

Nghiên cứu

Đánh giá bước đầu tính khả thi của nhuộm kép p16/ki-67 trên mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Trần Hương Giang^{1,2}, Hồ Thị Hồng Phát¹, Nguyễn Thị Thanh Trúc³, Lương Anh Khoa¹, Nguyễn Ngọc Lâm¹, Trần Nhật Thăng^{4,5}, Nguyễn Vũ Hà Phúc^{4,5}, Đỗ Thanh Thùy⁵, Nguyễn Thị Hào⁵, Nguyễn Đức Duy^{1*}

¹Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Bộ môn Mô phôi - Giải phẫu bệnh, Trường Y, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

³Bộ môn Xét nghiệm, Trường Điều dưỡng kỹ thuật y học, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

⁴Bộ môn Sản - Trường Y, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

⁵Khoa Phụ sản, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): Nguyễn Đức Duy, Email: duy.nd1@umc.edu.vn

Ngày nhận bài (Received): 03/05/2026; Ngày duyệt đăng (Accepted): 03/06/2026; Ngày xuất bản (Published): 10/08/2026

DOI:10.34071/jmp.2026.S-2.17

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Nhiễm HPV nguy cơ cao (HR-HPV) dai dẳng là nguyên nhân chính gây ung thư cổ tử cung (UTCTC), nhưng các phương pháp tầm soát hiện nay còn hạn chế trong phân biệt nhiễm thoáng qua với tổn thương cần can thiệp. Nhuộm kép p16/Ki-67 là xét nghiệm hóa tế bào miễn dịch giúp phát hiện hoạt động sinh ung của HPV và đang được ứng dụng ngày càng rộng rãi. Nghiên cứu này nhằm đánh giá bước đầu tính khả thi của kỹ thuật này trên mẫu tế bào học cổ tử cung (TBH CTC) nhúng dịch tại Bệnh viện Đại học Y Dược (BV ĐHYD) Thành phố Hồ Chí Minh.

Mục tiêu: Chuẩn hóa và đánh giá bước đầu việc triển khai nhuộm kép p16/Ki-67 (CINtec® PLUS Cytology) trên mẫu TBH CTC nhúng dịch tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu trên các trường hợp nhiễm HR-HPV có mẫu TBH CTC nhúng dịch (Liqui-Prep) tại BV ĐHYD TP.HCM. Xác nhận phương pháp theo CAP 2024 và CLSI EP12-IG 2023, đánh giá tính khả thi trên 39 ca nhiễm HR-HPV có mẫu TBC CTC nhúng dịch tại BV ĐHYD Thành phố Hồ Chí Minh (từ 01 - 04/2026). Nhuộm kép p16/Ki-67 bằng bộ CINtec® PLUS trên hệ thống Ventana BenchMark ULTRA. Tiêu bản được đánh giá về chất lượng, khả năng diễn giải, lỗi kỹ thuật và đối chiếu với kết quả tế bào học và mô bệnh học.

Kết quả: Phương pháp đạt tiêu chí kiểm tra xác nhận. Trong 25 trường hợp có mô bệnh học, tất cả tổn thương CIN2+ và ác tính đều dương tính trong khi đa số tổn thương từ CIN1 trở xuống ghi nhận âm tính. Một số nhiễu kỹ thuật không ảnh hưởng ý nghĩa đến diễn giải.

Kết luận: Nhuộm kép p16/Ki-67 có thể triển khai trên mẫu TBC CTC nhúng dịch tại cơ sở với chất lượng đạt yêu cầu, khả năng diễn giải tốt và tỷ lệ nhiễu kỹ thuật chấp nhận được, kết quả phù hợp với mức độ tổn thương trên mô bệnh học.

Từ khóa: p16/Ki-67; nhuộm kép; tế bào học cổ tử cung nhúng dịch; HPV nguy cơ cao; tính khả thi.

Preliminary feasibility assessment of p16/ki-67 dual staining on liquid-based cervical cytology samples at University Medical Center Ho Chi Minh City

Tran Huong Giang^{1,2}, Ho Thi Hong Phat¹, Nguyen Thi Thanh Truc³, Luong Anh Khoa¹, Nguyen Ngoc Lam¹, Tran Nhat Thang^{4,5}, Nguyen Vu Ha Phuc^{4,5}, Do Thanh Thuy⁵, Nguyen Thi Hao⁵, Nguyen Duc Duy^{1*}

¹Department of Pathology, University Medical Center Ho Chi Minh City, Vietnam

²Department of Histology, Embryology - Pathology, School of Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

³Department of Laboratory Medicine, School of Nursing and Medical Technology, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

⁵Department of Obstetrics and Gynecology, University Medical Center Ho Chi Minh City, Vietnam

Abstract

Background: Persistent infection with high-risk Human Papillomavirus (HR-HPV) is the main cause of cervical cancer. However, current screening methods remain limited in distinguishing transient infections from

clinically significant lesions requiring further intervention. p16/Ki-67 dual staining is an immunocytochemical assay that detects cellular alterations associated with HPV-mediated oncogenic transformation and has been increasingly incorporated into cervical cancer screening programs. This study aimed to provide a preliminary assessment of the feasibility of p16/Ki-67 dual staining on liquid-based cervical cytology samples at the University Medical Center Ho Chi Minh City.

