

DISTRIBUTION OF DRUG RESISTANCE-RELATED GENETIC MARKERS OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN FOUR PROVINCES OF THE CENTRAL HIGHLANDS (2019-2021)

Nguyen Thi Minh Trinh^{1*}, Le Thi Hanh Dieu¹, Nguyen Thi Lien Hanh¹,
Nguyen Thu Huong³, Nguyen Xuan Xa², Huynh Hong Quang¹

¹Institute of Malariology, Parasitology, Entomology Quy Nhon - 611B Nguyen Thai Hoc street, Quy Nhon City, Vietnam

²National Institute of Malariology, Parasitology, and Entomology - 34 Trung Van street, Nam Tu Liem Dist, Hanoi City, Vietnam

³Hanoi University of Public Health, No.1A, Duc Thang street, Bac Tu Liem Dist, Hanoi city

Received: 20/09/2024

Revised: 30/09/2024; Accepted: 02/10/2024

ABSTRACT

Objective: Determining the molecular markers related to drug resistance in *P. falciparum* populations in four provinces of the Central Highlands.

Research methods: Extracted total DNA was used for Nested-PCR techniques to identify four species of malaria parasites; PCR to capture the K13, *Exonuclease*, and *Pfprt* genes; Sanger sequencing to sequence these gene fragments; and realtime-PCR to identify polymorphisms in the *plasmepsin2* and *Pfmdr1* genes.

Results: The study revealed a high prevalence of the C580Y mutation in *P. falciparum*, which is associated with artemisinin resistance, along with the E415G mutation in the *Exonuclease* gene and polymorphisms in *plasmepsin2* related to piperazine resistance. Mutations in the *Pfprt* gene, such as K76T and A220S (linked to chloroquine resistance), F145I (related to piperazine resistance), and polymorphisms in the *Pfmdr1* gene (associated with mefloquine resistance) were also identified.

Conclusion: The study identified K₁₃ mutations related to artemisinin resistance, the *Exonuclease* E415G mutation associated with piperazine resistance, *Pfprt* mutations linked to chloroquine resistance, as well as *plasmepsin2* and *Pfmdr1* polymorphisms related to piperazine and mefloquine resistance.

Keyword: *Plasmodium falciparum*, anti-malaria drugs resistance, molecular marker.

*Corresponding author

Email: nguyenthminhtrinh1983@gmail.com **Phone:** (+84) 935228913 **https://doi.org/10.52163/yhc.v65i6.1567**



SỰ PHÂN BỐ CÁC CHỈ ĐIỂM GEN LIÊN QUAN KHÁNG THUỐC CỦA *PLASMODIUM FALCIPARUM* TẠI BỐN TỈNH TÂY NGUYÊN (2019-2021)

Nguyễn Thị Minh Trinh^{1*}, Lê Thị Hạnh Diệu¹, Nguyễn Thị Liên Hạnh¹,
Nguyễn Thu Hương³, Nguyễn Xuân Xã², Huỳnh Hồng Quang¹

¹Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn - 611B Nguyễn Thái Học, Tp. Quy Nhơn, Việt Nam

²Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương - 34 Trung Văn, Q. Nam Từ Liêm, Tp. Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Y tế Công cộng Hà Nội - Số 1A, đường Đức Thắng, P. Đức Thắng, Q. Bắc Từ Liêm, Hà Nội

Ngày nhận bài: 20/09/2024

Chỉnh sửa ngày: 30/09/2024; Ngày duyệt đăng: 02/10/2024

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định các chỉ điểm phân tử liên quan kháng thuốc trên quần thể *P. falciparum* tại bốn tỉnh Tây Nguyên

Phương pháp nghiên cứu: DNA tổng số sau khi được tách chiết được sử dụng cho các kỹ thuật Nested-PCR để xác định 4 loài ký sinh trùng sốt rét; PCR để thu nhận các gen K13, *Exonuclease* và *Pfprt*; giải trình tự các đoạn gen này bằng phương pháp Sanger; và sử dụng realtime-PCR để xác định các biến thể gen *plasmepsin2* và *Pfmdr1*.

Kết quả: Nghiên cứu phát hiện tỷ lệ cao đột biến C580Y trong *P. falciparum* liên quan kháng artemisinin, cùng đột biến E415G trên gen *Exonuclease* và biến thể *plasmepsin2* liên quan kháng piperacquin. Các đột biến *Pfprt* như K76T, A220S (liên quan đến kháng chloroquine), F145I (liên quan đến kháng piperacquin), và biến thể *Pfmdr1* (liên quan đến kháng mefloquine) cũng được ghi nhận.

