

Y HỌC
CỘNG ĐỒNG

VOL. 64, SPECIAL ISSUE, 2023

ISSN 2354-0613

Y HỌC CỘNG ĐỒNG

VIETNAM JOURNAL OF COMMUNITY MEDICINE

SỐ CHUYÊN ĐỀ



**HỘI NGHỊ KHOA HỌC KÝ SINH TRÙNG TOÀN QUỐC
LẦN THỨ 49, NĂM 2023**



VOL. 64, SPECIAL ISSUE, 2023



Editor-in-Chief

Le Bach Quang - Vietnam Institute of Community Health

Deputy Editor-in-Chief

Tran Quoc Thang - Vietnam Institute of Community Health

Advisory Editorial Board

Pham Thanh Ky - Hanoi University of Pharmacy, Vietnam	Do Tat Cuong - Vin University, Vietnam
Dao Van Dung - Vietnam Institute of Community Health	Dang Tuan Dat - Buon Ma Thuot University, Vietnam
Pham Ngoc Dinh - National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam	Pham Van Thuc - Hai Phong University of Medicine and Pharmacy, Vietnam
Hoang Nang Trong - Thai Binh University of Medicine and Pharmacy, Vietnam	Luong Xuan Hien - Thai Binh University of Medicine and Pharmacy, Vietnam
Le Gia Vinh - Vietnam Medical Association	Nguyen Duc Trong - Thang Long University

Editors

Pham Ngoc Chau - Vietnam Institute of Community Health	Nguyen Xuan Bai - Thai Binh University of Medicine and Pharmacy, Vietnam
Nguyen Ngoc Chau - 108 Military Central Hospital, Vietnam, Vietnam Military Medical University	Nguyen Sinh Hien - Hanoi Heart Hospital, Vietnam
Vu Binh Duong - Vietnam Military Medical University	Vu Van Du - National Hospital of Obstetrics and Gynecology, Vietnam
Pham Van Dung - Thong Nhat General Hospital, Dong Nai, Vietnam	Thai Doan Ky - 108 Military Central Hospital, Vietnam
Tran Van Huong - Thang Long University, Vietnam	Dinh Ngoc Sy - Vietnam Medical Association
Dang Duc Nhu - Ministry of Health, Vietnam	Le Dinh Thanh - Thong Nhat Hospital, Vietnam
Phan Van Tuong - Hanoi University of Public Health, Vietnam	Nguyen Linh Toan - Vietnam Military Medical University
Ngo Van Toan - Hanoi Medical University, Vietnam	Nguyen Ngo Quang - Ministry of Health, Vietnam
Nguyen Anh Tuan - Vietnam Military Medical University	Do Van Minh - Hanoi Medical University, Vietnam
Pham Trung Kien - University of Medicine and Pharmacy - Vietnam National University, Hanoi	Nguyen Thanh Chung - National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam
Pham Van Thao - Vietnam Institute of Community Health	Cao Ba Loi - National Institute of Malariology, Parasitology and Entomology, Vietnam
Nguyen Van Ba - Vietnam Military Medical University	

Secretary

Nguyen Van Chuyen - Vietnam Military Medical University	Dao Thi Mai Huong - National Children's Hospital, Vietnam
Nguyen Thai Duc - Ministry of Health, Vietnam	Ngo Thi Tam - Thang Long University, Vietnam
Pham The Thach - Bach Mai Hospital, Vietnam	Phan Hai - Vietnam National University, Hanoi, Vietnam

Email: tapchihcd@gmail.com Telephone: (+84) 24 3762 1898

Publication Information

The Vietnam Journal of Community Medicine (VJCM) is a fully open access journal publishing double-blinded peer-reviewed publication, which offers the Original Articles, Review Article, Case Report, and Short Communication dealing with: preventive medicine, health manpower, disease prevention, health care services, health promotion, and health insurance programs.

VJCM publishes bimonthly by the Institute of Community Health. As a fully open access publication, the journal will provide maximum exposure for published articles, making the research available to all to read and share. A corresponding print version is also available.

Any suitable manuscript followed the journal's scope and author guideline will be undergone double-blinded peer-reviewed by at least one independent expert in the field. The Handling Associate Editors make an editorial decision, which is subject to endorsement by the Editor-in-Chief.

Further Information is available through the journal website: <https://tapchihcd.vn>

Publication Permit No. 229/GP-BTTTT issued on June 19, 2013. Printed at Tan Hue Hoa Printing House, Phuc Dien ward, Bac Tu Liem district, Hanoi, Vietnam. Legal Deposit: March 2023

GENERAL

Types of article

Contributions falling into the following categories will be considered for publication: Overview Paper, Research Paper and Case Report.

Submission checklist

One author has been designated as the corresponding author with contact details: E-mail address, mobile phone number, full postal address. All necessary files concerning to the manuscript have been uploaded: Include keywords, all figures (include relevant captions), all tables (including titles, description, footnotes, ensure all figure and table citations in the text match the files provided. Further considerations: Manuscript has been "spell checked" and "grammar checked"; all references mentioned in the Reference List are cited in the text. Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail. Please submit your article via <https://tapchihcd.vn/index.php/yhcd/login>

PREPARATION

Double-blind review

To facilitate the double-blind review, please include the following separately. Blinded manuscript: This is the manuscript without author details. It should not include any identifying information, such as the authors' names, affiliations, acknowledgements and any Declaration of Interest statement, and a complete address for the corresponding author including an e-mail address. Full manuscript: This is the manuscript with author details.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials.

Abstract

A concise and factual abstract is required. A brief structured abstract of the paper with the headings **Background/Purpose, Methods, Results and Conclusions** should precede the body of the paper, to run no more than 300 words is required for articles written in Vietnamese.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of").

References style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. Example: "... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result ...".

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Journal article, one author:

[1] Huong LTM, Overview of primary immunology, Journal of Community Medicine, 2018; 2(6): 3-10.

Journal article, two or three authors:

[2] Hoa NTM, Le NNQ, Huong LTM, Food allergy in asthmatic children, Journal of Community Medicine, 2018; 2(6): 37-43.

Journal article, more than three authors:

[3] Huong LTT, Ha TT, Huong LTM et al., Desensitization for allergy reaction to Eptosid at the NHP., Journal of Community Medicine, 2018; 2(6): 32-36.

Journal article, in press

[4] Viet PT, Disease Model in Preterm Newborns at the Nghe An Obstetrics and Pediatrics Hospital in 2019. (in press)

Complete book

[5] Khanh NC, Tra LN, Nhan NT et al., Textbook of Medicine. Medical Publishing House, 2016.

Chapter of book

[6] Van TTH, Infectious diseases prevention: Textbook of Medicine, Medical Publishing House, 2016; p. 13-42.

Paper presented at a meeting

[7] Dung VC, Genotype and phenotype of 101 Vietnamese Patients with Congenital Hyperinsulinism. Presented at the 9th Conference of Asia Pacific Pediatric Endocrinology Society in Tokyo, Japan, 2016.



BMTU
BUON MA THUOT
MEDICAL UNIVERSITY

HỘI NGHỊ KHOA HỌC KÝ SINH TRÙNG TOÀN QUỐC LẦN THỨ 49, NĂM 2023

HỘI ĐỒNG KHOA HỌC

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

GS.TS. LÊ BÁCH QUANG

PHÓ CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

PGS.TS. NGUYỄN KHẮC LỰC

ỦY VIÊN

1. PGS.TS. PHẠM VĂN LỰC
2. TS. NGUYỄN THỊ LAN ANH
3. PGS.TS. ĐỖ TRUNG DŨNG
4. PGS.TS. CAO BÁ LỢI
5. PGS.TS. NGUYỄN THU HƯƠNG
6. PGS.TS. ĐINH THỊ THANH MAI
7. PGS.TS. TÔN NỮ PHƯƠNG ANH

8. TS. NGUYỄN QUANG THIỀU
9. TS. NGÔ THỊ MINH CHÂU
10. TS. HUỖNH HỒNG QUANG
11. GS.TS. ĐẶNG TUẤN ĐẠT
12. PGS.TS. PHẠM NGỌC DOANH
13. PGS.TS. NGUYỄN VĂN DIÊN
14. PGS.TS. NGUYỄN HỮU HÙNG

15. PGS.TS. PHẠM NGỌC MINH
16. PGS.TS. NGUYỄN VĂN HÀ
17. TS. TRẦN THỊ HUỆ VÂN
18. PGS.TS. BÙI KHÁNH LINH
19. TS. TRẦN THỊ THANH
20. PGS.TS. NGUYỄN ĐỨC TÂN
21. GS.TS. NGUYỄN THỊ KIM LAN

BAN THƯ KÝ

1. PGS.TS. ĐỖ NGỌC ÁNH
2. TS. NGUYỄN VĂN THOẠI
3. TS. NGUYỄN MẠNH HÙNG
4. THS. NGUYỄN THỊ HÀ TRINH

CONTENTS

Research Paper

- 1. Chồng lấp hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thượng bì nhiễm độc do thuốc Thiabendazole: trường hợp lâm sàng** 1
Overlapping Stevens - Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis caused by thiabendazole: case report
Lê Đình Vĩnh Phúc, Trần Tấn Hưng, Phan Thanh Hải
- 2. Phân lập và định danh một số loài nấm mốc trên đậu phộng và bánh mì Sandwich** 9
Isolation and identification some mold species on peanuts and sandwiches
Nguyễn Hồ Phương Liên, Phạm Thị Thanh Vân
- 3. Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc và các yếu tố liên quan** 17
The rate of fungal infestation in patients with keratitis and related factors
Võ Tường Vy, Nguyễn Hồ Phương Liên, Nguyễn Nhật Minh Thu
- 4. Khảo sát vi nấm gây viêm ống tai ngoài trên bệnh nhân đến khám tai và các yếu tố liên quan** 26
Surveying fungal agent cause inflammation external in patients who come for medical examination and related factors
Đoàn Khả Tú, Nguyễn Hồ Phương Liên, Trịnh Tuyết Huệ
- 5. Thực trạng nhiễm, sự phân bố các loài Candida Spp. gây viêm âm đạo ở phụ nữ và các yếu tố liên quan** 34
The situation of infection, the distribution of Candida Spp. Species causes vaginitis in women and related factors
Nguyễn Ngọc Mai Uyên, Nguyễn Hồ Phương Liên, Phạm Trương Trúc Giang, Trần Thị Thoa
- 6. Nghiên cứu tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Aedes Aegypti* của tinh dầu trầm (*Melaleuca cajuputi powell*)** 42
Study on *melaleuca cajuputi* powell essential oil in protecting from *aedes aegypti* mosquitoes
Nguyễn Thị Vân, Lê Quốc Tuấn, Hoàng Thị Hòa, Đỗ Thị Thùy Dung, Nguyễn Khắc Lực
- 7. Hiệu lực phác đồ Cloroquin trong điều trị sốt rét *Plasmodium Vivax* tại huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai (2018-2020)** 50
Efficacy of the chloroquine regimen in the treatment for *Plasmodium Vivax* malaria at Krong Pa district, Gia Lai province (2018-2020)
Lý Chanh Ty, Hoàng Đình Cảnh, Trần Thanh Dương, Triệu Nguyên Trung
- 8. Đánh giá sốt rét do *Plasmodium Vivax* kháng với Chloroquine thông qua đo nồng độ thuốc Chloroquine và chất chuyển hóa Desethylchloroquine bằng phương pháp sắc ký khí lỏng ghép khối phổ** 59
Valuation of the chloroquine resistance plasmodium vivax malaria by chloroquineplus its metabolic dethylchloroquine blood concentration using liquid chromatography tandem mass spectrometry
Lý Chanh Ty, Hoàng Đình Cảnh, Trần Thanh Dương, Triệu Nguyên Trung
- 9. Xác định một số yếu tố liên quan nhiễm nấm da, niêm mạc ở người dân khám bệnh da liễu tại Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa** 67
Determination of some factors related to the infection of skin and mucous membranes in people examined and treated at Quy Hoa national leprosy dermatology Hospital
Hoàng Đình Cảnh, Trần Quang Phục

10. Nghiên cứu tỷ lệ thành phần loài nấm <i>Candida</i> Spp ở da niêm mạc trên người đến khám tại Bệnh viện Phong Da liễu Quy Hòa	74
The prevalence and composition of <i>Candida</i> Spp. in mucosa of patients examined at Quy Hoa national leprosy Dermatology Hospital <i>Hoàng Đình Cảnh, Trần Quang Phục</i>	
11. Các yếu tố liên quan đến chất lượng cuộc sống ở bệnh nhân suy thận mạn giai đoạn cuối tại Bệnh viện Hữu nghị đa khoa Nghệ An (2021)	86
Factors related to the quality of life of patients with end-stage chronic kidney disease at Nghe An Friendship general Hospital (2021) <i>Trần Tất Thắng, Hoàng Đình Cảnh, Hoàng Thị Thành</i>	
12. Nghiên cứu một số yếu tố liên quan giữa rối loạn lipid máu với một số đặc điểm của bệnh nhân tăng huyết áp điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Đa khoa thành phố Vinh - Nghệ An (2021)	93
Factors associated between dyslipidemia and some special characteristics of outpatient hypertensive patients at Vinh city general Hospital, Nghe An province (2021) <i>Trần Tất Thắng, Hoàng Đình Cảnh, Hoàng Thị Tâm</i>	
13. So sánh hiệu quả của kỹ thuật real-time PCR trên mẫu giấy thấm so với các kỹ thuật truyền thống trong phát hiện ký sinh trùng sốt rét	102
Comparison of the effectiveness of real time PCR on the blotting paper sample compared to traditional techniques in detecting malaria parasites <i>Lê Thanh Liêm, Trần Phú Mạnh Siêu, Trịnh Tuyết Huệ</i>	
14. Một số đặc điểm sinh học của muỗi <i>Aedes Aegypti</i> tại phòng thí nghiệm	109
Some biological characteristics of <i>aedes aegypti</i> in laboratory condition <i>Trần Thị Thuong, Hồ Đình Trung, Nguyễn Văn Tuấn, Đào Minh Trang, Nguyễn Văn Dũng</i>	
15. Nghiên cứu tạo dòng và biểu hiện Protein tái tổ hợp TS24 của <i>Taenia</i> Spp	115
Cloning and expression of TS24 recombinant protein of <i>Taenia</i> Spp <i>Nguyễn Thị Vân Anh, Đặng Trịnh Minh Anh, Phạm Nguyễn Thúy Vy, Ngô Thị Hồng Phương, Nguyễn Thị Minh Châu, Trần Thị Khánh Quỳnh, Trần Minh Quý, Nguyễn Hồ Quỳnh Ngân, Nguyễn Thị Mỹ Duyên, Võ Huỳnh Minh Hiền</i>	
16. Thành phần loài chân đốt y học tại khu vực biên giới Việt Nam - Campuchia, năm 2022	122
Composition of medical arthropod species in border of Vietnam - Campuchia, 2022 <i>Lê Tấn Kiệt, Lê Thành Đồng, Đoàn Bình Minh, Mai Đình Thắng, Phan Văn Ý, Phạm Thị Nhung, Phạm Thị Thu Giang, Nguyễn Hữu Phúc, Trương Văn Thành, Bùi Việt Huyền</i>	
17. Phân tích 861 trường hợp nhiễm ký sinh trùng ngoài da tại phòng khám Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng thành phố Hồ Chí Minh	130
Analysis of 861 cases of external parasite infection skin at institute of malariology, parasitology and entomology Ho Chi Minh city <i>Lê Thành Đồng, Phạm Thị Thiên Lý, Hoàng Oanh, Phạm Thị Thu Giang, Trần Thị Thanh Thủy</i>	
18. Tỷ lệ nhiễm một số loài giun sán phổ biến ở ngoại cảnh tại vùng trồng rau tỉnh Lâm Đồng năm 2022	139
Rate of infection with helminth parasites in environment samples at vegetable growing areas in Lam Dong province <i>Nguyễn Huỳnh Tố Như, Lê Thành Đồng, Đỗ Thị Phượng Linh, Hoàng Anh, Ngô Thị Tuyết Thanh</i>	
19. Tạo dòng và sản xuất Protein tái tổ hợp của <i>Toxocara Canis</i>	146
Cloning and expression of a recombinant protein of <i>Toxocara Canis</i> <i>Đặng Trịnh Minh Anh, Nguyễn Thị Vân Anh, Phạm Nguyễn Thúy Vy, Nguyễn Thị Minh Châu, Trần Minh Quý, Trần Thị Khánh Quỳnh, Ngô Thị Hồng Phương, Nguyễn Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Hồ Quỳnh Ngân, Võ Huỳnh Minh Hiền, Đoàn Bình Minh, Lê Thành Đồng</i>	