Objective: To standardize and preliminarily assess the implementation of p16/Ki-67 dual staining (CINtec® PLUS Cytology) on liquid-based cervical cytology samples at the University Medical Center Ho Chi Minh City.

Materials and Methods: The study included HR-HPV-positive cases with liquid-based cervical cytology (LiquiPrep) at the University Medical Center Ho Chi Minh City. Method verification followed CAP 2024 and CLSI EP12-IG 2023 guidelines, and feasibility was assessed in 39 cases (January - April 2026). Dual staining was performed using the CINtec® PLUS kit on the Ventana BenchMark ULTRA system. Slides were evaluated for staining quality, interpretability, technical artifacts, and correlation with cytology and histopathology results.

Results: The method met verification criteria. Among 25 cases with histopathological correlation, all CIN2+ and malignant lesions were positive while most lesions ≤CIN1 were negative. Observed technical artifacts did not significantly affect interpretation.

Conclusion: p16/Ki-67 dual staining is feasible on liquid-based cervical cytology samples, providing adequate slide quality, good interpretability, and acceptable technical artifacts, with results consistent with histopathological severity.

Keywords: p16/Ki-67; dual staining; liquid-based cervical cytology; high-risk HPV; feasibility.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư cổ tử cung (UTCTC) là một trong những bệnh lý ác tính thường gặp nhất ở phụ nữ trên toàn thế giới. Theo GLOBOCAN 2022, mỗi năm có khoảng 660.000 trường hợp mắc mới và gần 350.000 trường hợp tử vong do UTCTC, trong đó phần lớn xảy ra tại các quốc gia có thu nhập thấp và trung bình [1]. Tại Việt Nam, UTCTC vẫn là một gánh nặng y tế đáng kể với khoảng 4.600 ca mắc mới và hơn 2.500 ca tử vong mỗi năm [2]. Nhiễm dai dẳng Human Papillomavirus (HR-HPV), đặc biệt là các type HPV 16 và HPV 18, được xác định là nguyên nhân chủ yếu dẫn đến sự hình thành và tiến triển của các tổn thương tiền ung thư cũng như UTCTC xâm nhập. Trong những năm gần đây, việc kết hợp xét nghiệm HPV DNA với tế bào học cổ tử cung đã góp phần nâng cao hiệu quả tầm soát UTCTC.

Tuy nhiên, phần lớn các trường hợp nhiễm HR-HPV có thể tự thoái lui mà không tiến triển thành tổn thương tiền ung thư hoặc ung thư. Do đó, việc xác định những bệnh nhân thực sự có nguy cơ cao cần được soi cổ tử cung hoặc sinh thiết vẫn là một thách thức trong thực hành lâm sàng. Điều này đặt ra nhu cầu về các xét nghiệm hỗ trợ có khả năng phản ánh hoạt động sinh học liên quan đến quá trình sinh ung do HPV thay vì chỉ phát hiện sự hiện diện của virus.

Nhuộm kép p16/Ki-67 (CINtec® PLUS Cytology) là một xét nghiệm hóa tế bào miễn dịch được phát triển nhằm phát hiện sự đồng biểu hiện của p16 và Ki-67 trong cùng một tế bào biểu mô cổ tử cung. Về mặt sinh học, sự đồng biểu hiện này phản ánh hiện tượng rối loạn điều hòa chu kỳ tế bào do tác động của các

oncoprotein HR-HPV và được xem là dấu hiệu của quá trình chuyển dạng tân sinh. Nhờ đó, nhuộm kép p16/Ki-67 đang được ứng dụng ngày càng rộng rãi như một xét nghiệm hỗ trợ trong chương trình tầm soát UTCTC tại nhiều quốc gia.

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu quốc tế đánh giá vai trò của nhuộm kép p16/Ki-67 trong các chiến lược tầm soát và theo dõi bệnh nhân nhiễm HR-HPV, dữ liệu về khả năng triển khai kỹ thuật này trong điều kiện thực hành thường quy tại Việt Nam vẫn còn hạn chế. Việc áp dụng một kỹ thuật mới không chỉ phụ thuộc vào hiệu quả lâm sàng đã được chứng minh trong y văn mà còn cần được đánh giá về tính khả thi tại cơ sở, bao gồm chất lượng tiêu bản, khả năng tạo tín hiệu nhuộm đặc hiệu, mức độ nhiễu kỹ thuật và khả năng diễn giải kết quả một cách nhất quán.

Tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, kỹ thuật nhuộm kép p16/Ki-67 mới được triển khai trên mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá bước đầu tính khả thi của kỹ thuật nhuộm kép p16/Ki-67 trên mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch, thông qua việc khảo sát chất lượng tiêu bản, khả năng diễn giải kết quả, các lỗi kỹ thuật thường gặp và mô tả mối liên quan bước đầu giữa kết quả nhuộm kép với các đặc điểm tế bào học và mô bệnh học cổ tử cung.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả triển khai kỹ thuật gồm hai giai đoạn: (1) xác nhận phương pháp nhuộm kép p16/

Ki-67 (CINtec® PLUS Cytology) trên mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch theo hướng dẫn CAP 2024 và CLSI EP12-IG 2023 [3, 4]; và (2) đánh giá bước đầu tính khả thi của kỹ thuật trên nhóm bệnh nhân nhiễm HR-HPV trong điều kiện thực hành thường quy tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch được thu thập tại Khoa Phụ sản, các xét nghiệm nhuộm kép p16/Ki-67 và đánh giá kết quả được thực hiện tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 01 năm 2026 đến tháng 04 năm 2026.

2.3. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch Liqui-Prep được lựa chọn để xác nhận phương pháp theo hướng dẫn CAP 2024 và CLSI EP12-IG 2023 [3, 4]. Các mẫu được bảo quản theo khuyến cáo của nhà sản xuất, có thời gian lưu không quá 3 tháng và còn tối thiểu 2 mL dịch tế bào học sau khi hoàn tất quy trình chẩn đoán thường quy. Tiêu chuẩn chọn vào gồm các trường hợp bệnh phẩm được bảo quản đúng cách và đủ mẫu dịch tế bào học để thực hiện nhuộm kép.

Các trường hợp không đủ tế bào để đánh giá, mẫu bị hư hỏng trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển, hoặc bệnh nhân đã được điều trị tổn thương CIN hay cắt bỏ cổ tử cung trước đó được loại khỏi nghiên cứu.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được chia làm 2 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Xác nhận phương pháp

Kỹ thuật nhuộm kép p16/Ki-67 được chuẩn hóa trên 20 mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch của bệnh nhân nhiễm HR-HPV có đối chiếu mô bệnh học, gồm 10 trường hợp CIN2+ (HSIL/CIN2, CIN3, AIS hoặc carcinôm) và 10 trường hợp CIN1 trở xuống. Tất cả các trường hợp đều dương tính với HR-HPV. Nhuộm kép được thực hiện bằng bộ kit CINtec® PLUS Cytology (Roche/Ventana, Hoa Kỳ) trên hệ thống nhuộm tự động BenchMark ULTRA (Ventana/Roche). Các kháng thể sử dụng trong xét nghiệm được trình bày ở Bảng 1. Mỗi đợt nhuộm kép, chúng tôi nhuộm kèm mẫu chứng dương (mẫu nhuộm kép đã được xác định dương tính trước đó) và mẫu chứng âm (mẫu nhuộm kép đã được xác định âm tính trước đó) ở 1 lam riêng biệt.

Bảng 1. Thông tin kháng thể sử dụng

Kháng thể	Loại kháng thể	Clone	Chromogen	Vị trí bắt màu
p16	Mouse monoclonal antibody	E6H4™	DAB (nâu)	Bào tương và nhân
Ki-67	Rabbit monoclonal antibody	274-11 AC3	Fast Red (đỏ)	Nhân tế bào

Mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch Liqui-Prep được xử lý và nhuộm kép p16/Ki-67 bằng bộ kit CINtec® PLUS Cytology trên hệ thống BenchMark ULTRA theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi ly tâm, tạo cặn tế bào, phết lam và cố định bằng cồn 95%, các tiêu bản được nhuộm tự động với quy trình thu hồi kháng nguyên, ủ cocktail kháng thể p16/Ki-67 và phát hiện tín hiệu bằng hệ thống chromogen kép DAB/Fast Red. Kết quả được đánh giá độc lập bởi hai bác sĩ giải phẫu bệnh, không biết thông tin mô bệnh học đối chiếu. Trường hợp được xem là dương tính khi có ít nhất một tế bào biểu mô cổ tử cung đồng biểu hiện p16 và Ki-67 trên cùng một tế bào. Các trường hợp không ghi nhận hiện tượng này được xếp vào nhóm âm tính. Những trường hợp bất đồng ý kiến được giải quyết bằng hội chẩn để đi đến kết luận đồng thuận. Độ đồng thuận giữa hai bác sĩ giải phẫu bệnh được định lượng bằng hệ số Cohen’s Kappa (κ), sử dụng thang phân loại của Landis và Koch (1977): $\kappa < 0,20$ = rất yếu, $0,21 - 0,40$ = yếu, $0,41 - 0,60$ = trung bình, $0,61 - 0,80$ = tốt, và $0,81 - 1,00$ = rất tốt.”