Kết luận: Nghiên cứu đã xác định được các đột biến gen K13 liên quan đến kháng artemisinin, đột biến E415G trên gen *Exonuclease* liên quan đến kháng piperacquin, các đột biến trên gen *Pfprt* liên quan đến kháng chloroquine, cùng với các biến thể *plasmepsin2* và *Pfmdr1* liên quan đến kháng piperacquin và mefloquine

Từ khóa: *Plasmodium falciparum*, kháng thuốc sốt rét, chỉ điểm phân tử.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình hình kháng thuốc artemisinin và giảm nhạy với thuốc phối hợp có thành phần artemisinin (ACTs) do *P. falciparum* được xác định tại Tiểu vùng Sông Mê Kông mở rộng đã và đang đe dọa đến thành quả phòng chống và loại trừ sốt rét.

Hiện nay, việc dùng chỉ điểm phân tử liên quan kháng thuốc trên quần thể ký sinh trùng *P. falciparum* là hướng nghiên cứu mới bên cạnh các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo*.

Để thúc đẩy nhanh lộ trình loại trừ sốt rét, nhiều quốc gia tăng cường khả năng tiếp cận các liệu pháp ACTs đặc biệt là ở Đông Nam Á. Việc này dù làm giảm tỷ lệ mắc bệnh nhưng lại tạo áp lực chọn lọc, dẫn đến tăng kháng artemisinin và ACTs. Điều quan trọng là phát triển chiến lược nhằm giảm áp lực chọn lọc và lan rộng chủng *P. falciparum* kháng thuốc trong khi vẫn đảm bảo ưu tiên giảm tỷ lệ mắc và tử vong [2].

Do đó, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác định

*Tác giả liên hệ

Email: nguyennhtrinh1983@gmail.com Điện thoại: (+84) 935228913 <https://doi.org/10.52163/yc.v65i6.1567>

các chỉ điểm phân tử liên quan kháng thuốc trên quần thể *P. falciparum* tại bốn tỉnh Tây Nguyên để theo dõi phân bố, bản đồ phân bố kháng thuốc, đồng thời hiểu rõ hơn sự tiến hóa và cơ chế kháng thuốc, kể cả artemisinin và các ACTs.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu ngang mô tả và kỹ thuật phòng thí nghiệm.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu máu khô trên giấy thấm Whatman 3MM từ các

bệnh nhân sốt rét nhiễm loài *P. falciparum* đơn thuần hoặc phối hợp có *P. falciparum* tại các vùng sốt rét lưu hành và các cơ sở khám chữa bệnh - nơi bệnh nhân đến khám và điều trị thuộc bốn tỉnh Tây Nguyên.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Các mẫu vật được thu thập tại 4 tỉnh thuộc Tây Nguyên bao gồm Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông và Kon Tum.

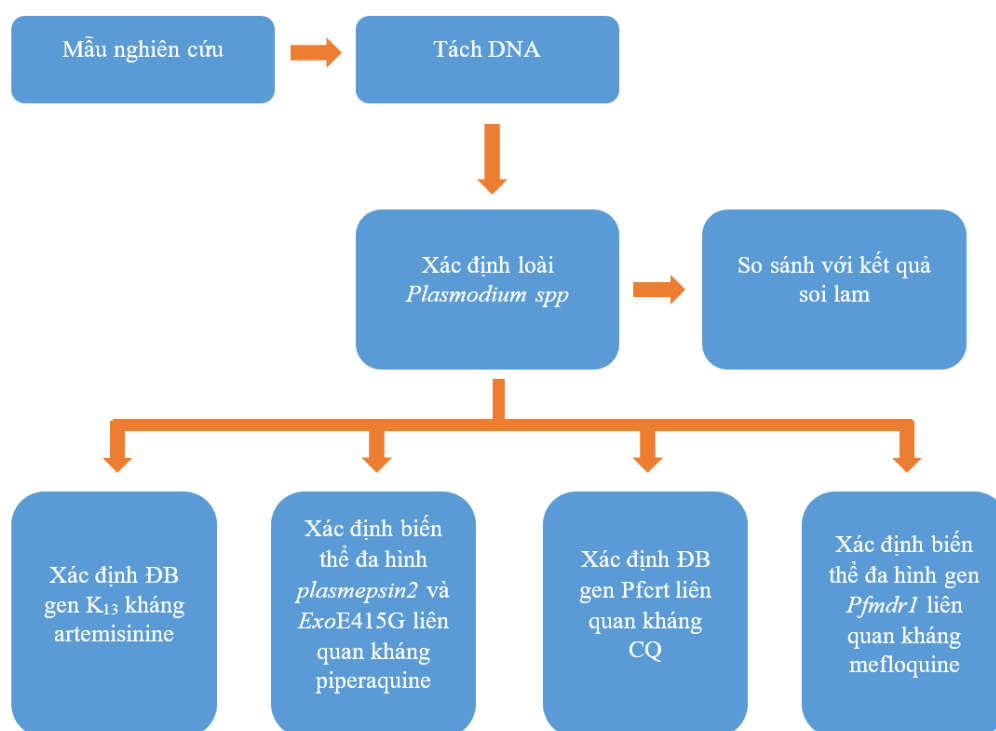
Nghiên cứu được tiến hành từ năm 2019 - 2022.