20. Xác định tỷ lệ nhiễm và thành phần loài nấm da gây bệnh trên người ở một số quần thể dân cư năm 2022	153
Determination of infection rate and species composition of skin fungi causing diseases in humans in some populations in 2022	
<i>Phùng Thị Thanh Thúy, Lê Thành Đồng, Đỗ Thị Phương Linh, Trần Kiều Thanh, Nguyễn Đức Thắng, Hoàng Anh, Phan Thị Điện, Trần Thị Xuyên</i>	
21. Nghiên cứu xác định loài nấm da gây bệnh ở động vật tại Việt Nam bằng chỉ thị phân tử sử dụng gen nhân	160
Study on identification of skin fungus species causing disease in animals in Vietnam by molecular markers using nuclear genes	
<i>Nguyễn Đức Tân, Nguyễn Văn Thoại, Huỳnh Vũ Vỹ, Trần Hương Quỳnh</i>	
22. Tình trạng nhiễm <i>Demodex</i> của các bệnh nhân đến khám tại Phòng khám chuyên khoa ký sinh trùng Thành phố Hồ Chí Minh	168
<i>Demodex</i> infected rate of patients visited the Parasitology clinic of Institute of Malarialogy-Parasitology-Entomology Ho Chi Minh City	
<i>Phạm Thị Thu Giang, Phạm Thị Thiên Lý, Trần Thị Thanh Thúy, Ngô Thị Thúy, Nguyễn Thị Mộng Siêng, Lê Thành Đồng, Đoàn Bình Minh</i>	
23. Xác định các loài <i>Toxocara</i> Spp. bằng kỹ thuật sinh học phân tử ở miền Nam Việt Nam	175
Determination the presence of <i>Toxocara</i> Spp. by molecular biology techniques in Southern Vietnam	
<i>Lê Thành Đồng, Đỗ Thị Phương Linh, Phạm Nguyễn Thúy Vy, Hoàng Anh, Nguyễn Thị Vân Anh, Đặng Trịnh Minh Anh, Nguyễn Huỳnh Tố Như</i>	
24. Sự lưu hành của cầu trùng gà và phân tích phát sinh loài của <i>Eimeria tenella</i> phân lập tại một số địa điểm thuộc miền Bắc, Việt Nam	181
The circulation of coccidiosis on chicken and the phylogenetic analysis of <i>Eimeria tenella</i> isolated from various locations in Vietnam's North	
<i>Lê Thị Lan Anh, Tạ Phương Anh, Vũ Mai Linh, Bùi Thị Huyền Thương, Bùi Khánh Linh</i>	
25. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm <i>Demodex</i> Spp. ở bệnh nhân viêm da mặt khám tại Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng	189
Some related to <i>Demodex</i> Spp. in patient of face dermatitis going to advice at Da Nang Dermatology Hospital	
<i>Phan Xuân Hiền, Trần Phú Mạnh Siêu, Thái Quang Hùng, Nguyễn Văn Minh</i>	
26. So sánh kết quả điều trị viêm da do <i>Demodex</i> bằng uống Ivermectin kết hợp bôi Metronidazol 1% với liệu pháp uống và bôi Metronidazol kết hợp	198
Compare the outcomes of the treatment of demodicosis by combining oral Ivermectin with topical Metronidazol 1% and combining oral with topical metronidazol therapy	
<i>Trần Cẩm Vân</i>	
27. Thực trạng nhiễm giun sán trên bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội năm 2022	204
Situation of helminths infection in patient at Hanoi Medical University Hospital in 2022	
<i>Phạm Ngọc Minh, Nguyễn Ngọc Bích, Phạm Thị Bích Ngọc</i>	
28. Nghiên cứu đặc điểm một số loài <i>Aspergillus</i> phân lập được từ môi trường không khí	210
Study on characteristics of some <i>Aspergillus</i> species isolated from the air environment	
<i>Phan Huy Hào, Nguyễn Văn Bắc, Đặng Quang Hưng</i>	
29. Khảo sát hoạt chất và hoạt tính kháng sốt rét của cao chiết xà lách (<i>Lactuca Sativa</i>)	218
Active ingredients and anti-malarial effect of <i>Lactuca Sativa</i> ethanol extract in vitro	
<i>Châu Đức Hòa, Bùi Đặng Đăng Khoa, Nguyễn Mạnh Khang, Nguyễn Đình Trí, Nguyễn Hữu Đức Minh</i>	

- 30. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng trên rau ăn sống tại các chợ đầu mối ở thành phố Buôn Ma Thuột** 225
Proportion of parasitic contamination of raw vegetables in wholesale markets of Buon Ma Thuot city
Nguyễn Thị Lan Hương, Nguyễn Duy Phong, Huỳnh Hồng Quang
- 31. Cập nhật tình hình kháng thuốc của nấm da Dermatophytes** 232
Update to antifungal resistance of Dermatophytes
Ngô Thị Minh Châu, Tôn Nữ Phương Anh
- 32. Yếu tố liên quan đến nhiễm ký sinh trùng đường ruột trên rau ăn sống tại các chợ đầu mối ở thành phố Buôn Ma Thuột** 238
Possible affected factors in intestinal parasitic contamination of raw vegetables in wholesale markets of Buon Ma Thuot city
Nguyễn Thị Lan Hương, Nguyễn Duy Phong, Huỳnh Hồng Quang
- 33. Phân lập các loài nấm mốc ở các loại hạt thực phẩm thu thập tại một số chợ ở thành phố Huế năm 2021** 248
Isolation of molds contamination in seeds at the markets of Hue city in 2021
Ngô Thị Minh Châu, Đỗ Thị Bích Thảo, Tôn Nữ Phương Anh
- 34. Đánh giá mức độ nhạy cảm của muỗi Aedes với hóa chất sử dụng trong chương trình phòng chống sốt xuất huyết Dengue bằng kỹ thuật định lượng enzym** 255
Evaluating susceptibility of Aedes to insecticide used in the dengue fever control program by measuring enzymatic activity method
Huỳnh Kha Thảo Hiền, Lê Thành Đồng, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Dương Phước An
- 35. Thành phần loài, độ nhạy cảm của muỗi Anopheles với hóa chất diệt côn trùng tại một số xã lưu hành sốt rét thuộc huyện Mường Tè, tỉnh Lai Châu, năm 2021** 262
Anopheles species composition and susceptibility of malaria vectors to insecticides in some communes with malaria in Muong Te district, Lai Chau province
Nguyễn Văn Dũng, Nguyễn Quang Thiều, Vũ Đức Chính, Đào Minh Trang, Thái Khắc Nam, Vũ Việt Hưng, Bùi Lê Duy
- 36. Thành phần loài và vai trò truyền bệnh sốt rét của muỗi Anopheles tại xã Ia Mlá, huyện Krong Pa, tỉnh Gia Lai, năm 2022** 270
Composition and malaria transmission potential of Anopheles mosquitoes in Ia Mla commune, Kong Pa District, Gia Lai province
Phạm Thu Hà, Bùi Lê Duy, Vũ Việt Hưng, Nguyễn Văn Dũng
- 37. Hiệu quả và tính an toàn trong 03 năm của Ứng cử viên Vắc-xin Sốt xuất huyết của Takeda (TAK-003)** 278
Three-year Efficacy and Safety of Takeda's Dengue Vaccine Candidate (TAK-003)
Tóm tắt các phát hiện được công bố bởi Rivera L và cộng sự trên tạp chí Clin Infect Dis 2022;75:107–17 [1]
Juliet Fawcett, PhD, Leonie Huitema, PhD, and Steven D. Stockton, Jr., PhD, của Excel Medical Affairs đã hỗ trợ viết bài tóm tắt, được tài trợ bởi Takeda

OVERLAPPING STEVENS - JOHNSON SYNDROME AND TOXIC EPIDERMAL NECROLYSIS CAUSED BY THIABENDAZOLE: CASE REPORT

Le Dinh Vinh Phuc*, Tran Tan Hung, Phan Thanh Hai

Medic Medical Center; HCMC - 254 Hoa Hao, 4 ward, 10 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 10/01/2023; Accepted 16/02/2023

ABSTRACT

Objective: To describe the overlapping of Stevens - Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in clinical.

Subjects and methods: We report the case of a 46 - year - old female patient who developed a bullous rash and extensive skin erosion 25 days after taking thiabendazole to treat *Toxocara* spp. from the other hospital.

Results: The skin detachment of body surface area calculated according to the rule of 9 was about 21% (face 3%, abdomen 9%, back 9%). The SCORTEN scale assessed at admission was 2 points with a mortality rate of 12.1%. The ALDEN algorithm for finding drug - related causality reached 4 points, showing that thiabendazole was the drug that likely to cause overlapping Stevens - Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in the patient. She was treated with antibiotics, anti - inflammatory drugs, vitamins, nutritional support and wound care. The treatment results were completely recovered and discharged after 3 weeks, leaving no sequelae of skin, mucous membranes and organ functions.

Conclusion: The overlapping of Stevens - Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis is a delayed hypersensitivity reaction characterized by extensive bullous lesions, erosive ulcers, and severe mucosal and skin necrosis that can lead to death. Thiabendazole is an antiparasitic drug that has been reported to cause Stevens - Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis, although rarely.

Keywords: Thiabendazole, overlapping Stevens - Johnson and toxic epidermal necrolysis.

*Corresponding author

Email address: bsvinhphuc1981@gmail.com

Phone number: (+84) 982 102 262



CHỒNG LẤP HỘI CHỨNG STEVENS - JOHNSON VÀ HOẠI TỬ THƯƠNG BÌ NHIỄM ĐỘC DO THUỐC THIABENDAZOLE: TRƯỜNG HỢP LÂM SÀNG

Lê Đình Vĩnh Phúc*, Trần Tấn Hưng, Phan Thanh Hải

Trung tâm Y khoa MEDIC Thành phố Hồ Chí Minh - 254 Hoà Hảo, phường 4, quận 10, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 10 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 16 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả chồng lấp hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thương bì nhiễm độc trên lâm sàng.

Đối tượng và phương pháp: Chúng tôi báo cáo trường hợp bệnh nhân nữ 46 tuổi bị phát ban bóng nước và trợt da lan rộng toàn thân 25 ngày sau khi uống thuốc thiabendazole điều trị bệnh nhiễm ấu trùng *Toxocara* spp. từ bệnh viện tuyến trước.

Kết quả: Diện tích da bong tróc tính theo quy luật số 9 là khoảng 21% (vùng mặt 3%, bụng 9%, lưng 9%). Thang điểm SCORTEN đánh giá lúc nhập viện là 2 điểm với tiên lượng tỷ lệ tử vong là 12,1%. Thuật toán ALDEN tìm mối quan hệ nhân quả thuốc liên quan đạt 4 điểm cho thấy thiabendazole là thuốc có khả năng đã gây ra chồng lấp hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thương bì nhiễm độc trên bệnh nhân. Bệnh nhân được xử trí bằng thuốc kháng sinh, kháng viêm, vitamin, hỗ trợ dinh dưỡng và chăm sóc vết thương. Kết quả điều trị hồi phục hoàn toàn và xuất viện sau 3 tuần, không để lại di chứng da, niêm mạc và chức năng các tạng.

Kết luận: Chồng lấp hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thương bì nhiễm độc là phản ứng quá mẫn chậm biểu hiện bằng tổn thương bóng nước lan rộng, loét trợt và hoại tử da, niêm mạc nghiêm trọng có thể dẫn đến tử vong. Thiabendazole là thuốc kháng ký sinh trùng có thể gây ra hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thương bì nhiễm độc tuy hiếm gặp.

Từ khóa: Thiabendazole, chồng lấp hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thương bì nhiễm độc.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng Stevens - Johnson (Stevens - Johnson syndrome: SJS) và hoại tử thương bì nhiễm độc (toxic epidermal necrolysis: TEN) chủ yếu do phản ứng bất lợi của thuốc xảy ra ở da, niêm mạc. SJS và TEN là

hai dạng tổn thương của cùng một bệnh với mức độ nghiêm trọng khác nhau. Tùy thuộc vào diện tích da bề mặt cơ thể bị bóc tách, SJS khi bóc tách da dưới 10% diện tích bề mặt cơ thể; chồng lấp SJS và TEN khi bóc tách da từ 10% - < 30% diện tích bề mặt cơ thể và TEN khi bóc tách da $\geq 30\%$ diện tích bề mặt cơ thể [1]. Tại

*Tác giả liên hệ

Email: bsvinhphuc1981@gmail.com

Điện thoại: (+84) 982 102 262

Hàn Quốc, tỷ lệ mắc SJS ở người lớn dao động từ 3,96 - 5,3/1.000.000 dân và TEN từ 0,4 - 1,45/1.000.000 dân [2]. Triệu chứng đặc trưng của SJS và TEN thường xuất hiện 4 - 28 ngày sau dùng thuốc với phát ban kèm mệt mỏi, sốt nhẹ, sau đó tổn thương bóng nước gây bong tróc da đau đớn, ban xuất huyết trên nền hồng ban đa dạng và các tổn thương ở niêm mạc mắt, mũi, miệng, lỗ sinh dục... Diện tích bóc tách da trên lâm sàng có liên quan rõ rệt với tỷ lệ tử vong. SJS và TEN được coi là một trong số ít các cấp cứu da liễu cần chẩn đoán và xử trí sớm [1].

Các loại thuốc thường gây ra SJS và TEN là

thuốc chống co giật (lamotrigine, carbamazepine, phenytoin, phenobarbitone), allopurinol, sulfonamid (cotrimoxazole, sulfasalazine), thuốc kháng sinh (penicillin, cephalosporin, quinolon, minocycline), paracetamol/ acetaminophen, nevirapine (chất ức chế men sao chép ngược không nucleoside), thuốc chống viêm không steroid (NSAID)... Xác định thuốc gây ra SJS và TEN trong một số trường hợp gặp khó khăn nhất là khi bệnh nhân đã dùng nhiều loại thuốc đồng thời. Thuật toán ALDEN (ALgorithm of Drug causality for Epidermal Necrolysis) dùng để hồi cứu xác định mối quan hệ nhân quả của thuốc liên quan với SJS và TEN [3].

Bảng 1: Các tiêu chuẩn của thuật toán ALDEN [3]

Tiêu chuẩn		Điểm	Khoảng điểm dao động
Khoảng thời gian từ khi uống thuốc đến khi bắt đầu khởi phát triệu chứng (ngày chỉ điểm)	5 - 28 ngày	+ 3	- 3 - + 3
	29 - 56 ngày	+ 2	
	1 - 4 ngày	+ 1	
	> 56 ngày	- 1	
	Uống thuốc ngay ngày chỉ điểm hoặc sau ngày chỉ điểm	- 3	
Trường hợp có phản ứng trước đó với cùng một loại thuốc, chỉ thay đổi đối với: + Từ 1 đến 4 ngày: + 3 điểm + Từ 5 đến 56 ngày: + 1 điểm			
Thuốc hiện diện trong cơ thể vào ngày chỉ điểm	Thuốc dùng đến ngày chỉ điểm hoặc đã dùng thuốc tại thời điểm ngắn hơn hơn 5 lần thời gian bán hủy của thuốc trước ngày chỉ điểm	0	- 3 - 0
	Thuốc đã dùng tại thời điểm hơn 5 lần thời gian bán hủy trước ngày chỉ điểm nhưng chức năng gan hoặc thận thay đổi hoặc nghi ngờ có tương tác thuốc	- 1	
	Thuốc đã dùng tại thời điểm hơn 5 lần thời gian bán hủy trước ngày chỉ điểm và chức năng gan hoặc thận không thay đổi hoặc không có nghi ngờ tương tác thuốc	- 3	
Yếu tố tiền sử dùng thuốc lặp lại	Hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thượng bì nhiễm độc xảy ra đặc hiệu với thuốc nhất định	4	- 2 - + 4
	Hội chứng Stevens - Johnson và hoại tử thượng bì nhiễm độc xảy ra với thuốc tương tự	2	
	Xảy ra phản ứng khác sau khi dùng thuốc tương tự	1	
	Không rõ tiền sử tiếp xúc với thuốc trước đó	0	
	Không xảy ra bất kỳ phản ứng nào	- 2	

Tiêu chuẩn		Điểm	Khoảng điểm dao động
Yếu tố dừng thuốc	Dừng thuốc	0	0 hoặc - 2
	Vẫn tiếp tục nhưng không gây tác dụng có hại	- 2	
Loại thuốc	Liên quan rõ thuốc trong danh mục thuốc liên quan trong các nghiên cứu bệnh - chứng trước đó	+ 3	- 1 - + 3
	Có liên quan thuốc có nguy cơ nhưng trong các nghiên cứu bệnh - chứng trước đó	+ 2	
	Nghi ngờ thuốc trong một số báo cáo trước đây	+ 1	
	Không rõ	0	
	Không nghi ngờ	- 1	
Tổng điểm			- 11 - + 10
Phân loại		< 0: Rất hiếm xảy ra 0 - 1: Không chắc chắn 2 - 3: Có thể 4 - 5: Có khả năng ≥ 6: Rất có khả năng	

Mức độ nghiêm trọng của SJS và TEN được đánh giá bằng thang điểm SCORTEN (Severity - of - illness Score for TEN) dựa trên 7 tiêu chí độc lập ghi nhận khi nhập viện, cứ có 1 tiêu chí tính 1 điểm, bao gồm: (a) Tuổi > 40 tuổi; (b) Tiền sử có bệnh lý ung thư; (c) Nhịp tim > 120 lần/phút; (d) Tỷ lệ bóc tách da ban đầu > 10%; (e) Urê huyết thanh > 10 mmol/L; (f) Đường huyết > 14 mmol/L; (g) Bicarbonate huyết thanh < 20 mEq/L [4]. Tỷ lệ tử vong do SJS và TEN phụ thuộc vào tổng số điểm như sau: điểm 0 - 1 (tỷ lệ tử vong 3,2%), điểm 2 (tỷ lệ tử vong 12,1%), điểm 3 (tỷ lệ tử vong 35,3%), điểm 4 (tỷ lệ tử vong 58,3%) và điểm 5 (tỷ lệ tử vong > 90%) [4].