Giai đoạn 2: Đánh giá tính khả thi triển khai

Bao gồm 39 bệnh nhân có kết quả HR-HPV dương tính được thực hiện xét nghiệm tế bào học cổ tử

cung nhúng dịch tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh trong thời gian nghiên cứu.

Các tiêu chí đánh giá tính khả thi triển khai xét nghiệm bao gồm tỷ lệ tiêu bản đạt yêu cầu để diễn giải, khả năng nhận diện tín hiệu p16 và Ki-67, tỷ lệ nhuộm kép p16/Ki-67 dương tính, các lỗi kỹ thuật thường gặp (nhuộm nền p16, nhuộm không đặc hiệu, lắng đọng chromogen hoặc tín hiệu đỏ ngoài nhân) và mức độ ảnh hưởng của các lỗi này đến khả năng diễn giải kết quả. Ngoài ra, nghiên cứu còn khảo sát mối liên quan bước đầu giữa kết quả nhuộm kép p16/Ki-67 với các đặc điểm tế bào học và mô bệnh học cổ tử cung trên nhóm bệnh nhân nhiễm HR-HPV.

2.5. Phân tích thống kê

Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản 20.0.

Các biến định tính được trình bày bằng tần số và tỷ lệ phần trăm. Các biến định lượng được trình bày bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn.

Khảo sát kết quả nhuộm kép với các đặc điểm tế bào học và mô bệnh học được đánh giá bằng kiểm định Chi-bình phương hoặc kiểm định chính xác Fisher khi thích hợp. Giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

2.6. Đạo đức nghiên cứu:

Nghiên cứu đã được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh phê duyệt (mã số: 179/GCN-HĐĐĐ, ngày 05/12/2025) và được tiến hành phù hợp với các nguyên tắc của Tuyên bố Helsinki. Do không có sự tiếp xúc trực tiếp với người bệnh và dữ liệu được thu thập từ hồ sơ bệnh án sẵn có, nghiên cứu đã được chấp thuận miễn yêu cầu lấy văn bản đồng ý tham gia của bệnh nhân.

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả thực hiện xác nhận phương pháp quy trình nhuộm kép p16/Ki-67

Trước khi triển khai trên nhóm bệnh nhân nhiễm HR-HPV, kỹ thuật nhuộm kép p16/Ki-67 được thực hiện xác nhận phương pháp tại Khoa Giải phẫu bệnh trên 20 mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch Liqui-Prep. Các tiêu bản chứng dương và chứng âm đều cho kết quả phù hợp trong tất cả các lần chạy nhuộm.

Trong quá trình xác nhận phương pháp, một số tiêu bản không đủ điều kiện đánh giá do mật độ tế

bào thấp hoặc không đáp ứng yêu cầu về số lượng tế bào biểu mô cổ tử cung. Sau khi điều chỉnh lại quy trình nhuộm, toàn bộ 20 trường hợp được lựa chọn để xác nhận phương pháp đều đạt yêu cầu chất lượng. Các hiện tượng nhiễu kỹ thuật ghi nhận gồm nhuộm nền p16 (n = 1), nhuộm không đặc hiệu trên các tế bào không phải biểu mô (n = 2), lấm tấm đỏ ngoài nhân (n = 2) và lắng đọng chromogen đỏ ngoài nhân (n = 4), tuy nhiên không ảnh hưởng đáng kể đến việc diễn giải kết quả. Trong giai đoạn xác nhận phương pháp, độ đồng thuận giữa hai bác sĩ giải phẫu bệnh khi đọc mù độc lập 50 tiêu bản (25 dương tính, 25 âm tính) đạt 92% (46/50 tiêu bản đồng thuận). Hệ số Cohen's Kappa tính được là $\kappa = 0,84$, tương ứng mức độ đồng thuận "Almost perfect" (rất tốt) theo thang phân loại của Landis và Koch (1977)..."

3.2. Đặc điểm của nhóm bệnh nhân HPV nguy cơ cao

Sau giai đoạn chuẩn hóa, kỹ thuật được áp dụng trên 39 bệnh nhân nhiễm HR-HPV được thực hiện tế bào học cổ tử cung tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 01/2026 đến tháng 04/2026.