2.4. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu: Thu thập mẫu thuận tiện, thu thập tất cả các mẫu máu dương tính với *P. falciparum* từ các địa điểm nghiên cứu trong giai đoạn từ năm 2019 đến 2022

2.5. Quy trình nghiên cứu và các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

- Quy trình nghiên cứu



- Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:

+ Kỹ thuật tách chiết DNA tổng số (protocol của QIAGEN), Nested-PCR xác định 4 loài KSTSR (Snounou và cs., 1993); Kỹ thuật PCR để thu nhận gen K_{13} (Ariey và cs., 2014), gen *Exonuclease* (Amato và cộng sự, 2017), gen *Pfprt* (Chen và cộng sự, 2003); Kỹ thuật giải trình tự các đoạn gen K_{13} , gen *Exonuclease*, gen *Pfprt* theo phương pháp Sanger thực hiện trên máy ABI3500; Kỹ thuật realtime-PCR xác định biến thể đa hình gen *plasmepsin 2* (Megan R. Ansbros và cộng sự, 2020) và *Pfmdr1* (Marina Chavchich và cộng sự, 2010).

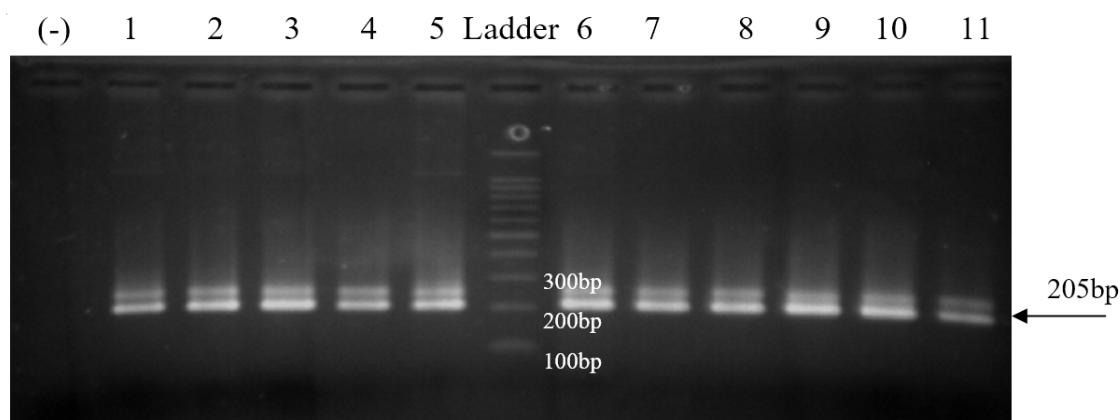
2.6. Phân tích và xử lý số liệu

- Số liệu được phân tích trên phần mềm Geneious R8, phần mềm R và Microsoft Excel

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định loài ký sinh trùng *Plasmodium* spp. của các mẫu nghiên cứu

Tổng cộng 562 mẫu máu được thu thập tại các điểm nghiên cứu. Các mẫu giấy thấm có chứa KSTSR dương tính sẽ được tiến hành tách chiết DNA và định loài lại bằng kỹ thuật nested-PCR. Kết quả được trình bày qua Hình 1 và được thể hiện sự phân bố mẫu theo thời gian và địa điểm ở Hình 2.



Hình 1. Kết quả điện di định loài các mẫu *P. falciparum*.

Ghi chú: (-); chứng âm; 1: Chứng dương *P. falciparum*, 205 bp; 2-11: mẫu *P. falciparum*; M: thang chuẩn 100bp.