2. TRÌNH BÀY CA BỆNH

2.1. Bệnh sử và lâm sàng

Bệnh nhân nữ, 46 tuổi, ở Đồng Nai, khám bệnh ngày 30 tháng 03 năm 2021 tại Phòng khám chuyên khoa Nhiễm - Ký sinh trùng, Trung tâm Y khoa MEDIC Thành phố Hồ Chí Minh với lý do khám là ngứa châm chích rải rác các vùng da toàn thân kéo dài, không kèm theo sẩn, mề đay. Khai thác yếu tiền căn, chưa ghi nhận bệnh lý nội, ngoại khoa gì đặc biệt trước đây. Bản thân và cha mẹ, anh chị em trong gia đình không có tiền sử dị ứng thuốc. Cách ngày khám 25 ngày, bệnh nhân

khám tại bệnh viện tuyến trước thuộc tỉnh Đồng Nai được chẩn đoán nhiễm ấu trùng *Toxocara* spp. và điều trị với thiabendazole 500mg (Vazigoc) x 15 viên uống 5 ngày. Ghi nhận lúc khám: bệnh nhân tỉnh, tiếp xúc tốt, thể trạng trung bình, da niêm hồng, mạch 87 lần/phút, huyết áp: 139/84 mmHg, nhiệt độ nách 37°C. Khám lâm sàng bụng mềm, không đau, phản ứng thành bụng âm tính, rung gan âm tính, gan - lách không sờ chạm, hạch vùng cổ, nách, bẹn hai bên không sờ thấy, nghe tim phổi không âm thổi, không ran bệnh lý.

2.2. Cận lâm sàng

Bệnh nhân được chỉ định làm các xét nghiệm, kết quả cho thấy số lượng bạch cầu 10.700 tế bào/mm³, tỷ lệ bạch cầu eosinophil 3,2%, số lượng hồng cầu và tiểu cầu trong giới hạn bình thường, glucose/máu (đói) 5,23 mmol/L, men gan và chức năng thận trong giới hạn bình thường, các dấu ấn viêm gan siêu vi HBsAg âm tính, anti - HCV âm tính, ELISA huyết thanh chẩn đoán *Strongyloides* spp. IgG và *Toxocara* spp. IgG âm tính.

2.3. Diễn tiến điều trị

Bệnh nhân được chẩn đoán dị ứng, chỉ định thuốc kháng histamin chống ngứa Rupatadin 10mg x 15 viên, ngày uống 1 viên. Sau đó 3 ngày, bệnh nhân xuất hiện phát ban dạng bóng nước với nhiều kích thước khác nhau ở mắt, bụng, lưng, tay, chân (Hình 1).

Hình 1. Phát ban dạng bóng nước phân bố ở mặt và bụng ngày thứ nhất



Bệnh nhân được chỉ định nhập Bệnh viện Da liễu Thành phố Hồ Chí Minh, ghi nhận lúc nhập viện: mạch 112 lần/phút, huyết áp: 110/70 mmHg, nhiệt độ nách 38,5°C; da tổn thương với nhiều bóng nước căng, chứa

dịch trong, d = 1 - 4cm, trên nền hồng ban, sang thương dạng bia ở mặt, vài bóng nước vỡ, rỉ dịch, phân bố đối xứng (Hình 2).

Hình 2. Tổn thương da bóng nước phân bố ở vùng lưng và chân ngày thứ 4

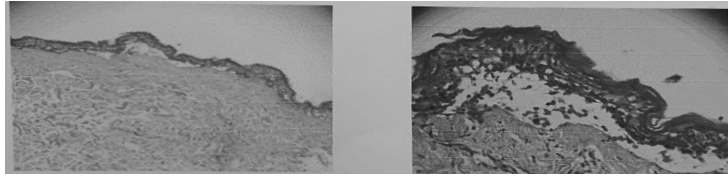


Chẩn đoán lâm sàng: Hội chứng Stevens - Johnson. Chẩn đoán phân biệt: Pemphigus vulgaris. Xử trí: Medrol 16mg x 3 viên uống, Eosin 2% thoa bóng nước và vitamin uống.

Bệnh nhân được chỉ định sinh thiết tổn thương da vùng bụng, mô tả giải phẫu bệnh vi thể như sau: Lớp thượng bì có hiện tượng hoại tử. Có hiện diện bóng nước ở dưới thượng bì, bên trong lòng bóng nước có chứa nhiều hồng cầu (Hình 3).



Hình 3. Tổn thương vi thể mẫu bệnh phẩm da vùng bụng



Kết luận giải phẫu bệnh: Hội chứng Stevens - Johnson.

Đánh giá theo điểm SCORTEN thời điểm nhập viện là 2 điểm (> 40 tuổi và tỷ lệ bóc tách da > 10%), tỷ lệ tử vong tiên lượng là 12,1%.

Vào ngày thứ 7 sau khởi phát, ghi nhận bóng nước, trợt da nhiều, rỉ dịch trên nền hồng ban phân bố vùng

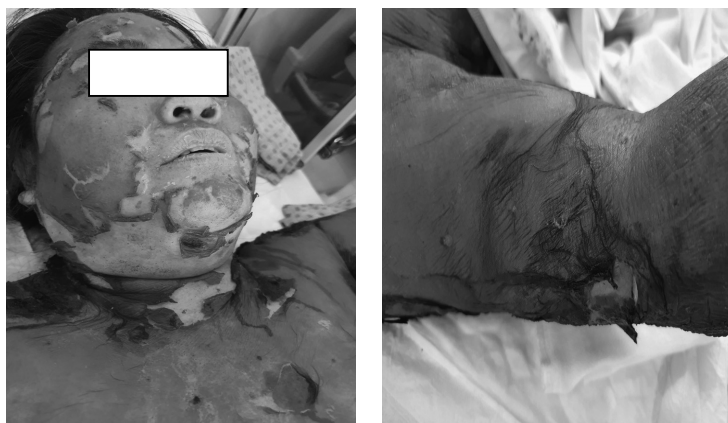
lưng, mông. Trợt da khô hơn ở vùng ngực. Đóng mài ở môi. Sang thương hình bia rải rác khắp người. Diện tích bong da tính theo quy luật số 9 khoảng 21% diện tích bề mặt cơ thể (mặt 3%, bụng 9% và lưng 9%) (Hình 4). Chẩn đoán: Hội chứng Stevens - Johnson bội nhiễm. Chỉ định: Vancomycin 500mg 2 lọ x 2 truyền tĩnh mạch.

Hình 4. Trợt da vùng lưng và tổn thương hình bia khắp hai chân ngày thứ 7



Vào ngày thứ 14 sau khởi phát, da khô, bong tróc tốt, chỉ còn trợt da vùng mông, bệnh nhân ngồi dậy và vận động nhẹ tại chỗ được (Hình 5).

Hình 5. Da khô và bong tróc vào ngày thứ 14



2.4. Kết quả điều trị

Bệnh nhân xuất viện sau 3 tuần điều trị, tình trạng da khô, bong tróc tạo da mới, sinh hiệu ổn định, vận động bình thường. Kết quả tái khám sau đó 1 tháng và 3 tháng tại bệnh viện Da liễu Thành phố Hồ Chí Minh không ghi nhận di chứng trên da, niêm mạc và chức năng các tạng.

3. BÀN LUẬN

Về chẩn đoán trên bệnh nhân này, dựa trên đặc điểm lâm sàng tổn thương bóng nước và hình ảnh sinh thiết tổn thương cho thấy lớp thượng bì có hiện tượng hoại tử, có hiện diện bóng nước ở dưới thượng bì, bên trong lòng bóng nước có chứa nhiều hồng cầu. Về mặt lâm sàng, cần chẩn đoán phân biệt tổn thương da do tụ cầu, hội chứng sốc nhiễm độc, viêm da tróc vảy, hồng ban đa dạng, viêm da tự miễn, bỏng hóa chất... Tổn thương mô bệnh học của SJS và TEN đặc trưng bởi chết tế bào theo chương trình (apoptosis) của tế bào Langerhans biểu bì, hoại tử tế bào sừng, bóc tách lớp biểu bì và thâm nhiễm tế bào lympho quanh mạch máu [5].

Thuốc thiabendazole sử dụng ở bệnh viện tuyến trước cách 25 ngày nhưng phản ứng quá muộn đang diễn ra. Tính theo thang điểm ALDEN các tiêu chí ở bảng 1, tổng điểm ALDEN của thuốc thiabendazole là 4 điểm (thời gian từ khi sử dụng thuốc đến khi có triệu chứng khởi phát + 3 điểm; sự hiện diện của thuốc trong cơ thể trong ngày xuất hiện phản ứng nghi ngờ - 1 điểm; ngừng sử dụng thuốc gây phản ứng bất lợi 0 điểm; đã từng xảy ra phản ứng với thuốc hoặc phản ứng tái diễn khi tái sử dụng thuốc 0 điểm; xếp hạng của thuốc theo nguy cơ xảy ra phản ứng có liên quan + 2 điểm). Kháng sinh được sử dụng để kiểm soát nhiễm trùng huyết từ tổn thương da. Dinh dưỡng và vitamin được dùng để hỗ trợ giúp chữa lành vết thương. Tình trạng mất nước qua các tổn thương bóng nước khắp cơ thể được giảm đau và chăm sóc vết thương tại chỗ. Người ta đã chứng minh bệnh nhân mắc SJS và TEN có thể liên quan yếu tố di truyền [6] nhưng trên bệnh nhân này không chứng minh được. Yếu tố tiền căn phản ứng quá muộn khi dùng thuốc của bệnh nhân trong quá khứ chưa được ghi nhận, kể cả cha mẹ và anh chị em của bệnh nhân. Điều này cho thấy, trên lâm sàng dù các bác sĩ luôn chú ý đến tiền sử dị ứng thuốc của từng bệnh nhân nhưng rất khó để tránh. Phản ứng có hại của thuốc mà chúng ta gặp trong thực hành lâm sàng sẽ không xảy ra nếu chúng ta sàng

lọc cẩn thận về tính nhạy cảm với thuốc, đặc biệt là đối với một số loại thuốc được biết là gây ra phản ứng có hại [3]. Điều này nên thực hiện dựa trên bằng chứng xét nghiệm dược động học và bộ gen liên quan trước khi sử dụng thuốc để tránh phản ứng có hại.

Các phản ứng có hại của thuốc là nguyên nhân gây bệnh tật, tàn tật, tử vong và tiêu tốn kinh tế trong hệ thống y tế, chiếm khoảng 4,9% số ca nhập viện trên phạm vi toàn thế giới [7]. Các cơ quan quản lý nên tăng cường giám sát thuốc sau khi đưa ra thị trường để xác định các phản ứng có hại của thuốc và thông báo người dân biết để hạn chế tỷ lệ mới mắc. Việc kê đơn thuốc đặc trị kỹ sinh trùng chắc chắn phải do bác sĩ chuyên khoa chịu trách nhiệm và giữ mối liên hệ với bệnh nhân trong thời gian điều trị để xử lý kịp thời phản ứng có hại của thuốc có thể xảy ra.

4. KẾT LUẬN

Thiabendazole là thuốc kháng ký sinh trùng sử dụng khá rộng rãi ở các tuyến y tế. Chồng lấp SJS và TEN là phản ứng bất lợi nghiêm trọng sau khi sử dụng thiabendazole 25 ngày từ bệnh viện tuyến trước mà chúng tôi gặp phải. Tỷ lệ da bong tróc khoảng 21% so diện tích bề mặt cơ thể, thang điểm SCORTEN lúc nhập viện đánh giá mức độ nghiêm trọng đạt 2 điểm, tỷ lệ tử vong tiên lượng theo thang điểm SCORTEN là 12,1%. Bệnh nhân được chẩn đoán, nhận diện thuốc gây phản ứng bất lợi kịp thời theo thang điểm ALDEN là 4 điểm. Kết quả điều trị bệnh nhân an toàn, xuất viện sau 3 tuần, không để lại di chứng sau chồng lấp SJS và TEN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dodiuk-Gad RP, Chung WH, Valeyrie-Allanore L et al., Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: An update. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 16: pp. 475 – 93, 2015.
- [2] Yang MS, Lee JY, Kim J et al., Incidence of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epi-dermal Necrolysis: A nationwide population-based study using National Health Insurance Database in Korea. *PLoS ONE*, 11: e0165933, 2016.
- [3] Sassolas B, Haddad C, Mockenhaupt M et al., ALDEN, an algorithm for assessment of drug causality in Stevens-Johnson syndrome and toxic



- epidermal necrolysis: Comparison with case-control analysis. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 88: pp. 60 – 8, 2010.
- [4] Bastuji-Garin S, Fouchard N, Bertocchi M et al., SCORTEN: A severity-of-illness score for toxic epidermal necrolysis. *J. Investig. Dermatol.*, 115: pp. 149 – 53, 2000.
- [5] Ribhi H, Omar AI, Moustafa IH, Stevens-Johnson syndrome: Pathogenesis, diagnosis, and management. *Annals of Medicine*, 40: pp. 129 – 38, 2008.
- [6] Lerch M, Mainetti C, Terziroli BB et al., Current perspectives on Stevens-Johnson Syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Clin Rev Allergy Immunol.*, 54(1): pp. 147 – 76, 2018.
- [7] Awodele O, Aliu RAI et al., Patterns of adverse drug reaction signals in NAFDAC pharmacovigilance activities from January to June 2015: safety of drug use in Nigeria. *Pharmacol Res Perspect.*, 6(5): pp. 1 – 11, 2018.

ISOLATION AND IDENTIFICATION SOME MOLD SPECIES ON PEANUTS AND SANDWICHES

Nguyen Ho Phuong Lien^{1,*}, Pham Thi Thanh Van²

¹University of Medicine and Pharmacy at HCMC - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

²University of Medicine Pham Ngoc Thach - No.2 Duong Quang Trung, 12 ward, 10 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 01/12/2022

Revised 13/01/2023; Accepted 10/02/2023

ABSTRACT

Objectives: Survey on the prevalence of infections of mold on peanuts and sandwiches that came from grocery stores and supermarkets in Ho Chi Minh City in 2021.

Methods: In a Cross-sectional study, all the objects were 30 peanut samples and 30 sandwich samples, that were randomly purchased from grocery stores, markets, and supermarkets for the culture, isolation and mold identification. All data is processed and analyzed using SPSS.

Results: The isolation rates of molds on peanuts and sandwiches were 86.67% and 13.33% in order. On peanuts, identified *Rhizopus* sp (51.72%), *Aspergillus niger* (31.03%) and *Aspergillus terreus* (17.24%). On sandwich, identified *Rhizopus* sp (16.67%), *Aspergillus niger* (50.00%) and *Aspergillus flavus* (33.33%). There is a relationship between packaging specifications and the infection of *Rhizopus* sp ($p < 0.001$ *) (Chi-square test), *Aspergillus niger* ($p = 0.019$ *) (Fisher test)

Conclusion: The rates of molds on peanuts were 86.67% and sandwiches were 13.33%. There is a relationship between packaging specifications and the infection of *Rhizopus* sp, *Aspergillus niger*.

Key words: Mold infection rate, mold, sandwich, peanut.