Bảng 2. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu HPV nguy cơ cao

Đặc điểm	Tần số	Tỉ lệ %
Kết quả Pap		
ASC-US	16	41,03
ASC-H	3	7,69
LSIL	4	10,26
HSIL	13	33,33
AIS	1	2,56
SCC	1	2,56
Carcinôm tuyến	1	2,56
Kết quả Giải phẫu bệnh (n = 25)		
NILM hoặc LSIL	18	72,00
HSIL - AIS trở lên	7	28,00
HPV type 16		
Âm tính	20	51,28
Dương tính	19	48,72
HPV type 18		
Âm tính	31	79,49
Dương tính	8	20,51
HPV type khác		
Âm tính	18	46,15
Dương tính	21	53,85

Đặc điểm	Tần số	Tỉ lệ %
Kết quả nhuộm kép		
Âm tính	19	48,72
Dương tính	20	51,28

* Báo cáo trung bình và độ lệch chuẩn

AIS: carcinôm tuyến tại chỗ; ASC-H: tế bào gai không điển hình, không loại trừ HSIL; ASC-US: tế bào gai không điển hình, ý nghĩa chưa xác định; HSIL: tổn thương trong biểu mô gai mức độ cao; LSIL: tổn thương trong biểu mô gai mức độ thấp; NILM: âm tính với tổn thương trong biểu mô hoặc ác tính; SCC: carcinôm tế bào gai, HPV: Human Papillomavirus

Tất cả 39 tiêu bản sau nhuộm đều đạt yêu cầu chất lượng, được nhuộm thành công và có thể diễn giải kết quả. Không ghi nhận trường hợp nào bị thất bại kỹ thuật. Trong các trường hợp nhiễm HR-HPV được đưa vào nghiên cứu, nhóm ASC-US chiếm tỷ lệ cao nhất (41,0%; 16/39), tiếp theo là HSIL (33,3%;

13/39). Có 25 trường hợp được đối chiếu mô bệnh học, trong đó 18 trường hợp thuộc nhóm NILM hoặc LSIL/CIN1 và 7 trường hợp thuộc nhóm HSIL/CIN2+, AIS hoặc carcinôm. Tỷ lệ nhuộm kép p16/Ki-67 dương tính là 51,3% (20/39), trong khi 48,7% (19/39) trường hợp cho kết quả âm tính.

Bảng 3. Mối liên quan giữa kết quả nhuộm kép p16/Ki-67 và các đặc điểm lâm sàng - kiểu gen HPV và mô bệnh học

Đặc điểm	Kết quả nhuộm kép			p
	Tổng (n = 39)	Âm tính (n = 19)	Dương tính (n = 20)	
Kết quả Pap (n = 39)				
Pap bất thường độ thấp	20 (51,28)	15 (75,00)	5 (25,00)	0,001 ^b
Pap bất thường độ cao	19 (48,72)	4 (21,05)	15 (78,95)	
Kết quả Giải phẫu bệnh (n = 25)				
NILM hoặc LSIL	18 (72,00)	15 (83,33)	3 (16,67)	< 0,001 ^b
HSIL - AIS trở lên	7 (28,00)	0 (0)	7 (100)	
HPV type 16 (n = 39)				
Âm tính	20 (51,28)	11 (55,00)	9 (45,00)	0,421 ^c
Dương tính	19 (48,72)	8 (42,11)	11 (57,89)	
HPV type 18 (n = 39)				
Âm tính	31 (79,49)	15 (48,39)	16 (51,61)	0,999 ^b
Dương tính	8 (20,51)	4 (50,00)	4 (50,00)	
HPV type khác (n = 39)				
Âm tính	18 (46,15)	8 (44,44)	10 (55,56)	0,621 ^c
Dương tính	21 (53,85)	11 (52,38)	10 (47,62)	

* Báo cáo trung bình và độ lệch chuẩn; ^a Kiểm định t với phương sai bằng nhau; ^b Kiểm định chính xác Fisher; ^c Kiểm định Chi bình phương

AIS: carcinôm tuyến tại chỗ; HSIL: tổn thương trong biểu mô gai mức độ cao; LSIL: tổn thương trong biểu mô gai mức độ thấp; NILM: âm tính với tổn thương trong biểu mô hoặc ác tính; Human Papillomavirus