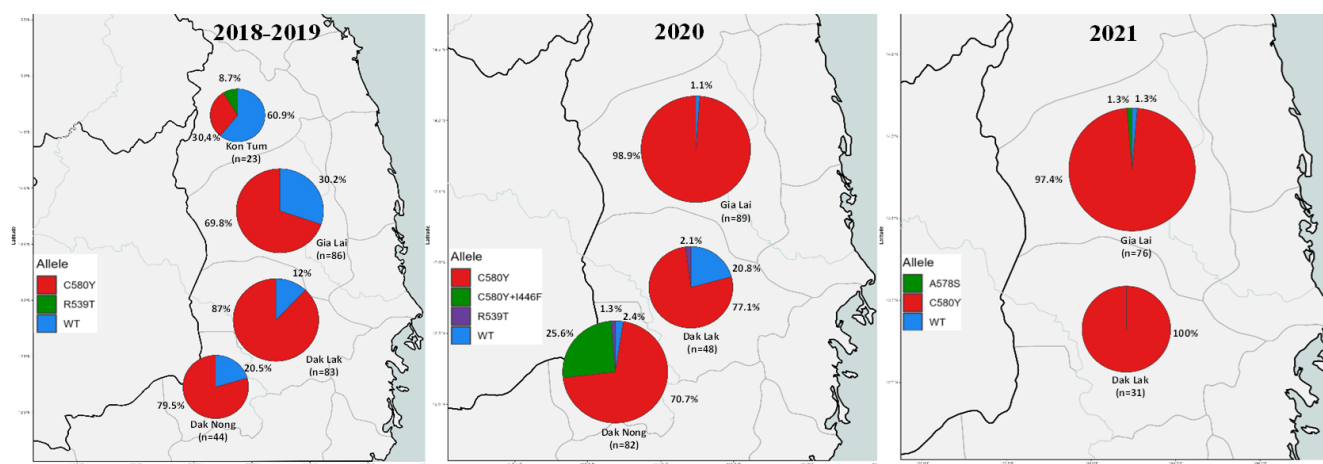
3.2. Kết quả xác định đột biến điểm trên gen K_{13} của *P. falciparum*

Các mẫu sau khi đã được xác định là *P. falciparum* sẽ được tiếp tục thực hiện phản ứng PCR để thu nhận gen mã hóa vùng K_{13} , với kích thước lý thuyết là khoảng 850bp. Sau khi phân tích so sánh các trình tự gen K_{13} thu nhận được từ quá trình giải trình tự bằng phần mềm phân tích Geneious R8 của 562 mẫu *P. falciparum* tại các điểm nghiên cứu, trong đó tại Kon Tum có 23 mẫu, Gia Lai 251 mẫu, Đắk Lắk 162 mẫu và Đắk Nông là 126 mẫu. Đã phát hiện sự có mặt của 4 vị trí đột biến là R539T, C580Y, F446I và A578S. Số lượng và tỷ lệ từng loại đột biến thể hiện trong Bảng 3.5.

Bảng 1. Số lượng và tỷ lệ các đột biến trên gen K_{13} tại các địa điểm

Thời gian	Đột biến gen K_{13}	Địa điểm thu thập mẫu nghiên cứu			
		Kon Tum	Gia Lai	Đắk Lắk	Đắk Nông
		(N = 23)	(N = 251)	(N = 162)	(N = 126)
2019	<i>Pfkelch13-C580Y</i>	30,43% (7/23)	69,77% (60/86)	87,95% (73/83)	79,55% (35/44)
	<i>Pfkelch13-R539T</i>	8,70% (2/23)	0%	0%	0%
2020	<i>Pfkelch13-C580Y</i>	-	98,88% (88/89)	77,08% (37/48)	100% (82/82)
	<i>Pfkelch13-R539T</i>	-	0%	2,1% (1/48)	1,3% (1/82)
	<i>Pfkelch13-C580Y+F446I</i>	-	0%	0%	25,6% (21/82)
2021	<i>Pfkelch13-C580Y</i>	-	97,4% (74/76)	100% (31/31)	-
	<i>Pfkelch13-R539T</i>	-	0%	0%	-
	<i>Pfkelch13-A578S</i>	-	1,32% (1/76)	0%	-
Tổng cộng	<i>Pfkelch13-C580Y</i>	30,43% (7/23)	88,45% (222/251)	87,04% (141/162)	87,3% (110/126)
	<i>Pfkelch13-R539T</i>	8,70% (2/23)	0%	0,62% (1/162)	0,79% (1/126)
	<i>Pfkelch13-C580Y+F446I</i>	-	0%	0%	16,67% (21/126)
	<i>Pfkelch13-A578S</i>	-	0,40% (1/251)	0%	0%

Như vậy, tại 4 tỉnh Tây Nguyên đã ghi nhận sự có mặt của đột biến C580Y với tỷ lệ tương đối cao 88,45% (222/251), 87,04% (141/162), 87,3% (110/126) tương ứng ở các vùng sốt rét lưu hành của tỉnh Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông, riêng tại Kon Tum tỷ lệ đột biến này không cao bằng chỉ 30,43% (7/23); đặc biệt phát hiện sự có mặt của đột biến mới F446I với tỷ lệ là 16,67% (21/126) trong nhóm mẫu của Đắk Nông; và một tỷ lệ nhỏ đột biến R539T và A578S.