*Corresponding author

Email address: phuonglien20051977@gmail.com

Phone number: (+84) 903 144 575



PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH MỘT SỐ LOÀI NẤM MỐC TRÊN ĐẬU PHỘNG VÀ BÁNH MÌ SANDWICH

Nguyễn Hồ Phương Liên^{1,*}, Phạm Thị Thanh Vân²

¹Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch - 2 Dương Quang Trung, P.12, Q.10, TP.HCM, Việt Nam

Ngày nhận bài: 01 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 13 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 10 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát tỉ lệ nhiễm nấm mốc trên đậu phộng và bánh mì sandwich từ các cửa hàng tạp hóa và siêu thị tại Thành phố Hồ Chí Minh năm 2021

Phương pháp nghiên cứu: Cắt ngang mô tả, đối tượng là 30 mẫu đậu phộng và 30 mẫu bánh mì sandwich được mua ngẫu nhiên từ các cửa hàng tạp hóa, chợ, siêu thị về nuôi cấy, phân lập, định danh nấm mốc. Toàn bộ dữ liệu được xử lý và phân tích bằng phân mềm SPSS.

Kết quả: Tỉ lệ phân lập được nấm mốc trên đậu phộng và bánh mì sandwich là 86,67% và 13,33%. Trên đậu phộng định danh được *Rhizopus* sp (51,72%), *Aspergillus niger* (31,03%) và *Aspergillus terreus* (17,24%). Trên bánh mì sandwich định danh được *Rhizopus* sp (16,67%), *Aspergillus niger* (50,00%) và *Aspergillus flavus* (33,33%). Có sự liên quan giữa quy cách đóng gói với nhiễm *Rhizopus* sp ($p < 0,001^*$)(kiểm định Chi bình phương) và *Aspergillus niger* ($p = 0,019^*$)(kiểm định Fisher)

Kết luận: Tỉ lệ nhiễm nấm mốc trên đậu phộng là 86,67% và bánh mì sandwich là 13,33%. Có sự liên quan giữa quy cách đóng gói với nhiễm *Rhizopus* sp và *Aspergillus niger*.

Từ khóa: Tỉ lệ nhiễm nấm mốc, nấm mốc, bánh mì sandwich, đậu phộng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lạc hay đậu phộng, đậu phụng (danh pháp khoa học: *Arachis hypogaea*), hạt đậu phộng có giá trị dinh dưỡng cao, chứa nhiều protein và lipid với hàm lượng khá cao, nó cũng là nguồn cung cấp vitamin E, K, B rất quan trọng và cả nguồn thiamine và niacine là những vitamin có rất ít trong các loại ngũ cốc khác.

Bánh mì kẹp hoặc bánh mì lát (tiếng Anh: sandwich), chứa ít chất béo bão hòa và cholesterol rất tốt cho tim

mạch. Bánh mì cũng cung cấp một nguồn tốt thiamin và folate, đây là loại phẩm khá phổ biến trong thực đơn hàng ngày của mỗi gia đình.

Nước ta có điều kiện khí hậu nhiệt đới nóng ẩm cộng với điều kiện bảo quản không đảm bảo nên thực phẩm nói chung, bánh mì sandwich hay hạt đậu phộng nói riêng rất dễ bị nấm mốc tấn công gây hư hỏng. Nấm mốc khi mới chớm mọc rất khó phát hiện bằng mắt thường, phần lớn thuộc giống *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. và trong số chúng lại sản sinh ra độc

*Tác giả liên hệ

Email: phuonglien20051977@gmail.com

Điện thoại: (+84) 903 144 575

tổ. Aflatoxin là một độc tố cực độc có thể gây chết người với liều lượng rất nhỏ do *Aspergillus flavus* và *Aspergillus parasiticus* sản sinh ra. Sau một thời gian có thể gây ung thư gan do mỗi ngày tích lũy một lượng cực thấp độc tố đó. Việc biết được sự có mặt của các loài *Aspergillus* sp. thực phẩm rất quan trọng trong việc đảm bảo an toàn và nâng cao kiến thức sử dụng thực phẩm của mỗi gia đình chúng ta.

Theo CDC, nấm mốc thông thường hình thành sợi và bào tử dính, bào tử nấm mốc với kích thước 2 – 3,5 µm sẽ đi thẳng vào phổi, bộ phận khác của cơ thể người. Aflatoxin là độc tố được sản sinh ra như một chất chuyển hoá trong quá trình trao đổi chất của nấm mốc *Aspergillus flavus* và *Aspergillus parasiticus* trong thực phẩm và thức ăn gia súc. Aflatoxin là độc tố tích lũy trong cơ thể người và gia súc, là nguồn gây ung thư mạnh (nhất là ung thư gan và tổn thương ở thận)[1],[2].

Việc gọi tên được các loài nấm mốc trong đậu phộng và bánh mì sandwich góp phần cảnh báo về vấn đề bảo quản thực phẩm, ý thức sử dụng thực phẩm an toàn trong mỗi gia đình. Với mong muốn góp phần cảnh báo sự hiện diện cũng như các tác động gây hại của nấm mốc trên thực phẩm mà đại diện là bánh mì sandwich và đậu phộng, chúng tôi tiến hành nghiên cứu chuyên đề “phân lập và định danh sơ bộ một số loài nấm mốc trên hạt đậu phộng và bánh mì sandwich”.

Mục tiêu nghiên cứu

- Phân lập và định danh các loài nấm mốc hiện diện trên đậu phộng và bánh mì sandwich
- Khảo sát tỉ lệ nhiễm nấm mốc trên đậu phộng và bánh mì sandwich từ các cửa hàng tạp hóa và siêu thị tại Thành phố Hồ Chí Minh năm 2021.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Xét Nghiệm – Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh và Trung tâm kiểm chuẩn Chất lượng xét nghiệm y học Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Thời gian nghiên cứu: Từ 1/1/2021 – 30/4/2021

Đối tượng nghiên cứu: Đậu phộng và bánh mì sandwich được chọn mua ngẫu nhiên từ các cửa hàng tạp hóa và siêu thị tại Thành phố Hồ Chí Minh từ 1/1/2021 – 30/3/2021.

Tiêu chí chọn vào: Hạt đậu phộng trơn láng, không bị

hồng teo tóp, có chấm đen và bánh mì sandwich phải còn trong hạn sử dụng

Tiêu chí loại ra: mẫu bị côn trùng gặm hoặc bao bì bị rách

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Cắt ngang mô tả

Cỡ mẫu: 60 mẫu (30 mẫu đậu phộng và 30 mẫu bánh mì sandwich)

Kỹ thuật chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện

Phương pháp thực hiện:

Nuôi cấy và phân lập vi nấm từ 60 mẫu đậu phộng và bánh mì sandwich trên môi trường SDA 2-5 ngày. Quan sát đại thể khúm nấm và Soi tươi nuôi cấy để phân nhóm nấm *Aspergillus* sp. và nhóm khác. Kết quả định danh nhóm *Aspergillus* sp. được cấy vào môi trường định danh Czapek nhờ tính chất sinh màu của mỗi loại nấm. Tuy nhiên, môi trường Czapek không đủ để định danh loài đầy đủ nên cần thực hiện thêm kỹ thuật cấy nấm trên kính. Dựa vào các đặc điểm quan sát đại thể khúm nấm, hiện vi lúa cây căn cứ trên những đặc điểm hình thái, sắp xếp của bào tử và bào đài để định danh tên loài của nấm đó.

Xử lý số liệu: Phần mềm SPSS 20.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sau quá trình tiến hành nghiên cứu, dựa trên đặc điểm đại thể và vi thể nấm mốc, chúng tôi định danh theo khóa định loài của tác giả Nguyễn Phùng Tiến, Bùi Minh Đức (2007)[3].

- Đại thể: quan sát đặc điểm hình thái sợi nấm bằng mắt thường

- Vi thể: thực hiện tiêu bản nấm mốc, quan sát cấu tạo khuẩn ty và bào tử ở vật kính 40X.

Dựa trên kết quả thu nhận được tra khóa phân loại, xác định tên loài nấm mốc tương ứng chúng tôi quan sát thấy:

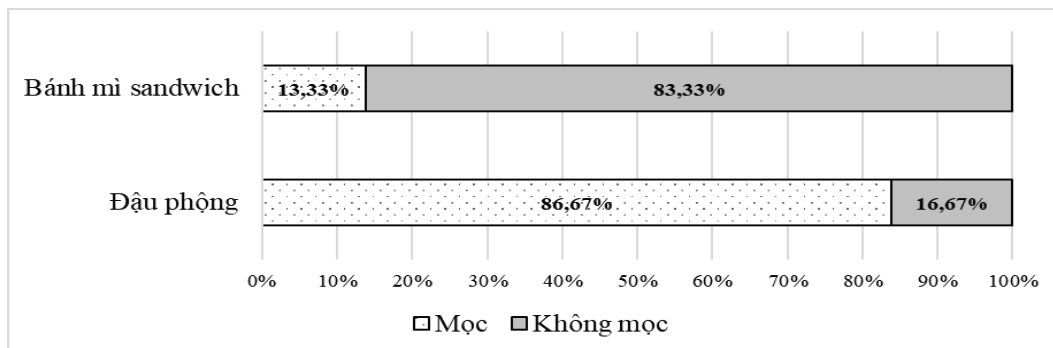
+ Trên hạt đậu phộng xuất hiện thường xuyên một số loài nấm mốc sau: *Rizopus* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*.

+ Trên hạt đậu phộng xuất hiện thường một số loài nấm mốc sau: *Rizopus* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*.



Kết quả nuôi cấy nấm mốc trên SDA

Biểu đồ 1. Kết quả nuôi cấy nấm mốc trên SDA



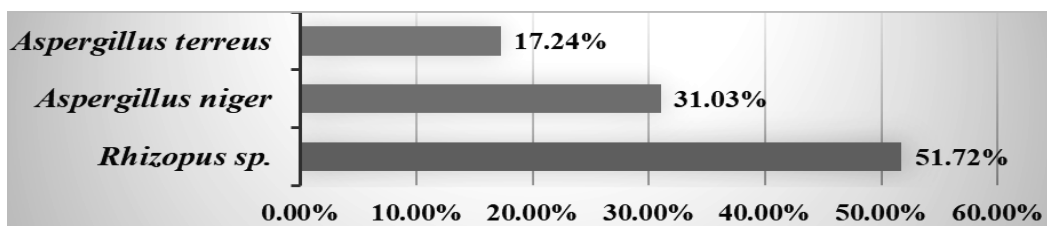
Nhận xét:

- Trong 30 mẫu đậu phộng, có 26 mẫu mọc (86,67%), có 4 mẫu không mọc (16.67%).

- Trong 30 mẫu bánh mì sandwich, có 5 mẫu mọc (13.33%), có 25 mẫu không mọc (83.33%).

Tỉ lệ các loại nấm mốc phân lập trên đậu phộng

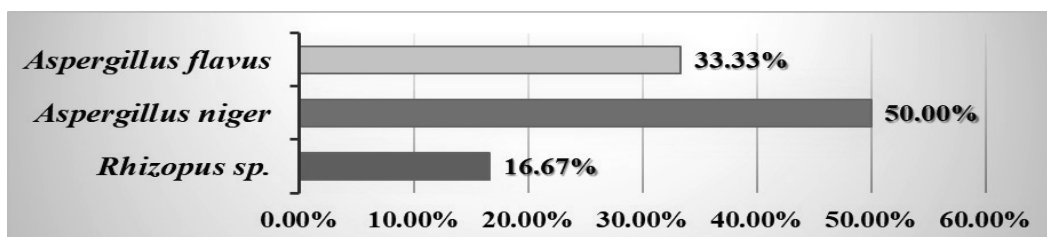
Biểu đồ 2. Tỉ lệ các loại nấm mốc phân lập trên đậu phộng



Nhận xét: Trong nhóm mẫu đậu phộng: *Rhizopus sp* gặp nhiều nhất với tỉ lệ 51,72%, tiếp đến là *Aspergillus niger* 31,03% và *Aspergillus tereus* 17,24%.

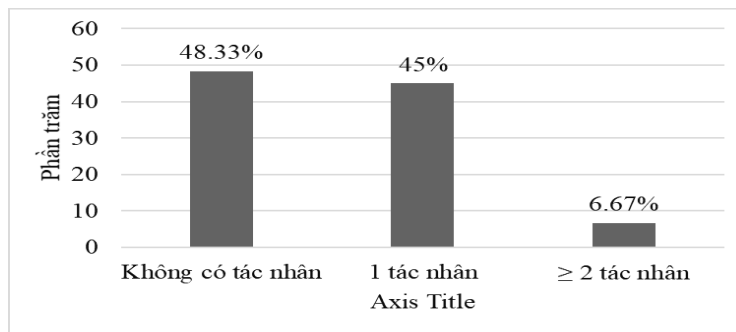
Tỉ lệ các loại nấm mốc phân lập trên bánh mì sandwich

Biểu đồ 3. Tỉ lệ các loại nấm mốc phân lập trên bánh mì sandwich



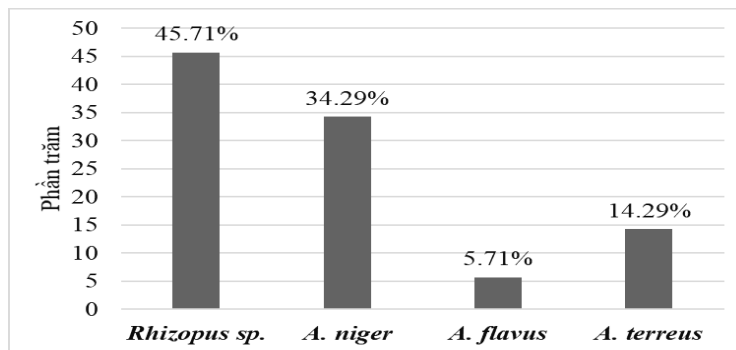
Nhận xét: Trong nhóm bánh mì sandwich: *Aspergillus niger* gặp nhiều nhất với tỉ lệ 50%, tiếp đến là và *Aspergillus flavus* 33,33% và *Rhizopus sp* 16,67%.

Biểu đồ 4. Tỷ lệ nhiễm nấm trên thực phẩm



Nhận xét: Tỷ lệ phân lập nấm mốc trên 30 mẫu đậu phộng và 30 mẫu bánh mì sandwich là 51,67%, trong đó có đến 6,67% phân lập được ≥ 2 tác nhân nấm mốc. Đây là tỉ lệ đáng báo động về chất lượng thực phẩm của nước ta.

Biểu đồ 5. Tỷ lệ thành phần các loài nấm mốc định danh được trên thực phẩm



Nhận xét: Trong mẫu sandwich và đậu phộng nhiễm nấm mốc, tỉ lệ cao nhất là *Rizopus sp.* (45,71%), *Aspergillus niger* (34,29%), *Aspergillus terreus* (14,29%) và cuối cùng là *Aspergillus flavus* (5,71%) - Đáng báo động với sự hiện diện tác nhân nguy hiểm này.

Bảng 1. Mối liên quan giữa cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm nấm mốc

Biến số		Nhiễm nấm - n (%)		p
		Có	Không	
Đóng gói	Kín (24)	1 (1,7)	23 (38,3)	p < 0,001*
	Hở (36)	30 (50)	6 (10)	

* Kiểm định Chi bình phương

Có mối liên quan giữa quy cách đóng gói với tình trạng nhiễm nấm mốc



Bảng 2. Mối liên quan giữa cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm *Rhizopus* sp.

Biến số		Nhiễm <i>Rhizopus</i> sp. - n (%)		p
		Có	Không	
Đóng gói	Kín (24)	0 (0)	24 (40)	p < 0,001*
	Hở (36)	16 (26,7)	20 (33,3)	

* Kiểm định Chi bình phương

Có mối liên quan giữa quy cách đóng gói với tình trạng nhiễm *Rhizopus* sp.

Bảng 3. Mối liên quan giữa cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm *A. niger*

Biến số		Nhiễm <i>A. niger</i> - n (%)		p
		Có	Không	
Đóng gói	Kín (24)	1 (1,7)	23 (38,3)	0,019**
	Hở (36)	11 (18,3)	25 (41,7)	

** Kiểm định chính xác Fisher

Có mối liên quan giữa quy cách đóng gói với tình trạng nhiễm *A. niger*.