Dựa trên Bảng 3, kết quả nhuộm kép p16/Ki-67 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với mức độ bất thường trên tế bào học cổ tử cung và kết quả mô bệnh học. Cụ thể, trong nhóm Pap bất thường độ cao, tỷ lệ nhuộm kép dương tính là 78,95% (15/19), cao hơn rõ rệt so với nhóm Pap bất thường độ thấp (25,00%; 5/20) (p = 0,001). Tương tự, ở 25 trường

hợp có kết quả mô bệnh học đối chiếu, toàn bộ 7 trường hợp HSIL–AIS trở lên đều cho kết quả nhuộm kép dương tính, trong khi phần lớn các trường hợp NILM hoặc LSIL có kết quả nhuộm kép âm tính (83,33%; 15/18), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,001). Ngược lại, không ghi nhận mối liên quan giữa kết quả nhuộm kép p16/Ki-67 với tình trạng

nhiễm HPV type 16 ($p = 0,421$), HPV type 18 ($p = 0,999$) hay các type HR-HPV khác ($p = 0,621$). Các kết quả này cho thấy nhuộm kép p16/Ki-67 có xu hướng phản ánh mức độ nặng của tổn thương tế bào học và mô bệnh học cổ tử cung hơn là tình trạng nhiễm các type HPV cụ thể.

Khi xét riêng trong nhóm Pap bất thường độ thấp, cả hai trường hợp được xác định là HSIL/CIN2+ trên mô bệnh học đều cho kết quả nhuộm kép dương tính, trong khi phần lớn các trường hợp còn lại không có tổn thương độ cao đều âm tính.

Các kết quả trên cho thấy sau khi được chuẩn hóa thành công tại cơ sở, kỹ thuật nhuộm kép p16/Ki-67 có thể triển khai ổn định trên nhóm bệnh nhân HR-HPV và tạo ra các kết quả phù hợp với mức độ bất thường trên tế bào học và mô bệnh học.

4. BÀN LUẬN

Ưu điểm nổi bật của nhuộm kép p16/Ki-67 trên mẫu LiquiPrep là khả năng phân tích đồng thời hình thái tế bào và biểu hiện dấu ấn sinh học liên quan HPV trên cùng một lam kính, tiết kiệm mẫu và thời gian so với các quy trình tế bào học và sinh học phân tử riêng lẻ [5]. Việc thực hiện tự động trên máy BenchMark ULTRA đảm bảo tính chuẩn hóa và khả năng tái lập của quy trình. Phương pháp phù hợp với hạ tầng kỹ thuật hiện có tại Khoa Giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, không đòi hỏi đầu tư thêm thiết bị chuyên biệt. Quy trình verification được thực hiện đồng thời theo hai tiêu chuẩn quốc tế uy tín như CAP 2024 và CLSI EP12 IG 2023 [3, 4], cung cấp bằng chứng đa chiều về hiệu năng phương pháp trước khi triển khai thường quy. Bên cạnh đó, hệ số đồng thuận đạt mức rất tốt ($\kappa = 0,84$), khẳng định tính nhất quán và khả năng tái lập của quy trình diễn giải kết quả trong điều kiện thực hành tại cơ sở.

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhuộm kép p16/Ki-67 có thể được triển khai hiệu quả trên mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch trong điều kiện thực hành thường quy tại cơ sở. Các hiện tượng nhiễu kỹ thuật được ghi nhận với tần suất thấp và không ảnh hưởng đáng kể đến việc diễn giải kết quả. Đồng thời, tất cả các tiêu bản đều đạt yêu cầu đánh giá. Những dữ liệu này cho thấy quy trình xét nghiệm có tính ổn định và phù hợp để ứng dụng trong hoạt động thường quy của phòng xét nghiệm.

Kết quả nhuộm kép cho thấy sự phù hợp cao với phân loại tổn thương trên Pap smear, với xu hướng âm tính ở nhóm tổn thương lành tính và dương tính ở nhóm tổn thương trong biểu mô độ cao. Trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi, toàn bộ các trường hợp NILM đều âm tính với nhuộm kép p16/Ki-67,