Hình 2. Bản đồ phân bố các đột biến gen K₁₃ propeller tại các điểm nghiên cứu

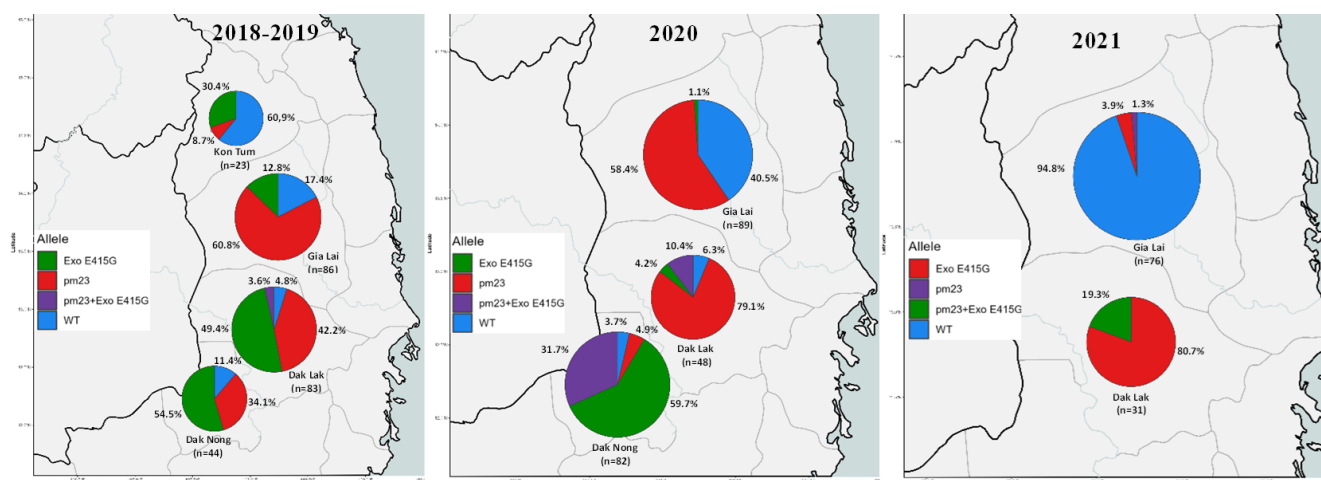
3.3. Kết quả xác định biến thể đa hình gen *plasmepsin 2* và *exonuclease* liên quan đến kháng piperazine phosphate của *P. falciparum*

Qua phân tích realtime-PCR sử dụng probe để phát hiện biến thể đa hình trên gen *Pfplasmepsin2* và giải trình tự phát hiện đột biến điểm *exonuclease* E415G trong đó tại Kon Tum có 23 mẫu, Gia Lai là 251 mẫu, Đắk Lắk 162 mẫu và Đắk Nông là 126 mẫu. Kết quả phân tích số lượng và tỷ lệ được thể hiện trong Bảng 2 và Hình 3.

Bảng 2. Số lượng và tỷ lệ biến thể đa hình gen *Pfplasmepsin2* và *exonuclease* tại điểm nghiên cứu

Thời gian	Đột biến	Địa điểm nghiên cứu			
		Kon Tum	Gia Lai	Đắk Lắk	Đắk Nông
		(N = 23)	(N = 251)	(N = 162)	(N = 126)
<i>Pfplasmepsin2</i>					
2019	<i>PfPM2</i> CNV (>1,5)	8,70% (2/23)	69,77% (60/86)	42,17% (35/83)	34,09% (15/44)
2020	<i>PfPM2</i> CNV (>1,5)	-	58,40% (52/89)	79,17% (38/48)	31,71 (26/82)
2021	<i>PfPM2</i> CNV (>1,5)	-	1,32% (1/76)	19,35% (6/31)	-
Tổng số	<i>PfPM2</i> CNV (>1,5)	8.70% (2/23)	45,82% (113/251)	48,77% (79/162)	32,54% (41/126)
Đột biến <i>Exo E415G</i>					
2019	<i>Exo E415G</i>	30,43% (7/23)	12,79% (11/86)	49,40% (41/83)	54,55% (24/44)
2020	<i>Exo E415G</i>	-	1,12% (1/89)	4,17% (2/48)	59,75% (49/82)
2021	<i>Exo E415G</i>	-	3,95% (3/76)	80,60% (25/31)	-
Tổng số	<i>Exo E415G</i>	30,43% (7/23)	5,98% (15/251)	41,98% (68/162)	57,94% (73/126)