Bảng 4. Mối liên quan giữa cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm *A. flavus*

Biến số		Nhiễm <i>A. flavus</i> - n (%)		p
		Có	Không	
Đóng gói	Kín (24)	1 (1,7)	23 (38,3)	1**
	Hở (36)	1 (1,7)	35 (58,3)	

** Kiểm định chính xác Fisher

Không ghi nhận mối liên quan giữa quy cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm *A. flavus*

Bảng 5. Mối liên quan giữa cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm *A.terreus*

Biến số		Nhiễm <i>A.terreus</i> - n (%)		p
		Có	Không	
Đóng gói	Kín (24)	1 (1,7)	23 (38,3)	0,077**
	Hở (36)	11 (18,3)	25 (41,7)	

** Kiểm định chính xác Fisher

Không ghi nhận mối liên quan giữa quy cách đóng gói và tỉ lệ nhiễm *A.terreus*

4. BÀN LUẬN

Nấm mốc phân lập được trên hạt đậu phộng và bánh mì sandwich những loài sau:

Rizopus sp. chiếm tỷ lệ cao nhất ở đậu phộng (51,72%) và ở bánh mì sandwich tỷ lệ thấp (16,67%), điều này có thể lý giải được do đây là loại nấm hoại sinh trong không khí, là tác nhân phổ biến gây phân hủy thực phẩm [4]. Do bánh mì bảo quản kín và ít tiếp xúc với không gian bên ngoài hơn nên tỉ lệ phân lập trên đậu phộng cao hơn rất nhiều.

Aspergillus niger ở đậu phộng (31,53%) và sandwich (50%), là tác nhân hiện diện trên nho, mơ, hành tây và đậu phộng, và là chất gây ô nhiễm thực phẩm phổ biến, *Aspergillus niger* được báo cáo là tạo ra độc tố nấm mốc mạnh được gọi là ochratoxin – có khả năng gây ung thư cho người (Nhóm 2B), và được chứng minh là gây đột biến yếu, có thể do cảm ứng tổn thương DNA bị oxy hóa [5]. Sự phơi nhiễm của con người có thể xảy ra khi tiêu thụ các sản phẩm thực phẩm bị nhiễm.

Aspergillus terreus trong nghiên cứu này chỉ ghi nhận ở đậu phộng và chưa thấy ở bánh mì sandwich. *A. terreus* phổ biến ở vùng khí hậu ẩm áp hơn như vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Ngoài hiện diện trong đất, *A. terreus* còn được tìm thấy trong các môi trường sống như thảm thực vật phân hủy và bụi [6]. Cũng như *Rhizopus* sp, *A. terreus* hiện diện nhiều trong không khí, bánh mì được bảo quản tương đối kín và ít tiếp xúc với không gian bên ngoài hơn nên nên cứu chỉ ghi nhận được trên đậu phộng.

Aspergillus flavus ghi nhận được trên bánh mì sandwich (33,33%), *A. terreus* là loài ưa nhiệt nên có thể tồn tại ở nhiệt độ mà các loại nấm khác không thể. Có thể góp phần làm thối rữa, nhất khi thực vật được bảo quản ở độ ẩm cao. *A. flavus* sinh trưởng và phát triển mạnh ở vùng khí hậu nóng ẩm [7]. *A. flavus* tạo ra aflatoxin – hợp chất gây ung thư gan, và độc tố này bền với nhiệt nên dù loại bỏ được nấm mốc *A. flavus* bằng nhiệt nhưng nguy cơ cao độc tố vẫn chưa được bất hoạt, việc ăn phải aflatoxin có thể dẫn đến viêm gan cấp tính, ức chế miễn dịch, ung thư biểu mô tế bào gan và giảm bạch cầu [8]

Tỉ lệ phân lập được nấm mốc trên đậu phộng tương đối cao (86.67%), cho thấy việc bảo quản đậu phộng tại các cửa hàng trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh còn chưa được đảm bảo, đây là một hồi chuông cảnh báo trong việc đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

Do bánh mì sandwich trong nghiên cứu vẫn còn trong hạn sử dụng, được sản xuất và bảo quản kín có phụ gia bảo quản, được thu mua tại những cơ sở đảm bảo vệ sinh thực phẩm nên tỉ lệ phân lập nấm mốc tương đối thấp (13.33%). Tuy nhiên sự hiện diện của tác nhân *A. flavus* (33,33%) là một con số đáng lo ngại, hãy cảnh giác với sát thủ thầm lặng này là tác nhân tiết ra độc tố aflatoxin có khả năng cao gây ung thư gan. Bảo quản và tiêu thụ đúng hạn sử dụng rất quan trọng để tránh bị nhiễm các loài nấm mốc gây hại cho sức khỏe con người. Một vấn đề đặt ra ở nghiên cứu này là mặc dù sandwich còn trong hạn sử dụng nhưng vẫn bị nhiễm nấm có liên quan đến việc hạn sử dụng được công bố có đúng như vậy hay không. Với 30 mẫu đậu phộng và 30 mẫu bánh mì sandwich trong nghiên cứu này là quy mô tương đối nhỏ. Kết quả chưa được phản ánh một cách chính xác nhất, đây là gợi ý cho một nghiên cứu ở quy mô lớn hơn để có cái nhìn toàn diện và kết quả xác thực hơn.

5. KẾT LUẬN

Sau quá trình nuôi cấy phân lập và định danh sơ bộ trên 30 mẫu đậu phộng và 30 mẫu bánh mì sandwich thu được kết quả sau:

- Tỉ lệ nuôi cấy phân lập được nấm mốc trên đậu phộng là 86,67%

- Tỉ lệ nuôi cấy phân lập được nấm mốc trên bánh mì sandwich là 13,33%

Sau khi phân lập và định danh các mẫu đậu phộng và sandwich ta ghi nhận được:

- Có 25/30 mẫu đậu phộng phân lập được nấm mốc, tỉ lệ cao nhất là loài *Rizopus* sp (51,72%), tiếp theo là *Aspergillus niger* (31,03%) và cuối cùng là *Aspergillus terreus* (17,24%). Không ghi nhận loài *Aspergillus flavus* – loài nấm mốc sinh độc tố nguy hiểm thường được ghi nhận trên đậu phộng.

- Có 5/30 mẫu sandwich phân lập được nấm mốc, tỉ lệ cao nhất là *Aspergillus niger* (50%), *Aspergillus flavus* (33,33%), cuối cùng là *Rizopus* sp (16,67%)



Có sự liên quan giữa quy cách đóng gói thực phẩm với tình trạng nhiễm nấm mốc nói chung. Cụ thể, có sự liên quan giữa đóng gói với nhiễm *Rhizopus* sp ($p < 0,001^*$) (kiểm định Chi bình phương) và *Aspergillus niger* ($p = 0,019^*$) (kiểm định Fisher). *Rhizopus* sp và *Aspergillus niger* là một trong những nấm mốc tồn tại phổ biến trong không khí.

Các loài nấm mốc trên đậu và bánh mì khá tương đồng nhưng chỉ mới ghi nhận sự hiện diện của *Aspergillus flavus* trên bánh mì sandwich mà chưa ghi nhận được trên đậu phộng. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thu Mai, Nguyễn Bảo Lộc, Lâm Thị Việt Hà (2009) [9] cho thấy *Aspergillus flavus* là một trong 4 loài nấm mốc hiện diện phổ biến trên đậu phộng. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này chúng tôi chưa ghi nhận được điều này có thể do cỡ mẫu tương đối nhỏ, lấy mẫu ngẫu nhiên, chưa nói lên được tính đại diện, đó cũng chính là hạn chế của nghiên cứu của chúng tôi.

Kết quả của nghiên cứu cho thấy tỉ lệ nấm mốc hiện trong thực phẩm hàng ngày khá cao, có khả năng ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe của cộng đồng, khó khăn trong điều trị nếu tích tụ lâu dài, gây nên tổn thất về sức khỏe cũng như kinh tế xã hội.

KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu của chúng tôi với mục tiêu bước đầu cung cấp một cái nhìn chung về tình trạng nấm mốc trên thực phẩm thiết yếu hằng ngày mà đại diện là đậu phộng và bánh mì sandwich. Kết quả như một gợi ý cho một số tác nhân phổ biến hiện diện trên chúng.

Quy mô của nghiên cứu tương đối nhỏ với 30 mẫu đậu phộng và 30 mẫu bánh mì sandwich, đây là một con số còn khiêm tốn, chưa mang tính đại diện. Kết quả chưa phản ánh một cách chính xác nhất, đây là một gợi ý và bước tiền đề cho nghiên cứu ở quy mô lớn hơn để có tỉ lệ xác thực hơn. Nghiên cứu của chúng tôi có thể gợi mở cho các nghiên cứu về các yếu tố liên quan trong quá trình trồng trọt, chế biến cũng như bảo quản chúng.

Ngoài ra, có thể mở rộng đối tượng nghiên cứu khác như các nhu yếu phẩm gần gũi trong đời sống hàng ngày (Gạo, cà phê, bơ đậu phộng...) để góp phần xây

dựng một cái nhìn tổng quát hơn về tác nhân nấm mốc trong thực phẩm xung quanh ta, nâng cao sự hiểu biết của cộng đồng trong việc lựa chọn và bảo quản cũng như sử dụng đúng cách.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Võ Thị Thanh Trang, “Bước đầu xây dựng quy trình phát hiện *Aspergillus flavus* sinh độc tố aflatoxin trên ngũ cốc bằng phương pháp phát quang”, Luận văn Thạc sĩ, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐH Quốc gia TP HCM, tr.109, 2009.
- [2] Ren Y, Jin J, Zheng M et al., “Ethanol Inhibits Aflatoxin B(1) Biosynthesis in *Aspergillus flavus* by Up-Regulating Oxidative Stress-Related Genes”, *Front Microbiol*, 10 pp. 77, 2019.
- [3] Nguyễn Phùng Tiến, Bùi Minh Đức, “Khóa phân loài *Aspergillus*”, *Vi sinh vật thực phẩm*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, 2007.
- [4] E.Moore-Landecker, “Fundamentals of the Fungi”, New Jersey, Prentice Hall, 1972.
- [5] Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G et al., “Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*”, *Applied and environmental microbiology*, 60 (7) 2650-2652, 1994.
- [6] University of Minnesota, Archived from the original, “*Aspergillus terreus*”, 13 October 2013. 23 September 2015.
- [7] Hedayati MT, Pasqualotto AC, Warn PA et al., “*Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer”, *Microbiology (Reading)*, 153 (Pt 6) 1677-1692, 2007.
- [8] Kumar V Crawford JM, “Liver and Biliary Tract”, *Pathologic Basis of Disease*, p. 924, 2005.
- [9] Nguyễn Thu Mai, Nguyễn Bảo Lộc, Lâm Thị Việt Hà, “Phân lập và định danh sơ bộ một số loài *Aspergillus* trên hạt đậu phộng ở chợ Xuân Khánh Tp Cần Thơ”, *Tạp chí Khoa học - Trường đại học Cần Thơ*, (11) tr.305-309, 2009.

THE RATE OF FUNGAL INFESTION IN PATIENTS WITH KERATITIS AND RELATED FACTORS

Vo Tuong Vy*, Nguyen Ho Phuong Lien, Nguyen Nhat Minh Thu

University of Medicine and Pharmacy at HCMC - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 17/01/2023; Accepted 20/02/2023

ABSTRACT

Background: Keratitis is an important disease of the cornea, the consequences that the disease causes are great, can cause complete loss of vision if not treated promptly. There are many causative agents of corneal ulcers, of which fungi are a common cause and tend to increase in recent years. It is necessary to learn more about the disease, pathogenic fungi and related factors affecting the disease status to have a comprehensive view, find ways to prevent and control this disease.

Objectives: Determining the rate of fungi causing keratitis, the rate of isolates of fungal strains on corneal samples and factors related to the rate of fungal infections in patients with keratitis coming to the eye examination at the Department of Examination Ho Chi Minh City Eye Hospital

Method: Descriptive cross-sectional study with analysis performed from June 2022 to July 2022, over 148 patients who came to the Eye Examination at the Department of Eye Hospital of Ho Chi Minh City were selected for the study. Collect research information through research questionnaires and corneal samples.

Result: Among 148 research participants, the prevalence of fungal infection in patients with keratitis was 33.1%. The percentage of filamentous fungi isolated from the patient's corneal samples accounted for 93.75%, the rate of yeast accounted for 6.25%. *Aspergillus* sp is the main fungus causing keratitis, accounting for 53.12%, followed by *Fusarium* sp with 18.75%. *Aspergillus flavus* accounted for the highest percentage (25%), *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus* accounted for a lower proportion, 18.75% and 9.37% respectively. *Cephalosporium* sp, *Paecilomyces* sp, *Penicillium* sp all accounted for 6.25%. *Candida albicans* accounted for 6.25% and *Curvularia* sp had 1 case, accounting for 3.13%. Finding a relationship between the rate of fungal infection in patients with keratitis with factors: gender, occupation, working environment, place of residence, cause of eye pain.

Conclusion: The rate of fungal infection in patients with keratitis was 33.1%. Fungal strains that cause keratitis are diverse, including filamentous fungi and yeasts. However, filamentous fungi still account for the majority of fungal strains isolated from corneal samples. Factors: gender, occupation. Work environment, home and cause of eye pain are factors related to the prevalence of fungal infections in patients with keratitis.

Key words: Fungal keratitis, keratitis.

*Corresponding author

Email address: tuongvy051120@gmail.com

Phone number: (+84) 933 744 391



TỶ LỆ NHIỄM NẤM Ở BỆNH NHÂN BỊ VIÊM GIÁC MẠC VÀ CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN

Võ Tường Vy*, Nguyễn Hồ Phương Liên, Nguyễn Nhật Minh Thu

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 17 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 20 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Viêm giác mạc là một bệnh lý về giác mạc quan trọng, hậu quả mà bệnh gây ra rất lớn, có thể làm mất thị lực hoàn toàn nếu không được chữa trị kịp thời. Có nhiều tác nhân gây viêm loét giác mạc, trong đó vi nấm là một tác nhân phổ biến và đang có xu hướng tăng dần trong những năm gần đây. Cần tìm hiểu rõ hơn về bệnh, tác nhân vi nấm gây bệnh và các yếu tố liên quan ảnh hưởng đến tình trạng bệnh để có cái nhìn bao quát, tìm được cách dự phòng và kiểm soát căn bệnh này.

Mục tiêu nghiên cứu Xác định tỷ lệ vi nấm gây viêm giác mạc, tỷ lệ các chủng vi nấm phân lập được trên mẫu giác mạc và các yếu tố liên quan đến tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả có phân tích thực hiện từ tháng 06/2022 đến tháng 7/2022 trên 148 bệnh nhân đến Khám mắt tại Khoa khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh được chọn vào nghiên cứu. Thu thập thông tin nghiên cứu thông qua bộ câu hỏi nghiên cứu và mẫu giác mạc.

Kết quả: Trong số 148 đối tượng nghiên cứu, tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc là 33,1%. Tỷ lệ nấm sợi phân lập được từ mẫu giác mạc của bệnh nhân chiếm 93,75%, tỷ lệ nấm men chiếm 6,25%. *Aspergillus* sp là chủng nấm chính gây viêm giác mạc, chiếm đến 53,12%, theo sau đó là *Fusarium* sp với 18,75%. *Aspergillus flavus* chiếm tỷ lệ cao nhất (25%), *Aspergillus niger* và *Aspergillus fumigatus* chiếm tỷ lệ thấp hơn, lần lượt là 18,75% và 9,37%. *Cephalosporium* sp, *Paecilomyces* sp, *Penicillium* sp đều chiếm tỷ lệ 6,25%. *Candida albicans* chiếm 6,25% và *Curvularia* sp có 1 trường hợp chiếm 3,13%. Tìm thấy mối liên quan giữa tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc với các yếu tố: giới tính, nghề nghiệp, môi trường làm việc, nơi ở, nguyên nhân đau mắt.

Kết luận: Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc là 33,1%. Các chủng nấm là tác nhân gây bệnh viêm giác mạc rất đa dạng, bao gồm cả nấm sợi và nấm men. Tuy nhiên nấm sợi vẫn chiếm phần lớn trong số các chủng nấm phân lập được từ mẫu giác mạc. Các yếu tố: giới tính, nghề nghiệp, môi trường làm việc, nơi ở và nguyên nhân đau mắt là các yếu tố liên quan đến tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc.

Từ khóa: Bệnh viêm giác mạc do vi nấm, viêm giác mạc.