trong khi phần lớn các trường hợp HSIL-AIS trở lên cho kết quả dương tính. Khuyết hướng này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây cho thấy tỷ lệ dương tính p16/Ki-67 tăng dần theo mức độ nặng của bất thường tế bào học và mô học. Nghiên cứu PALMS cho thấy nhuộm kép p16/Ki-67 có thể đạt độ nhạy cao hơn Pap smear trong phát hiện CIN2+ mà vẫn duy trì độ đặc hiệu cao [6]. Nghiên cứu IMPACT cho thấy nhuộm kép p16/Ki-67 so với tế bào học cổ tử cung có độ nhạy cao hơn (91,4% so với 71,4%), giá trị tiên đoán âm cao hơn (97% so với 92,6%), mặc dù độ đặc hiệu thấp hơn (67,1% so với 73,3%) [7]. Do đó, việc đa số trường hợp HSIL-AIS trở lên trong nghiên cứu của chúng tôi biểu hiện dương tính là một kết quả hợp lý và củng cố giá trị sinh học của kỹ thuật trong bối cảnh thực hành, gợi ý vai trò của nhuộm kép p16/Ki-67 như một chỉ dấu sinh học phản ánh hoạt động tăng sinh bất thường liên quan đến cơ chế sinh ung do HPV, bổ sung cho các giới hạn của đánh giá hình thái đơn thuần trên mẫu Pap thông thường. Bên cạnh đó, nghiên cứu vẫn ghi nhận 3 trường hợp bất thường tế bào học mức cao nhưng nhuộm kép âm tính. Các trường hợp này không nhất thiết phản ánh “dương tính giả” theo nghĩa sinh học. Các dữ liệu theo dõi dọc cho thấy nhóm HPV dương tính và nhuộm kép hóa tế bào miễn dịch dương tính có nguy cơ tích lũy tổn thương tiền ung thư cao hơn, gợi ý khả năng tồn tại biến đổi sinh học đi trước hình thái mô học hoặc sai lệch vị trí lấy mẫu [7]. Ngoài ra, dù p16/Ki-67 có hiệu năng tốt vẫn không đạt độ nhạy tuyệt đối. Độ nhạy trong các nghiên cứu trước đây là từ 86,7% cho đến 91,4%, và độ đặc hiệu cao, từ 95% đến 97% của kỹ thuật nhuộm kép này [6, 7]. Trong nhóm nhuộm kép âm tính, thử nghiệm IMPACT cho thấy nguy cơ mắc CIN2 trở lên ở phụ nữ mắc HR-HPV chỉ khoảng 3,6%, thấp hơn rõ rệt so với các chiến lược sàng lọc dựa trên tế bào học đơn thuần hoặc kết hợp HPV genotype với tế bào học. Điều này cho thấy kết quả âm tính của nhuộm kép mang lại giá trị “trấn an” cao, trong khi kết quả dương tính tập trung chủ yếu ở nhóm tổn thương độ cao, qua đó giúp tối ưu hóa chỉ định chuyển soi cổ tử cung [8].

Phân tích riêng nhóm Pap bất thường độ thấp cho thấy giá trị hỗ trợ của nhuộm kép trong các bối cảnh lâm sàng khó quyết định theo dõi hay can thiệp. Trong nghiên cứu này, đa số trường hợp có mô học NILM/LSIL là âm tính, trong khi toàn bộ các ca HSIL-AIS+ đều dương tính, gợi ý khả năng phân tầng nguy cơ với trị số p ở mức ranh giới ($p = 0,053$), dù cỡ mẫu khá nhỏ. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu lớn trước đây. Trong nghiên cứu PALMS, khi áp dụng cho nhóm tế bào học nguy cơ thấp (ASC-US/LSIL), nhuộm kép p16/Ki-67 cho thấy độ nhạy trong phát

hiện CIN2+ tương đương với xét nghiệm HPV (92,2% so với 93,3%), nhưng độ đặc hiệu cao hơn đáng kể (80,6% so với 69,4%; $p < 0,001$) [6]. Tương tự, Wright và cộng sự ghi nhận xét nghiệm này đạt độ đặc hiệu 75,2% cho CIN3+ với nguy cơ sót tổn thương ở nhóm âm tính chỉ là 1,2% [9]. Đồng thời, việc không bỏ sót tổn thương độ cao trong nhóm Pap bất thường độ thấp nhấn mạnh vai trò của xét nghiệm như một công cụ phân tầng nguy cơ hiệu quả. Về mặt lâm sàng, kết quả nhuộm kép p16/Ki-67 dương tính ở các trường hợp có bất thường tế bào học mức độ thấp có thể gợi ý nguy cơ cao hơn đối với tổn thương CIN2+ tiềm ẩn. Do đó, xét nghiệm này có tiềm năng hỗ trợ quá trình phân tầng nguy cơ và lựa chọn chiến lược theo dõi hoặc đánh giá tiếp theo phù hợp. Ngược lại, kết quả âm tính có thể hạn chế đáng kể các trường hợp soi cổ tử cung không cần thiết, đặc biệt ở quần thể nhiễm HPV dương tính.