Như vậy, tại Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông từ năm 2019 đến 2021 đã ghi nhận sự có mặt của biến thể đa hình gen *plasmepsin 2* với tỷ lệ tương ứng cho từng tỉnh ở trên là 8,7% (2/23), 45,82% (113/251), 48,77% (79/162) và 32,54% (41/126). Đồng thời ghi nhận có mặt đột biến *exonuclease E415G* với tỷ lệ tương ứng ở từng tỉnh 30,43% (7/23), 5,98% (15/251), 41,98% (68/162) và 57,94% (73/126).



Hình 3. Bản đồ phân bố sự xuất hiện các đột biến gen *exonuclease* và *plasmepsin2* tại các tỉnh nghiên cứu

3.4. Kết quả xác định các đột biến điểm trên gen *Pfprt* của *P. falciparum*

Các mẫu *P. falciparum* được tiếp tục thực hiện phản ứng PCR để thu nhận các đoạn gen *Pfprt*. Kết quả phân tích so sánh các trình tự gen *Pfprt* thu nhận được từ giải trình tự bằng phần mềm phân tích Geneious R8 của 562 mẫu phân lập *P. falciparum* tại các điểm nghiên cứu được thể hiện qua số lượng và tỷ lệ các đột biến trong bảng dưới.

Bảng 3. Số lượng và tỷ lệ đột biến trên gen *Pfprt* tại điểm nghiên cứu

Thời gian	Đột biến gen <i>Pfprt</i>	Địa điểm nghiên cứu			
		Kon Tum (N = 23)	Gia Lai (N = 251)	Đắk Lắk (N = 162)	Đắk Nông (N = 126)
2019	<i>Pfprt</i> (72-76 CVIET)	95% (22/23)	100% (86/86)	95,2% (79/83)	100% (44/44)
	<i>Pfprt</i> (72-76 CVIDT)	4,3% (1/23)	0%	2,4% (2/83)	0%
	<i>Pfprt</i> (72-76 CVVET)	0%	0%	1,2% (1/83)	0%
	<i>Pfprt</i> (72-76 WGIET)	0%	0%	1,2% (1/83)	0%
	<i>Pfprt</i> F145I	0%	0%	2,4% (2/83)	18,2% (8/44)
	<i>Pfprt</i> T93S	13% (3/23)	1,2% (1/86)	18,07% (15/83)	11,36% (5/44)
	<i>Pfprt</i> H97Y	4,3% (1/23)	0%	6,02% (5/83)	15,9% (7/44)
	<i>Pfprt</i> I218F	0%	0%	4,82% (4/83)	2,3% (1/44)
	<i>Pfprt</i> A220S	100%	100%	100%	100%
2020	<i>Pfprt</i> (72-76 CVIET)	-	100% (89/89)	100% (48/48)	100% (82/82)
	<i>Pfprt</i> F145I	-	0%	4,2% (2/48)	6,1% (5/82)
	<i>Pfprt</i> T93S	-	5,6% (5/89)	0%	56,1% (46/82)
	<i>Pfprt</i> I218F	-	0%	0%	6,1% (5/82)
	<i>Pfprt</i> I218V	-	0%	0%	2,4% (2/82)
	<i>Pfprt</i> A220S	-	100%	100%	100%

Thời gian	Đột biến gen <i>Pfprt</i>	Địa điểm nghiên cứu			
		Kon Tum	Gia Lai	Đăk Lăk	Đăk Nông
		(N = 23)	(N = 251)	(N = 162)	(N = 126)
2021	<i>Pfprt</i> (72-76 CVIET)	-	100% (76/76)	100% (31/31)	-
	<i>Pfprt</i> F145I	-	0%	6,45% (2/31)	-
	<i>Pfprt</i> T93S	-	1,3% (1/76)	74,19% (23/31)	-
	<i>Pfprt</i> A220S	-	100%	100%	-