*Tác giả liên hệ

Email: tuongvy051120@gmail.com

Điện thoại: (+84) 933 744 391

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mắt là một trong những cơ quan thiết yếu, giúp con người nhận biết xung quanh và lao động, phát triển, mắt thị lực sẽ ảnh hưởng rất nhiều đến chất lượng cuộc sống hằng ngày. Trong khi đó, các bệnh lý về giác mạc là nguyên nhân hàng đầu gây mù một mắt trên toàn thế giới, đặc biệt là dân cư ở vùng có điều kiện sống còn khó khăn (1). Viêm giác mạc là một bệnh lý về giác mạc quan trọng. Ngày nay bệnh viêm giác mạc trở nên rất phổ biến, có thể xem là một sự lo ngại ở quy mô toàn cầu. Số ca mắc phải có xu hướng tăng dần theo thời gian. Kết quả từ một nghiên cứu tại Vương quốc Anh cho thấy năm 1995, trung bình 100.000 dân số sẽ có 3,6 người bị viêm giác mạc, nhưng đến năm 2006, con số này đã tăng lên đến 40,3 trên 100.000 dân (2). Tuy có thể trị khỏi nhưng thị lực người bệnh sẽ giảm sút, giác mạc đôi khi mờ đục, nguy cơ tái nhiễm cao, hậu quả nghiêm trọng hơn có thể dẫn đến mù lòa nếu không phát hiện và điều trị kịp thời. Có nhiều nguyên nhân gây viêm giác mạc, trong đó vi nấm là nguyên nhân rất được lưu ý trong thời gian gần đây vì sự phổ biến và đang tăng dần của nó. Kết quả nghiên cứu ở bệnh viện Songklanagarind tại Thái Lan cho thấy giai đoạn từ 1982 đến 2003, tỷ lệ bệnh viêm giác mạc do nhiễm nấm chỉ chiếm khoảng 13,6% (3), nhưng trong một nghiên cứu khác cũng ở Thái Lan, giai đoạn từ 2003 đến 2006, tỷ lệ bệnh viêm giác mạc do nấm chiếm đến 46,3% (4). Có rất nhiều nguyên nhân gây viêm giác mạc được biết đến: vi khuẩn, nấm, virus, kí sinh trùng... Tuy nhiên, gần đây vi nấm đang là nguyên nhân gây viêm giác mạc đáng được chú ý vì sự phổ biến và có xu hướng gia tăng của nó. Kết quả nghiên cứu ở bệnh viện Songklanagarind tại Thái Lan cho thấy giai đoạn từ 1982 đến 2003, tỷ lệ bệnh viêm giác mạc do nhiễm nấm chỉ chiếm khoảng 13,6% (3), nhưng trong một nghiên cứu khác cũng ở Thái Lan, giai đoạn từ 2003 đến 2006, tỷ lệ bệnh viêm giác mạc do nấm chiếm đến 46,3% (4). Việt Nam là một nước đang phát triển, nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, độ ẩm quanh năm tương đối cao, thuận lợi để các vi sinh vật như nấm sinh sống và phát triển. Đa số dân là người lao động, với mức thu nhập trung bình còn thấp, chất lượng cuộc sống chưa đảm bảo, thói quen vệ sinh và bảo vệ sức khỏe ở các vùng nông thôn còn kém, thiếu trang bị bảo hộ trong lao động... là các điều kiện thuận lợi để tình hình viêm giác mạc, đặc biệt là viêm giác mạc do vi nấm ngày một gia tăng. Theo nghiên cứu của Lê Anh Tâm về tình hình viêm loét giác mạc ở bệnh viện Mắt Trung ương

tại Việt Nam, trong giai đoạn 10 năm từ 1998 - 2007 thì nguyên nhân vi nấm chiếm tỷ lệ cao nhất (50,8%) và có xu hướng tăng dần qua các năm (5). Các nghiên cứu về tình trạng viêm giác mạc ở nước ta cũng được báo cáo, nhưng phần lớn tiến hành ở các bệnh viện miền Bắc, với điều kiện sống và thói quen sinh hoạt khác miền Nam. Để có cái nhìn tổng quan hơn về tình trạng bệnh viêm giác mạc do vi nấm ở nước ta, các mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ đến tình trạng bệnh, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc và các yếu tố liên quan”, tại Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh – một bệnh viện chuyên khoa hạng I về Nhân khoa tại miền Nam.

2. MỤC TIÊU, ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu tổng quát

Xác định tỷ lệ nhiễm nấm và các yếu tố liên quan ở bệnh nhân bị viêm giác mạc đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh tháng 6/2022.

Mục tiêu cụ thể

1. Xác định tỷ lệ vi nấm gây viêm giác mạc trên bệnh nhân đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh.
2. Xác định tỷ lệ các chủng vi nấm phân lập được trên mẫu giác mạc của bệnh nhân đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh.
3. Xác định các yếu tố liên quan đến tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Dân số mục tiêu: Tất cả những người đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh năm 2022.

Dân số chọn mẫu: Những người đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh trong khoảng thời gian thu thập mẫu nghiên cứu.

Tiêu chuẩn chọn vào

Người đến khám mắt tại Khoa khám bệnh của bệnh



viện khi có một tình trạng đau mắt, nghi ngờ viêm giác mạc, sau khi khám và được bác sĩ chỉ định lấy mẫu giác mạc để kiểm tra và đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

Khi đối tượng có 1 trong số những yếu tố sau:

- + Đối tượng đến tái khám sau lần khám mắt trước đó tại bệnh viện.
- + Không lấy được mẫu
- + Mẫu không đạt chuẩn (thiếu thông tin, mắt mẫu, mẫu bị hư hỏng, mẫu bị ngoại nhiễm..)

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang mô tả có phân tích.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian thu thập số liệu nghiên cứu: 6/2022 – 7/2022.
Toàn bộ quỹ thời gian nghiên cứu: 3/2022 – 7/2022

Địa điểm: Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh. Bộ môn Xét nghiệm Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Cỡ mẫu

Bệnh viêm loét giác mạc là một bệnh chuyên khoa. Mẫu giác mạc là một mẫu hiếm và khó thu thập. Nên chúng tôi không áp dụng công thức tính cỡ mẫu mà tiến hành lấy mẫu toàn bộ, bao nhiêu bệnh nhân đạt tiêu chuẩn chọn vào đều lấy mẫu. Thực tế trong quá trình thu thập mẫu tại bệnh viện, chúng tôi lấy được 148 mẫu.

Phương pháp tiến hành

Gặp đối tượng nghiên cứu tại khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh. Xem xét đối

tượng nghiên cứu có phù hợp với tiêu chí chọn vào không rồi giải thích rõ về nghiên cứu và các quy trình khi tham gia nghiên cứu, giải đáp các thắc mắc của đối tượng nghiên cứu về các nội dung trong nghiên cứu. Sau khi được sự đồng ý tham gia nghiên cứu của đối tượng, phỏng vấn trực tiếp đối tượng nghiên cứu bằng bộ câu hỏi nghiên cứu đã soạn sẵn. Các câu trả lời sẽ được đánh dấu và ghi lại trong phiếu thu thập thông tin.

Mẫu giác mạc: được bác sĩ chuyên khoa lấy, cho vào tấm lame có nhỏ sẵn nước muối sinh lý, rồi chuyển đến Khoa Xét nghiệm. Tại Khoa Xét nghiệm, mẫu giác mạc được soi tươi với nước muối sinh lý và ghi nhận kết quả cận lâm sàng. Thu thập lame mẫu giác mạc đã soi tươi của các đối tượng nghiên cứu, cho vào hộp petri vô trùng, bảo quản ở điều kiện bình thường và vận chuyển về bộ môn

Mẫu bệnh phẩm được vận chuyển từ Khoa Xét nghiệm của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh về Bộ môn Xét nghiệm Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh sẽ được soi tươi. Tùy thuộc vào kết quả soi tươi là dương tính hay âm tính với nấm mà tiến hành cấy phân lập mẫu bệnh phẩm trên môi trường Saboudraud. Sau khi vi nấm đã mọc thì làm các kỹ thuật định danh vi nấm rồi ghi nhận lại kết quả.

Thống kê và xử lý số liệu

Sử dụng Epidata v4.6.0.6 để thống kê số liệu.

Sử dụng Stata 16 để xử lý và phân tích số liệu, xác định mức ý nghĩa của các mối liên quan giữa các yếu tố nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc

Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc

Viêm giác mạc do vi nấm (n=148)	Tần số	Tỷ lệ %
Có	49	33,1
Không	99	66,9

Trong tổng số 148 trường hợp chúng tôi thu thập được ở Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh trong tháng 6/2022, tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc là 33,1%. So với nghiên cứu

của Lê Anh Tâm năm 2008 về tình hình bệnh viêm loét giác mạc trong 10 năm 1998-2007, tác nhân vi nấm chiếm tỷ lệ dao động từ 44,2% đến 58,58% (5), Nguyễn Quốc Linh tại bệnh viện Mắt Trung ương từ 1/1/2014-

31/12/2014 trên 440 trường hợp viêm loét giác mạc đưa ra tỷ lệ viêm giác mạc do nấm là 47,7% (6), nghiên cứu của Phạm Thị Phương Anh trong khoảng thời gian từ 1/1/2016 đến 31/12/2016 tại bệnh viện Thanh Hóa, kết quả tỷ lệ nhiễm nấm từ 6-20% (7) có sự chênh lệch. Nhìn chung tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác

mạc tại nước ta qua các thời kỳ có sự biến động, song tác nhân vi nấm vẫn đóng một vai trò quan trọng trong cơ cấu tác nhân gây viêm giác mạc tại Việt Nam.

Tỷ lệ các chủng vi nấm phân lập được trên mẫu giác mạc

Bảng 2: Các chủng vi nấm phân lập được từ mẫu giác mạc

Chủng nấm (n=32)	Tần suất	Tỷ lệ %
Aspergillus flavus	8	25,0
Aspergillus niger	6	18,75
Aspergillus fumigatus	3	9,37
Cephalosporium sp	2	6,25
Penicillium sp	2	6,25
Paecilomyces sp	2	6,25
Fusarium sp	6	18,75
Curvularia sp	1	3,13
Candida albicans	2	6,25
Tổng	32	100,00

Kết quả phân lập được từ những trường hợp soi tươi dương tính cho thấy các chủng nấm gây bệnh viêm giác mạc ở nước ta khá đa dạng. Aspergillus sp là loài chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các chủng nấm sợi với 53,12%, trong đó Aspergillus flavus chiếm đa số (25%). Theo sau đó là Fusarium sp với 18,75%. Các chủng vi nấm khác như Paecilomyces sp, Penicillium sp, Curvularia sp, và nấm men Candida albicans cũng là các tác nhân gây viêm loét giác mạc ở Việt Nam. Tương tự nghiên cứu của Punia và cộng sự ở Ấn Độ năm 2014, tỷ lệ Aspergillus flavus là 59,09%, Fusarium sp là 15,91% (8). Nghiên cứu của Lê Anh Tâm năm 2008, Fusarium

sp là chủng nấm chính gây viêm loét giác mạc (42,86%), theo sau đó là Aspergillus sp (19,68%) (5). Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Quốc Linh năm 2014, Fusarium sp chiếm tỷ lệ cao nhất (34,2%), Aspergillus sp chiếm 15,6% (6). Mặc dù vi nấm chính gây viêm loét giác mạc ở nước ta có sự thay đổi qua các thời kỳ, nhìn chung, nấm sợi vẫn là nguyên nhân gây viêm giác mạc chủ yếu, thường gặp nhất là Aspergillus sp và Fusarium sp. Các loài nấm sợi khác và nấm men cũng gây bệnh nhưng với tỷ lệ nhỏ hơn.

Các yếu tố liên quan



Bảng 3: Mối liên quan giữa tình trạng viêm giác mạc do nấm và các đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm (n=148)	Viêm giác mạc do vi nấm		P	PR (Khoảng tin cậy 95%)
	Có Tần số (%)	Không Tần số (%)		
Giới tính				
Nữ	11 (19,0)	47 (81,0)	0,003	0,4 (0,3-0,8)
Nam	38 (42,2)	52 (57,8)		
Nhóm tuổi				
<=60	41 (35,7)	74 (65,3)	0,22	0,7 (0,4-1,3)
>60	8 (24,2)	25 (75,8)		
Nơi ở				
Thành thị	12 (21,4)	44 (78,6)	0,02	0,5 (0,3-0,9)
Nông thôn	37 (40,2)	55 (59,8)		
Tiền sử bệnh về mắt				
Đã từng bị	5 (26,3)	14 (73,7)	0,5	0,7 (0,4-1,7)
Chưa từng	44 (34,1)	85 (65,9)		
Phẫu thuật mắt				
Rồi	2 (20,0)	8 (80,0)	0,36	0,6 (0,2-2,1)
Chưa	47 (36,1)	91 (65,9)		
Bệnh mãn tính đã hoặc đang điều trị				
Rồi	5 (62,5)	3 (37,5)	0,07	2,0 (1,1-3,6)
Chưa	44 (31,4)	96 (68,6)		

Kết quả nghiên cứu cho thấy có mối liên quan giữa tình trạng viêm giác mạc do vi nấm với 2 đặc điểm: Giới tính và nơi ở. Theo đó, nữ giới sẽ có khả năng mắc viêm giác mạc do vi nấm thấp hơn nam giới đến 0,4 lần. Điều này cũng phù hợp với tính chất công việc và tâm lý của hai giới. Nam giới thường lao động nặng và làm việc ngoài trời, tâm lý nhanh, gọn, đơn giản hóa mọi thứ nên ít khi đeo mắt kính bảo hộ, dễ gặp phải các tác nhân gây tổn thương mắt. Bên cạnh đó khi bị một tác nhân tác động vào mắt, nam giới thường có thói quen phớt lờ, bỏ qua nếu như nó không gây cảm giác

quá đau nhức, khó chịu. Điều này làm tăng cơ hội xâm nhập của vi nấm vào giác mạc và gây viêm loét. Do vậy mà nguy cơ mắc bệnh viêm giác mạc do nấm ở nam giới thường cao hơn. Các đối tượng nghiên cứu ở thành thị có khả năng mắc bệnh viêm giác mạc do vi nấm thấp hơn các đối tượng nghiên cứu ở nông thôn đến 0,5 lần. Việt Nam là một nước thuộc khu vực Đông Nam Á, đa số người dân sống ở khu vực nông thôn. Với chất lượng cuộc sống chưa đảm bảo, ý thức giữ vệ sinh môi trường và chăm sóc sức khỏe còn kém. Khu vực này rất đáng lo ngại khi các bệnh tật diễn ra. Số liệu được trong

nghiên cứu này cho thấy có 62,2 % đối tượng đến khám mắt sống ở nông thôn. Điều này cũng chứng tỏ mối lo về tình trạng bệnh tật ở nông thôn là có cơ sở. Trong 49 trường hợp viêm giác mạc do nấm, có 37 trường hợp đối tượng đến từ nông thôn. Kết quả này tương tự với các nghiên cứu trước, cả trong và ngoài nước, chứng tỏ nơi ở cũng ảnh hưởng nhất định đến tình trạng viêm

giác mạc do nấm.

Chưa tìm thấy mối liên quan giữa tình trạng viêm giác mạc do vi nấm với các đặc điểm: nhóm tuổi, bệnh lý về mắt trước đó, phẫu thuật mắt và tình trạng bệnh nền (bệnh mãn tính đã hoặc đang điều trị) của đối tượng nghiên cứu.

