuôi cấy tế bào chúng tôi đã phân biệt được hiện tượng đồng nhiễm và cộng sinh của *M. hominis* với *T. vaginalis* có tỷ lệ tương ứng là 37,5% và 29,2%.

Đánh giá đặc điểm cộng sinh của các loài *Mycoplasma* là bước đầu tiên quan trọng để nghiên cứu cơ chế gây bệnh nặng của hiện tượng nhiễm trùng này mà chúng tôi khảo sát khi thực hiện kỹ thuật nuôi cấy tế bào và PCR.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đặc điểm cộng sinh của các loài *Mycoplasma sp.* trong *T. vaginalis* từ các mẫu bệnh phẩm của bệnh nhân đến khám phụ khoa ở Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế, chúng tôi rút ra những kết luận sau:

Tỷ lệ nhiễm *T. vaginalis* trên phụ nữ đến khám tại

Trung tâm chăm sóc sức khỏe sinh sản Thừa Thiên Huế là 0,5%

Tỉ lệ đồng nhiễm và cộng sinh của *T. vaginalis* với loài

M. hominis: 33,3% nhiễm *T. vaginalis* đơn thuần, 37,5% *T. vaginalis* đồng nhiễm với *M. hominis*, còn lại cộng sinh với *M. hominis* là 29,2%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Blanchard A. et al (1993), "Evaluation of intraspecies genetic variation within the 16S rRNA gene of *Mycoplasma hominis* and detection by polymerase chain reaction", *J Clin Microbiol.* 31(5), pp. 1358-61.
2. Dessì D. et al (2006), "Mycoplasma hominis and Trichomonas vaginalis: a unique case of symbiotic relationship between two obligate human parasites", *Front Biosci.* 11, pp. 2028-34.
3. Matini M. et al (2012), "Prevalence of Trichomonas vaginalis Infection in Hamadan City, Western Iran", *Iran J Parasitol.* 7(2), pp. 62-72.
4. Metwally A.M. et al (2014), "Detection, Characterization, and Molecular Typing of Human Mycoplasma spp. from Major Hospitals in Cairo, Egypt.", *The Scientific World Journal*, pp. 1-6.
5. Moodley P. et al (2002), "Trichomonas vaginalis is associated with pelvic inflammatory disease in women infected with human immunodeficiency virus", *Clin Infect Dis.* 34(4), pp. 519-22.
6. Petrin D., Delgaty K. and Bhatt R. (1998), "Clinical and Microbiological Aspects of Trichomonas vaginalis", *Clin Microbiol Rev.* 11(2), pp. 300-317.
7. Razin S. (1998), "Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas", *Microbiology and molecular biology reviews.* 61(4), pp. 1094-1156.
8. Riley E.D. et al (1992), "Development of a polymerase chain reaction-based diagnosis of Trichomonas vaginalis", *J Clin Microbiol.* 30(2), pp. 465-472.
9. Schee C. et al (2001), "Host and pathogen interaction during vaginal infection by Trichomonas vaginalis and Mycoplasma hominis or Ureaplasma urealyticum", *J Microbiol Methods.* 45(1), pp. 61-7.
10. Sutton M., Sternberg M. and Koumans H.E. (2007), "The prevalence of Trichomonas vaginalis infection among reproductive-age women in the United States, 2001-2004", *Clinical Infectious Diseases.* 45(10), pp. 1319-26.
11. Taylor-Robinson D. and Lamont R.F. (2011), "Mycoplasmas in pregnancy", *BJOG.* 118(2), pp. 164-74.
12. Ton Nu P.A. et al (2015), "Prevalence of Trichomonas vaginalis infection in symptomatic and asymptomatic women in Central Vietnam", *J Infect Dev Ctries.* 9(6), pp. 655-60.