Như vậy, trong số 562 mẫu phân lập *P. falciparum* thu thập tại 4 tỉnh nghiên cứu, kết quả phân tích đột biến trên vùng gen *Pfprt* ghi nhận sự có mặt 4 kiểu motif của vùng 72-76 là CVIET, CVIDT, CVVET và WGIET và 5 loại đột biến khác là gồm *Pfprt* F145I, *Pfprt* T93S, *Pfprt* H97Y, *Pfprt* I218F và *Pfprt* A220S. Trong đó, kiểu motif CVIET của vùng gen 72-76 và *Pfprt* A220S chiếm ưu thế với tỷ lệ gần như tuyệt đối, tỷ lệ thu được hầu như 100% ở các điểm nghiên cứu trừ nhóm mẫu tại Kon Tum và Đăk Lăk năm 2019.

3.5. Kết quả xác định biến thể đa hình của gen *Pfmdr1* của *P. falciparum*

Qua phân tích realtime-PCR sử dụng probe để phát hiện biến thể đa hình trên gen *Pfmdr1*, trong đó tại Kon Tum có 23 mẫu, Gia Lai là 251 mẫu, Đăk Lăk 162 mẫu và Đăk Nông là 126 mẫu. Kết quả phân tích số lượng và tỷ lệ được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 4. Số lượng và tỷ lệ biến thể đa hình gen *Pfmdr1* tại các địa điểm

Thời gian	Đột biến	Địa điểm nghiên cứu			
		Kon Tum	Gia Lai	Đăk Lăk	Đăk Nông
		(N = 23)	(N = 251)	(N = 162)	(N = 126)
2019	<i>Pfmdr1</i> CNV (>1,5)	8,70% (2/23)	5,81% (5/86)	15,66% (13/83)	15,91% (7/44)
2020	<i>Pfmdr1</i> CNV (>1,5)	-	0%	14,58% (7/48)	28,10% (23/82)
2021	<i>Pfmdr1</i> CNV (>1,5)	-	1,32% (1/76)	35,50% (11/31)	-
Tổng số	<i>Pfmdr1</i> CNV (>1,5)	8,70% (2/23)	2,39% (6/251)	19,14% (31/162)	23,81% (30/126)

Như vậy, tại các tỉnh Kon Tum, Gia Lai, Đăk Lăk, Đăk Nông từ năm 2019 - 2021 ghi nhận sự có mặt biến thể đa hình gen *Pfmdr1* với tỷ lệ tương ứng cho từng tỉnh ở trên là 8,7% (2/23), 2,39% (6/251), 19,14% (31/162) và 23,81% (30/126).

4. BÀN LUẬN

Phân tích vùng gen K_{13} propeller của 562 mẫu phân lập *P. falciparum* tại khu vực Tây Nguyên cho thấy sự xuất hiện các đột biến C580Y, F446I, R539T và A578S. Đột biến C580Y được tìm thấy trên các mẫu phân lập *P. falciparum* tại cả 4 tỉnh Tây Nguyên với tỷ lệ tương đối cao 88,45% (222/251), 87,04% (141/162), 87,3% (110/126) tương ứng tại các tỉnh Gia Lai, Đăk Lăk, Đăk Nông, riêng tại tỉnh Kon Tum thì tỷ lệ đột biến này chỉ có 30,43% (7/23). Đột biến này cũng là đột biến chủ yếu được phát hiện trong nghiên cứu của Ariey và cộng sự (2014) và là đột biến phổ biến nhất tại khu vực Tiểu vùng Sông Mê Kông mở rộng với tỷ lệ chiếm 85%

trong tổng số các đột biến được quan sát, cùng với các đột biến có ý nghĩa khác là R539T và Y493H. Đây là đột biến chính được tìm thấy trong các nghiên cứu về đột biến trên vùng gen K_{13} trong khu vực Tiểu vùng Sông Mê Kông. Ngoài ra, đột biến này được xác nhận là có liên quan đến quá trình chậm làm sạch KST thể vô tính của *P. falciparum* đã được xác nhận lại bằng những thử nghiệm bằng thử nghiệm *in vivo* và *in vitro* (WHO, 2018).