Bảng 4: Mối liên hệ giữa tình trạng viêm giác mạc do vi nấm và các yếu tố liên quan

Các yếu tố (n=148)	Viêm giác mạc do vi nấm		P	PR (Khoảng tin cậy 95%)
	Có Tần số (%)	Không Tần số (%)		
Nguyên nhân mắt khó chịu và đi khám				
Một chấn thương (lá cây, bụi, đất,..)	45 (48,4)	48 (51,6)		1
Tự cảm thấy khó chịu	2 (2,0)	49 (98,0)	0,001	0,04 (0,005-0,3)
Khác	2 (40,0)	3 (60,0)	0,573	1,2 (0,6-2,6)
Nghề nghiệp				
Làm nông	35 (47,9)	38 (52,1)		1
Công nhân	10 (25,6)	29 (74,4)	0,037	0,5 (0,3-1,0)
Nội trợ, nhân viên văn phòng	4 (20,0)	16 (80,0)	0,060	0,4 (0,2-1,03)
Môi trường làm việc				
Ngoài đường... là chủ yếu	39 (41,5)	55 (58,5)	0,004	2,2 (1,2-4,1)
Trong nhà, văn phòng là chủ yếu	10 (18,5)	44 (81,5)		
Khí hậu				
Nóng, khô, ít mưa	4 (25,0)	12 (75,0)		1
Nóng, ẩm, nhiều mưa	42 (35,9)	75 (64,1)	0,423	1,4 (0,6-3,5)
Mát mẻ	2 (20,0)	8 (80,0)	0,772	0,8 (0,2-3,6)
Lạnh, khô	1 (20,0)	4 (80,0)	0,823	0,8 (0,1-5,6)
Thói quen đeo lens				
Có	3 (30,0)	7 (70,0)	0,82	0,9 (0,3-2,4)
Không	46 (33,3)	92 (66,7)		
Tần suất đeo lens				
<=3 lần/tuần	2 (25,0)	6(75,0)	0,49	2 (0,3-12,5)
>3 lần/tuần	1 (50,0)	1 (50,0)		



Kết quả nghiên cứu cho thấy tình trạng viêm giác mạc do nấm có liên quan với các yếu tố: nguyên nhân khiến mắt bị đau và đi khám, nghề nghiệp, môi trường làm việc. Các mối liên quan này có ý nghĩa thống kê. Những trường hợp tự cảm thấy khó chịu và đến khám mắt có khả năng bị viêm loét giác mạc do nấm thấp hơn 0,04 lần so với các trường hợp bị chấn thương mắt (bởi nhánh cây, lá cây, cát, bụi, đất...). Điều này cũng hợp lý vì khi bị một chấn thương, giác mạc sẽ tổn thương, tạo điều kiện để các tác nhân gây bệnh tấn công. Người làm công nhân khả năng bị viêm giác do vi nấm thấp hơn người lao động nông nghiệp 0,5 lần. Vì phần lớn người dân nước ta là nông dân, quá trình lao động dễ tiếp xúc với thực vật, bụi, đất,... nên khả năng gặp chấn thương cao, tăng nguy cơ bị viêm giác mạc do nấm. Người làm việc ngoài trời có khả năng viêm giác mạc do nấm cao gấp 2,2 lần người làm việc trong nhà, văn phòng. Vì lao động ở ngoài trời, ngoài đường thường có tỷ lệ chấn thương cao hơn làm việc trong nhà, văn phòng. Đa số người dân nước ta lao động trong lĩnh vực nông nghiệp, tiếp xúc lâu và nhiều với các yếu tố như thực vật, bụi, đất, cát. Nếu không trang bị bảo hộ đầy đủ, các yếu tố đó có khả năng xâm nhập và gây chấn thương cao.

Chưa xác định được mối liên quan giữa bệnh viêm giác mạc do nấm với các yếu tố: Khí hậu, thói quen đeo lens và tần suất đeo lens.

4. KẾT LUẬN

Sau khi phân tích 148 trường hợp đối tượng đến khám mắt tại Khoa Khám bệnh của Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh tháng 6/2022, chúng tôi rút ra những kết luận sau:

Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân bị viêm giác mạc là 33,1%.

Các chủng nấm là tác nhân gây bệnh viêm giác mạc rất đa dạng, bao gồm cả nấm sợi và nấm men. Tỷ lệ nấm sợi phân lập được từ mẫu giác mạc của bệnh nhân chiếm 93,75%, tỷ lệ nấm men chiếm 6,25%. *Aspergillus* sp là chủng nấm chính gây bệnh viêm giác mạc, chiếm đến 53,12%, theo sau đó là *Fusarium* sp với 18,75%. *Aspergillus flavus* chiếm tỷ lệ cao nhất (25%), *Aspergillus niger* và *Aspergillus fumigatus* chiếm tỷ lệ thấp hơn, lần lượt là 18,75% và 9,37%. *Cephalosporium* sp, *Paecilomyces* sp, *Penicillium* sp đều chiếm tỷ lệ

6,25%. *Candida albicans* chiếm 6,25% và *Curvularia* sp có 1 trường hợp chiếm 3,13%.

Giới tính, địa lý (nơi ở), nguyên nhân đau mắt, nghề nghiệp và môi trường làm việc là các yếu tố liên quan, tác động và làm ảnh hưởng đến tình trạng viêm giác mạc do nấm.

KIẾN NGHỊ

Tình trạng viêm giác mạc do vi nấm phụ thuộc liên quan đến nhiều yếu tố, trong đó có những yếu tố cơ bản, gắn bó mật thiết với đặc điểm nước ta. Các vi nấm cũng ngày càng đa dạng, gây không ít khó khăn cho công tác y tế. Căn bệnh viêm giác mạc do vi nấm gặp chủ yếu ở đối tượng người dân sống ở nông thôn nên việc tuyên truyền nâng cao ý thức bảo vệ sức khỏe bản thân, trang bị bảo hộ an toàn lao động là hết sức cần thiết. Kiểm soát được các yếu tố liên quan sẽ cải thiện được tình trạng gia tăng nguy cơ viêm loét giác mạc do vi nấm, góp phần giảm thiểu gánh nặng y tế, nâng cao chất lượng cuộc sống người dân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] John PW, Madan S, Madan PU, Corneal blindness: a global perspective. Bulletin of the world health organization. 2001;79(3):214-21.
- [2] L. U, P. J. M B, S. S. S, M. S G, J. C. The persistent dilemma of microbial keratitis: Global burden, diagnosis, and antimicrobial resistance. Survey of ophthalmology. 2019;64(3):255-71.
- [3] C H, N M. Fungal keratitis in Songklanagarind Hospital. Songklanagarind Medical Journal. 2005;23(6):429-34.
- [4] Napaporn T, Oranit P, Somsangaun A et al., Etiology and clinical outcomes of microbial keratitis at a tertiary eye-care center in northern Thailand. J Med Assoc Thai. 2012;95(Suppl 4):8-17.
- [5] Tâm LA, Tình hình viêm loét giác mạc tại bệnh viện mắt Trung ương trong 10 năm 1998 - 2007 [Luận văn Thạc sĩ Y học]: Đại học Y Hà Nội; 2008.

- [6] Linh NQ, Nhận xét tình hình viêm loét giác mạc nhiễm trùng tại bệnh viện Mắt Trung ương năm 2014 [Luận văn tốt nghiệp bác sĩ Y khoa]: Đại học Y Hà Nội; 2015.
- [7] Anh PTP, Khảo sát tình hình sử dụng thuốc điều trị bệnh viêm loét giác mạc tại bệnh viện Mắt Thanh Hóa [Luận văn Dược sĩ chuyên khoa cấp 1]: Đại học Y Dược Hà Nội; 2017.
- [8] R. S. P, R. K, J. C, S. K. A, U. H, H. M. Spectrum of fungal keratitis: clinicopathologic study of 44 cases. International journal of ophthalmology. 2014;7(1):114-7.



SURVEYING FUNGAL AGENT CAUSE INFLAMMATION EXTERNAL IN PATIENTS WHO COME FOR MEDICAL EXAMINATION AND RELATED FACTORS

Doan Kha Tu, Nguyen Ho Phuong Lien*, Trinh Tuyet Hue

University of Medicine and Pharmacy at HCMC - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 13/01/2023; Accepted 20/02/2023

ABSTRACT

Background: Otomycosis in VietNam is common and causes unpleasant symptoms for patients. It is necessary to update epidemiology, symptoms, etc. to accurately diagnose the disease.

Objectives: Determination of fungal infection rate in patients who come for medical examination, identification of pathogenic fungal strains, survey of factors related to ear disease.

Methods: A cross-sectional description with analysis from May to July 2022 at the Department of Ear, Nose and Throat, Hoc Mon Regional General Hospital. Specimens were examined fresh, cultured and identified.

Results: 67/186 cases (36,02%) were infected by fungi. The group of patients with earwax habit at their house is the most common (68,66%), Pruritus was the most common symptom (46,27%).

Conclusions: This result shows that the rate of fungal infection in patients who come for medical examination is 36,02% with *Aspergillus niger* 22,39%, *Aspergillus flavus* 26,87%, *Aspergillus terreus* 26,87%, *Paecilomyces* sp 4,48%. *Candida glabrata* 10,45%, *Candida tropicalis* 7,46%, *Candida krusei* 1,49%. Related factor is earwax habit at house and symptom pruritus is the most common.

Keywords: Oto-pharyngo department, moul, yeast, otomycosis, epithelial debris.

*Corresponding author

Email address: phuonglien20051977@gmail.com

Phone number: (+84) 903 144 575

KHẢO SÁT VI NẤM GÂY VIÊM ỚNG TAI NGOÀI TRÊN BỆNH NHÂN ĐẾN KHÁM TAI VÀ CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN

Đoàn Khả Tú, Nguyễn Hồ Phương Liên*, Trịnh Tuyết Huệ

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 13 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 20 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh viêm ống tai ngoài do vi nấm ở Việt Nam là phổ biến và gây ra những triệu chứng khó chịu cho người bệnh. Cần cập nhật dịch tễ, triệu chứng,... để chẩn đoán chính xác bệnh.

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ nhiễm nấm ống tai ngoài ở bệnh nhân đến khám tai, định danh các chủng nấm gây bệnh và khảo sát các yếu tố liên quan đến bệnh viêm ống tai ngoài.

Phương pháp: Mô tả cắt ngang có phân tích từ tháng 05 đến tháng 07 năm 2022 tại khoa Tai – Mũi – Họng bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn. Các bệnh phẩm được soi tươi, nuôi cấy và định danh.

Kết quả: Có 67/186 (36,02%) bệnh nhân viêm ống tai ngoài do vi nấm. Nhóm bệnh nhân có thói quen lấy ráy tai tại nhà là thường gặp nhất (68,66%), triệu chứng ngứa là phổ biến nhất (46,27%). Kết quả định danh vi nấm cho thấy *Aspergillus niger*: 22,39%, *Aspergillus flavus* 26,87%, *Aspergillus terreus* 26,87%, *Paecilomyces* sp 4,48%. *Candida glabrata* 10,45%, *Candida tropicalis* 7,46%, *Candida krusei* 1,49%.

Kết luận: Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân đến khám tai là 36,02%. Các chủng nấm gây bệnh *Aspergillus niger*: 22,39%, *Aspergillus flavus* 26,87%, *Aspergillus terreus* 26,87%, *Paecilomyces* sp 4,48%. *Candida glabrata* 10,45%, *Candida tropicalis* 7,46%, *Candida krusei* 1,49%. Các yếu tố liên quan: thói quen lấy ráy tai tại nhà, triệu chứng ngứa là phổ biến.

Từ khóa: Tai mũi họng, nấm sợi, nấm men, viêm ống tai ngoài do vi nấm, ráy tai.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước có khí hậu nhiệt đới, cận nhiệt đới gió mùa, ánh nắng chan hoà và độ ẩm cao. Những yếu tố đó là điều kiện lý tưởng cho vi nấm sinh sống. Bên cạnh đó, ý thức của người dân về làm sạch môi trường sống chưa tốt, sử dụng kháng sinh bừa bãi cũng như những thói quen xấu trong sinh hoạt sẽ là những điều

kiện thuận lợi để vi nấm phát triển và gây bệnh cho người. Một trong những bệnh do vi nấm gây ra ở người là bệnh viêm ống tai ngoài. Có khoảng 53 loại vi nấm đã được tìm thấy trong ống tai bệnh nhân, những loại thường gặp là *Aspergillus* sp, *Candida* sp, *Penicillium* sp, *Mucor* sp, *Rhizopus* sp,...(1).

Vi nấm gây bệnh ở ống tai ngoài mặc dù hiếm khi gây nguy hiểm đến tính mạng nhưng nó đem đến cho người

*Tác giả liên hệ

Email address: phuonglien20051977@gmail.com

Điện thoại: (+84) 903 144 575



bệnh những khó chịu với các triệu chứng: ngứa, đau tai, chảy dịch tai, suy giảm thính lực, ù tai,...(2),(3). Trên thực tế, bệnh nhân thường đến khám khi các triệu chứng đã ảnh hưởng nhiều đến công việc, sinh hoạt khiến cho người bệnh cảm thấy khó chịu, mệt mỏi và lo lắng về tình trạng đau tai của mình.

2. MỤC TIÊU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu tổng quát

Khảo sát tỷ lệ nhiễm nấm, chủng nấm gây bệnh viêm ống tai ngoài ở bệnh nhân đến khám tai tại bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn và các yếu tố liên quan.

Mục tiêu cụ thể

1. Xác định tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân đến khám tai tại khoa Tai – Mũi - Họng bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.
2. Xác định tỷ lệ của các chủng nấm gây bệnh viêm ống tai ngoài ở bệnh nhân đến khám tại tai tại khoa Tai – Mũi - Họng bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.
3. Khảo sát các yếu tố liên quan đến bệnh viêm ống tai ngoài ở bệnh nhân đến khám tại tai tại khoa Tai – Mũi - Họng bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Tất cả người đến khám tai tại khoa Tai – Mũi – Họng bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn trong thời gian thu thập mẫu nghiên cứu.

Tiêu chí chọn vào

Bệnh nhân được đưa vào nhóm nghiên cứu khi thỏa mãn các điều kiện sau:

Đủ từ 12 tuổi.

Có các triệu chứng về tai.

Có ráy tai.

Đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

Tiêu chí loại ra

Bệnh nhân đang trong quá trình điều trị nấm, quá trình bảo quản và vận chuyển mẫu bệnh phẩm không đạt.

Địa điểm nghiên cứu

Khoa Tai – Mũi – Họng Bệnh viện Đa Khoa Khu vực

Hóc Môn và Bộ môn Xét Nghiệm – Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Phương pháp mô tả cắt ngang có phân tích.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Từ 03/2022 đến 07/2022 tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.

Phương pháp tiến hành

Sau khi khám lâm sàng và thỏa mãn các tiêu chí chọn vào, bệnh nhân được sự giải thích rõ về nghiên cứu, đồng ý tham gia và điền vào giấy đồng thuận. Tiến hành lấy bệnh phẩm và cho bệnh nhân điền vào bộ câu hỏi. Bệnh phẩm được vận chuyển về Bộ môn Xét Nghiệm – Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh để làm các xét nghiệm:

- Soi tươi:

+ Bệnh phẩm là ráy ướt: hòa bệnh phẩm với 1 giọt dung dịch NaCl 0,85%.

+ Bệnh phẩm là ráy khô: đặt bệnh phẩm lên miếng kính, nhỏ KOH 10% để yên trong 20 phút.

+ Xem dưới kính hiển vi vật kính x40 và ghi nhận kết quả.

Âm tính: không thấy sợi tơ nấm, bào tử hoặc tế bào nấm men hoặc sợi tơ nấm giả.

- Dương tính:

+ Nấm men: thấy nhiều tế bào nấm men tròn, bầu dục, nảy chồi, búp, sợi tơ nấm giả.

+ Nấm sợi: Sợi tơ nấm không màu, phân nhánh phân vách, đôi khi thấy được cả cấu trúc bào đài, bào tử của nấm.

- Cây nấm:

+ Sử dụng môi trường Sabouraud Chloramphenicol.

+ Ráy ướt: dùng tăm bông cấy trải trên đĩa thạch.

+ Ráy khô: hơ kẹp gấp trên ngọn đèn cồn, để nguội sau đó gấp lấy bệnh phẩm cho vào đĩa thạch.

+ Ủ ở 2 nhiệt độ là 25°C và 37°C. Đọc kết quả khúm nấm: Âm tính: không có khúm nấm trên cả 2 nhiệt độ hoặc khúm nấm chỉ phát triển ở nhiệt độ 25°C. Dương tính: nấm gây bệnh thực sự sẽ phát triển mạnh ở 37°C hơn so với ở 25°C và cả 2 nhiệt độ đều quan sát cho ra cùng 1 loại vi nấm.

- Định danh khúm nấm:
- + Lấy khúm nấm mọc ở nhiệt độ 37°C để cấy.
- + Nấm men: Cấy lên môi trường CHROMAgar Candida, vi nấm sẽ mọc với những màu sắc đặc trưng.
- + Nấm sợi: Dùng kỹ thuật cấy nấm trên kính để định danh, quan sát dưới kính hiển vi (x40) các đặc tính hình thái cấu trúc nấm bằng thuốc nhuộm Lactophenol cotton blue (LPCB).

Cuối cùng thu thập kết quả để xử lý và phân tích số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel và Stata 16.0

3. KẾT QUẢ

3.1. Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm nấm ở bệnh nhân

Vi nấm ống tai	Viêm do nấm	
	Số bệnh nhân	Tỷ lệ %
Dương tính	67	36,02%
Âm tính	119	63,98%
Tổng	186	100%

Nhận xét: Trong tổng số 186 bệnh nhân đến khám tai, có 67 (36,02%) bệnh nhân bị viêm ống tai ngoài do vi nấm và có 119 (63,98%) bệnh nhân không bị viêm ống

tai ngoài do vi nấm.

3.2. Kết quả soi tươi

Bảng 2. Tỷ lệ chủng nấm trong phương pháp soi tươi

Soi tươi	n	Tỷ lệ %
Âm tính	119	63,98%
Dương tính	67	36,02%
Nấm men	13	
Nấm sợi	54	
Nấm sợi, nấm men	0	
Tổng	186	100%

Nhận xét: Trong tổng số 67 bệnh nhân dương tính với nấm ống tai thì có 54 bệnh nhân soi tươi là nấm sợi và

12 bệnh nhân là nấm men.