Cần lưu ý rằng mục tiêu chính của nghiên cứu không phải là đánh giá hiệu năng chẩn đoán của nhuộm kép p16/Ki-67 trong phát hiện tổn thương CIN2+, mà là đánh giá khả năng triển khai kỹ thuật này trong điều kiện thực hành tại cơ sở. Do đó, các kết quả về mối liên quan giữa nhuộm kép với tế bào học và mô bệnh học chỉ mang tính chất mô tả ban đầu. Trong bối cảnh các khuyến cáo gần đây của WHO và ASCCP đã công nhận vai trò của nhuộm kép p16/Ki-67 trong phân tầng nguy cơ ở phụ nữ nhiễm HPV nguy cơ cao [10, 11], việc xây dựng và xác nhận thành công một quy trình kỹ thuật phù hợp với điều kiện thực tế của phòng xét nghiệm là bước cần thiết trước khi triển khai các nghiên cứu đánh giá hiệu quả lâm sàng trên quy mô lớn hơn.

Nghiên cứu này có một số hạn chế cần được xem xét khi diễn giải kết quả. Cỡ mẫu còn nhỏ nên các kết quả cần được xác nhận lại ở các nghiên cứu lớn hơn. Thứ hai, thiết kế mô tả hàng loạt ca với chọn mẫu thuận tiện tại một trung tâm duy nhất và trong thời gian ngắn hạn chế khả năng khái quát hóa, đồng thời tiềm ẩn nguy cơ sai lệch do không phải tất cả trường hợp đều được sinh thiết. Cần có các nghiên cứu theo dõi dọc để khảo sát nguy cơ tiến triển ở các nhóm kết quả khác nhau. Thứ ba, các tiêu bản trong nghiên cứu này được thu thập trong vòng tối đa 3 tháng kể từ khi được lấy mẫu, và sử dụng phần tế bào còn sót lại sau khi đã phết lam và chẩn đoán cho bệnh nhân theo quy trình thường quy cũng góp phần ảnh hưởng đến số lượng và chất lượng tế bào.

5. KẾT LUẬN

Nhuộm kép p16/Ki-67 trên mẫu tế bào học cổ tử cung nhúng dịch bằng bộ kit CIntec® PLUS Cytology có tính khả thi cao và có thể chuẩn hóa quy trình tại

Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả nhuộm kép phù hợp với toàn bộ các trường hợp NILM âm tính và phần lớn các trường hợp HSIL-AIS trở lên dương tính. Nghiên cứu này là cơ sở ban đầu cho các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn và đối chiếu mô học đầy đủ hơn nhằm đánh giá vai trò của p16/Ki-67 trong thực hành sàng lọc UTCTC.

Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và theo dõi dài hạn để xác nhận và củng cố vai trò của xét nghiệm trong thực hành lâm sàng.

TUYÊN BỐ VỀ XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả khẳng định không có xung đột lợi ích đối với các nghiên cứu, tác giả, và xuất bản bài báo.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện theo Hợp đồng số 425/2025/HĐ-ĐHYD. Chúng tôi chân thành cảm ơn Ban Giám đốc Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Khoa Giải phẫu bệnh cùng toàn thể nhân viên y tế đã nhiệt tình phối hợp và tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình thu thập số liệu, thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Li Z, Liu P, Yin A, Zhang B, Xu J, Chen Z, et al. Global landscape of cervical cancer incidence and mortality in 2022 and predictions to 2030: The urgent need to address inequalities in cervical cancer. *International journal of cancer*. 2025;157(2):288-97.
2. International Agency for Research on Cancer. *Cancer Today: Viet Nam Fact Sheet*. World Health Organization; 2024 Feb.
3. Goldsmith JD, Troxell ML, Roy-Chowdhuri S, Colasacco CF, Edgerton ME, Fitzgibbons PL, et al. *Principles of Analytic Validation of Immunohistochemical Assays: Guideline Update*. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2024.
4. Clinical, Laboratory Standards I. EP12IG: Verification of Performance of a Qualitative, Binary Output Examination. 1st Edition ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2023.
5. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer cytopathology*. 2011;119(3):158-66.
6. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(20):1550-7.
7. Gilbert L, Ratnam S, Jang D, Alaghebandan R, Schell M, Needle R, et al. Comparison of CIntec PLUS cytology and cobas HPV test for triaging Canadian patients with LSIL cytology referred to colposcopy: A two-year prospective

study. Cancer biomarkers : section A of Disease markers. 2022;34(3):347-58.

8. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, Schiffman M, Wood SN, Stiemerling E, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. Journal of the National Cancer Institute. 2015;107(12):djv257.

9. Wright TC, Behrens CM, Ranger-Moore J, Rehm S, Sharma A, Stoler MH, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecologic Oncology. 2017;144(1):51-6.

10. World Health Organization. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention. 2nd edition ed. Geneva: World Health Organization; 2021.

11. Perkins RB, Guido RS, Castle PE, Chelmow D, Einstein MH, Garcia F, et al. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. Journal of lower genital tract disease. 2020;24(2):102-31.