Đối với các chỉ điểm phân tử kháng thuốc piperquine, đã tìm thấy sự có mặt của đột biến E415G trên gen *exonuclease* và biến thể đa hình gen *plasmepsin2*. Với các dữ liệu tỷ lệ thất bại trên 10%, tỷ lệ bệnh nhân còn tồn tại thể vô tính trên 10%, đồng thời trên các phân lập *P. falciparum* có xuất hiện cả đột biến gen K_{13} và tăng số bản sao plasmepsine biểu hiện kháng cả dẫn suất artemisinin là dihydroartemisinin và piperazine phosphate, nên đủ minh chứng chủng *P. falciparum*

kháng cả hai thành phần trong viên DHA-PPQ điều này giúp bổ sung dữ liệu góp phần cơ sở thay đổi chính sách thuốc sốt rét quốc gia từ thuốc DHA-PPQ chuyên sang dùng pyronaridine tetraphosphate-artesunate (Pyramax®) phổ biến từ cuối năm 2020 đến nay.

Qua kết quả phân tích các đột biến trên vùng gen *Pfprt*, cho thấy đột biến K76T và A220S được tìm thấy ở tất cả phân lập KST, cho thấy vai trò thiết yếu của chúng trong kháng chloroquine. Bên cạnh đó, đã xác định thêm đột biến F145I trong vùng gen *Pfprt*, đột biến này được chứng minh có liên quan đến thất bại điều trị DHA-PPQ sau khi điều chỉnh sự hiện diện của biến thể đa hình gen *plasmepsin2-3* và liên quan đến giảm độ nhạy PPQ.

Trong số 562 mẫu phân lập *P. falciparum* đã ghi nhận sự có mặt của biến thể đa hình gen *Pfmdr1* tại 4 tỉnh Tây Nguyên nghiên cứu. Đột biến này trên gen *Pfmdr1* cũng được tìm thấy tại các tỉnh thuộc Campuchia trong nghiên cứu của Amato và cộng sự (2017). TCYTTG cũng đã xác nhận sự gia tăng số lượng bản sao của gen *Pfmdr1* có liên quan đến kháng mefloquine (WHO, 2022).

5. KẾT LUẬN

- Tỷ lệ đột biến C580Y trên quần thể *P. falciparum* lần lượt 30,43% (7/23), 88,45% (222/251); 87,04% (141/162); 87,3% (110/126) tại tỉnh Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông liên quan kháng artemisinin;

- Kiểu gen đột biến mới F446I 16,67% (21/126) tại Đắk Nông và R539T 8,7% (2/23); 0,62% (1/162); 0,79% (1/126) lần lượt ở Kon Tum, Đắk Lắk, Đắk Nông;

- Biến thể đa hình gen *plasmepsin2* liên quan kháng piperazine phosphate với tỷ lệ 8,7% (2/23); 45,82% (113/251); 48,77% (79/162); 32,54% (41/126) tương ứng ghi nhận tại tỉnh Kon Tum, Gia Lai,

Đắk Lắk, Đắk Nông;

- Xác định đột biến E415G trên gen *exonuclease* của *P. falciparum* liên quan kháng piperazine phosphate lần lượt tại Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông là 30,43% (7/23); 5,98% (15/251); 41,98% (68/162); 57,94% (73/126);

- Phát hiện 4 kiểu motif vùng 72-76 là CVIET, CVIDT, CVVET và WGIET và 5 đột biến *Pfprt* F145I, *Pfprt* T93S, *Pfprt* H97Y, *Pfprt* I218F, *Pfprt* A220S trên quần thể *P. falciparum* kháng chloroquin. Trong đó, motif CVIET vùng gen 72-76 (95-100%) và *Pfprt* tA220S (100%) ở tất cả 4 tỉnh;

- Xác định biến thể đa hình của gen *Pfmdr1* trên quần thể *P. falciparum* liên quan kháng mefloquine tại Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk, Đắk Nông với tỷ lệ tương ứng 8,7% (2/23); 2,39% (6/251); 19,14% (31/162) và 23,81% (30/126).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Arie F, Witkowski B, Amaratunga C, Beghain J et al., (2014). A molecular marker of artemisinin-resistant Plasmodium falciparum malaria. Nature.505:50-55.
- [2] Amato R, Lim P, Miotto O, Amaratunga C, Dek D, Pearson RD, Almagro-Garcia J, Neal AT, Sreng S, Suon S, Drury E, Jyothi D, Stalker J, Kwiatkowski DP, Fairhurst RM (2017). Genetic markers associated with dihydroartemisinin-piperazine failure in Plasmodium falciparum malaria in Cambodia: A genotype-phenotype association study. Lancet Infect Dis 17:164-173.
- [3] Witkowski B., Duru V., Khim N., et al (2017). A surrogate marker of piperazine-resistant Plasmodium falciparum malaria: A phenotype-genotype association study. Lancet Infect Dis, 17 (2):174-183.
- [4] WHO (2022), "World malaria report 2022, Geneva, Switzerland".