3.3. Kết quả định danh



Bảng 3. Tỷ lệ các chủng nấm

Chủng nấm	n	Tỷ lệ %
Candida sp	13	19,4%
Candida glabrata	7	10,45%
Candida krusei	1	1,49%
Candida tropicalis	5	7,46%
Aspergillus sp	51	76,12%
Aspergillus terreus	18	26,87%
Aspergillus niger	15	22,39%
Aspergillus flavus	18	26,87%
Nấm khác	3	4,48%
Paecilomyces sp	3	4,48%
Tổng	67	100%

Nhận xét: Aspergillus terreus, Aspergillus flavus chiếm 26,87%, Aspergillus niger 22,39%, Candida glabrata 10,45%, Candida tropicalis 7,46%, Candida krusei 1,49% và Paecilomyces sp với 4,48%.

3.4. Thói quen lấy ráy tai

Bảng 4. Tỷ lệ bệnh nhân có thói quen lấy ráy tai

Thói quen lấy ráy tai	Nhiễm nấm tai		Phép kiểm
	Dương tính	Âm tính	
Có thói quen lấy ráy tai tại tiệm hớt tóc	20 (29,85%)	20 (16,81%)	X ² = 6,1701 P= 0,046<0,05
Có thói quen lấy ráy tai tại nhà	46 (68,66%)	91 (76,47%)	
Không có thói quen lấy ráy tai	1 (1,49%)	8 (6,72%)	
Tổng	67 (100%)	119 (100%)	186

Nhận xét: Tỷ lệ nhóm bệnh nhân mắc bệnh nấm ống tai có thói quen lấy ráy tai tại nhà chiếm 68,66%, nhóm bệnh nhân hay đi lấy ráy tai ngoài tiệm hớt tóc là 29,85%, nhóm người không có thói quen lấy ráy tai

1 bệnh nhân chiếm 1,49%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

3.5. Dụng cụ lấy ráy tai

Bảng 5. Dụng cụ lấy ráy tai của bệnh nhân

Dụng cụ lấy ráy tai	Nhiễm nấm		Phép kiểm
	Dương tính	Âm tính	
Bộ dụng cụ ngoài tiệm	20 (29,85%)	22 (18,49%)	$X^2= 5,1054$ $P= 0,164 > 0,05$
Que gòn	39 (58,21%)	76 (63,87%)	
Cây móc	7 (10,45%)	13 (10,92%)	
Không lấy ráy	1 (1,49%)	8 (6,72%)	
Tổng	67 (100%)	119 (100%)	186

Nhận xét: Nhóm bệnh nhân bị nấm ống tai do sử dụng do sử dụng que gòn để lấy ráy tai chiếm tỉ lệ cao nhất tỷ lệ 58,21%, tiếp đó là nhóm sử dụng bộ dụng cụ lấy ráy tai ở tiệm hớt tóc chiếm 29,85%, sau đó là nhóm sử dụng cây móc ráy tai chiếm 10,45% và cuối cùng

là nhóm bệnh nhân không lấy ráy tai đã nhiều năm là 1 bệnh nhân có tỷ lệ 1,49%. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

3.6. Triệu chứng lâm sàng

Bảng 6. Triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân

Triệu chứng	Nhiễm nấm tai		Tổng
	Dương tính	Âm tính	
Chảy dịch	18 (26,87%)	29 (24,37%)	$X^2= 34.8328$ $P < 0,001$
Ngứa	31 (46,27%)	18 (15,13%)	
Ù tai - giảm thính lực	16 (23,88%)	30 (25,21%)	
Đau tai	2 (2,99%)	42 (35,29%)	
Tổng	67 (100%)	119 (100%)	186

Nhận xét: Triệu chứng ngứa chiếm 47,26%, chảy dịch ống tai 26,87%, ù tai – giảm thính lực 23,88% và 2,99% bệnh nhân bị đau tai. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê.

4. BÀN LUẬN

Trong 186 trường hợp đúng tiêu chuẩn nghiên cứu đã thu thập được, có 67 trường hợp bị viêm ống tai ngoài do vi nấm chiếm 36,02%. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước như của tác giả H.Kamali Sarwestani thực hiện ở Iran là 28,39%(4), hoặc nghiên cứu trong

nước của tác giả Nguyễn Thị Tường Vân năm 2016 tại bệnh viện Nguyễn Trãi là 35,6%(5). Nhưng thấp hơn so với nghiên cứu của cứu của B.Barati năm 2011 được thực hiện tại miền trung Iran là 69%(6). Sự khác biệt này có thể là do sự khác nhau về những tiêu chí chọn vào của từng nghiên cứu. Ở nghiên cứu của B.Barati chỉ chọn những bệnh nhân đã được chuẩn đoán lâm sàng là mắc bệnh nấm ống tai ngoài nên khi cấy nấm thì tỷ lệ dương tính cao. Còn trong nghiên cứu này tiêu chí chọn vào là tất cả các bệnh nhân đến khám tai, tính sàng lọc của nghiên cứu này sẽ cao hơn.

Về định danh



Kết hợp phương pháp soi tươi, cấy nấm cho kết quả là 80,6% bệnh nhân dương tính với nấm sợi và 19,4% bệnh nhân dương tính với nấm men. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây như của Nguyễn Thị Tường Vân nấm men chiếm 1,59%, còn nấm sợi chiếm 98,41%(5), B.Barati tác giả nấm sợi chiếm 91,53%, nấm men chiếm 8,47%(6), tác giả H.Kamali Sarwestani nấm sợi chiếm 70,68%, nấm men chiếm 29,32%(4). Như vậy, nhìn chung thì nấm sợi vẫn là nguyên nhân gây bệnh nấm ống tai ngoài chủ yếu. Sự khác nhau của tỷ lệ nấm sợi và nấm men giữa các nghiên cứu là do môi trường sống, thời tiết, khí hậu khác nhau của từng khu vực.

Trong nghiên cứu này, *Aspergillus* spp là loài có tỷ lệ lớn nhất. Cụ thể là 26,87% bệnh nhân nhiễm *Aspergillus terreus* và bằng với số bệnh nhân bị nhiễm nấm *Aspergillus flavus*, 22,39% bệnh nhân nhiễm *Aspergillus niger*. Cho thấy *Aspergillus flavus* và *Aspergillus terreus* là phổ biến nhất. Tương đồng với báo cáo ngoài nước của tác giả B. Barati (*Aspergillus flavus* cao nhất chiếm 49%)(6), tác giả trong nước là Võ Văn Nghị (*Aspergillus terreus* phổ biến nhất với tỷ lệ 34,43%)(7).

Về các yếu tố liên quan

Thói quen lấy ráy tai là một trong những yếu tố nguy cơ quan trọng vì ráy tai là một hàng rào bảo vệ, ngăn chặn các tác nhân bên ngoài tấn công ống tai, việc lấy ráy tai quá thường xuyên làm mất đi lớp bảo vệ này, thay đổi pH của ống tai dẫn đến vi khuẩn, vi nấm dễ dàng tấn công gây viêm ống tai. Ở nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhân dương tính với nấm ống tai ngoài có thói quen lấy ráy tai tại nhà là 68,66%, 29,85% bệnh nhân có thói quen lấy ráy tai ngoài tiệm hớt tóc, người không có thói quen lấy ráy tai là 1,49%. Tương đồng với nghiên cứu trong nước của tác giả Nguyễn Thị Tường Vân năm 2016 (tại nhà 57,7%, tiệm hớt tóc 42,3%)(5), nhưng không tương đồng với tác giả Võ Văn Nghị năm 2012 (tiệm hớt tóc:72,95%, tại nhà: 27,05%)(7). Việc này có thể hiểu là sự hiểu biết của bệnh nhân về bộ dụng cụ lấy ráy ở tiệm hớt tóc không đảm bảo vệ sinh nên đã tự làm sạch tai ở nhà.

Để khảo sát thêm về dụng cụ lấy ráy tai, cách lấy ráy tai tại nhà của bệnh nhân có đúng hay sai và việc bộ dụng cụ ở tiệm đã được cải thiện về sự vô khuẩn hay chưa thì nghiên cứu của chúng tôi đã ghi nhận thêm việc sử dụng dụng cụ lấy ráy tai của bệnh nhân và tỷ lệ nhận được là 58,21% bệnh nhân sử dụng tăm bông làm sạch

tai bị nhiễm nấm, sau đó là nhóm sử dụng cây móc ráy tai 10,45% và sử dụng bộ dụng cụ ở tiệm cắt tóc là 29,85%. Từ kết quả cho thấy:

- Bệnh nhân lấy ráy tai bằng que tăm bông chưa đúng cách dẫn đến việc ráy tai bị đẩy vào trong ngày một nhiều làm bít tai và vi nấm cũng mọc lên từ đây.

- Bệnh nhân lấy bằng móc có thể mạnh tay làm xước tai là điều kiện lý tưởng để vi nấm phát triển.

- Bộ dụng cụ ở tiệm cắt tóc vẫn chưa được đảm bảo vô khuẩn nên vẫn là một nguy cơ cao cho bệnh nấm ống tai ngoài.

Về triệu chứng

Tương tự các nghiên cứu trước đây như của tác giả S.C.Prasad (ngứa chiếm 73%)(8), tác giả B.Barati (ngứa chiếm 65%)(6) thì ở nghiên cứu này, chúng tôi cũng đã ghi nhận được triệu chứng ngứa là phổ biến nhất với tỷ lệ là 46,27%. Tuy nhiên, so sánh nhiều nghiên cứu khác nhau cho thấy các triệu chứng về bệnh nấm ống tai là không tương đồng nên việc chẩn đoán bệnh từ triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm nên được Bác sĩ chuyên khoa sử dụng cùng lúc để đưa ra chẩn đoán và phác đồ điều trị chính xác nhất.

5. KẾT LUẬN

1. Tỷ lệ nhiễm nấm ống tai ngoài ở bệnh nhân đến khám tai tại khoa Tai – Mũi – Họng bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn là 36,02%.

2. Chủng nấm gây bệnh

Nấm sợi vẫn là nguyên nhân hàng đầu gây bệnh nấm ống tai ngoài chiếm 80,6%. Trong đó *Aspergillus* spp là loài nấm chiếm tỷ lệ cao nhất với 3 chủng nấm được phân lập lần lượt là:

- *Aspergillus niger* 22,39%

- *Aspergillus flavus* 26,87%

- *Aspergillus terreus* 26,87%

3. Các yếu tố liên quan đến bệnh nấm ống tai ngoài

Ngứa là triệu chứng chiếm tỷ lệ cao nhất 46,27%.

Thói quen lấy ráy tai: đây là yếu tố nguy cơ cao với tỷ lệ là 68,66% bệnh nhân dương tính nấm ống tai ngoài có thói quen lấy ráy tai tại nhà, 29,85% bệnh nhân có thói quen lấy ráy tai ngoài tiệm cắt tóc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Xuân Mai, Phan Anh Tuấn, Lê Thị Xuân; Ký sinh trùng Y học. Tp.HCM: Nhà xuất bản Y học; 2018. tr. 419 p.
- [2] Ismail MT, Al-Kafri A, Ismail MJCmm, Otomycosis in Damascus, Syria: Etiology and clinical features. 2017;3(3):27.
- [3] Sarwestani ZK, Hashemi S, Rezaie S et al., Species identification and in vitro antifungal susceptibility testing of Aspergillus section Nigri strains isolated from otomycosis patients. 2018;28(2):279-84.
- [4] Kamali SH, Daie GR, Hashemi SJ et al., Investigation of Etiologic Agents and Clinical Presentations of Otomycosis at a Tertiary Referral Center in Tehran, Iran. Iranian journal of public health. 2019;48(2):331-7.
- [5] Vân NTT, Khảo sát các tác nhân vi nấm gây bệnh viêm ống tai ngoài. Tp.HCM: Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh; 2016.
- [6] Barati B, Okhovvat SA, Goljanian A et al., Otomycosis in central iran: a clinical and mycological study. Iranian Red Crescent medical journal. 2011;13(12):873-6.
- [7] Võ Văn Nghi, Định danh nấm bằng PCR ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị nấm ống tai ngoài. Tp.HCM: Đại học Y Dược; 2012.
- [8] Prasad SC, Kotigadde S, Shekhar M et al., Primary otomycosis in the Indian subcontinent: predisposing factors, microbiology, and classification. International journal of microbiology. 2014;2014:636-493.



THE SITUATION OF INFECTION, THE DISTRIBUTION OF CANDIDA SPP. SPECIES CAUSES VAGINITIS IN WOMEN AND RELATED FACTORS

Nguyen Ngoc Mai Uyen*, Nguyen Ho Phuong Lien, Pham Truong Truc Giang, Tran Thi Thoa

University of Medicine and Pharmacy at HCMC - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 01/12/2022

Revised 10/01/2023; Accepted 02/02/2023

ABSTRACT

Background: Vaginal candidiasis is one of the most common vaginal infections in women. It is necessary to update the changes in impact, epidemiology, ... of Candida spp. in order to treat and prevent effectively.

Objectives: Determining the infection rate, the distribution of Candida spp. species causing vaginitis and related factors in women who come to gynecological examination at Hoc Mon Regional General Hospital.

Method: Descriptive cross-sectional with analysis, performed from 05/2022 to 7/2022 on 203 women visiting gynecological examination at Hoc Mon Regional General Hospital.

Result: Among the 203 study subjects, the incidence of vaginal candidiasis was 31.53%, the highest infection rate in the 35-40 age group (32.81%). The proportion of Candida spp. species isolated: Candida albicans (46,88%), các loài Candida khác (23,44%), Candida kefyr/Candida glabrata (14,06%), Candida krusei (9,38%), Candida tropicalis (4,69%), Candida dubliniensis (1,56%). The state of menstruation is associated with candida spp. vaginal infection.

Conclusion: The incidence of Candida spp. vaginal infection is 31.53%. Isolation of Candida dubliniensis in white blood specimen. The state of menstruation is associated with Candida spp. vaginal infection.

Keywords: Candida spp., vaginitis, Candida dubliniensis, related factors.

*Corresponding author

Email address: nguyennnguyen05012000@gmail.com

Phone number: (+84) 353 770 449

THỰC TRẠNG NHIỄM, SỰ PHÂN BỐ CÁC LOÀI CANDIDA SPP. GÂY VIÊM ÂM ĐẠO Ở PHỤ NỮ VÀ CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN

Nguyễn Ngọc Mai Uyên*, Nguyễn Hồ Phương Liên, Phạm Trương Trúc Giang, Trần Thị Thoa

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 01 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 10 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 02 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Viêm âm đạo do vi nấm Candida spp. là tình trạng phổ biến và gây nhiều ảnh hưởng cho phụ nữ. Cần cập nhật những sự thay đổi trong tác động, dịch tễ,... của Candida spp. nhằm điều trị, dự phòng có hiệu quả.

Mục tiêu nghiên cứu: Xác định tỷ lệ nhiễm, sự phân bố các loài Candida spp. gây viêm âm đạo và các yếu tố liên quan ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả có phân tích thực hiện từ tháng 05/2022 đến tháng 7/2022 trên 203 phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn được chọn vào nghiên cứu. Thu thập thông tin nghiên cứu thông qua bộ câu hỏi nghiên cứu và mẫu bệnh phẩm huyết trắng.

Kết quả: Trong số 203 đối tượng nghiên cứu, tỷ lệ nhiễm Candida spp. âm đạo là 31,53%, tỷ lệ nhiễm cao nhất ở nhóm tuổi từ 35 – 40 (32,81%). Tỷ lệ các loài Candida spp. phân lập được: Candida albicans (46,88%), các loài Candida khác (23,44%), Candida kefyr/Candida glabrata (14,06%), Candida krusei (9,38%), Candida tropicalis (4,69%), Candida dubliniensis (1,56%). Tình trạng kinh nguyệt là yếu tố có mối liên quan đến nhiễm Candida spp. âm đạo.

Kết luận: Tỷ lệ nhiễm Candida spp. âm đạo là 31,53%. Phân lập thấy Candida dubliniensis trong bệnh phẩm huyết trắng. Tình trạng kinh nguyệt là yếu tố có mối liên quan đến nhiễm Candida spp. âm đạo.

Từ khóa: Candida spp., viêm âm đạo, Candida dubliniensis, yếu tố liên quan.

*Tác giả liên hệ

Email address: nguyennnguyen05012000@gmail.com

Điện thoại: (+84) 353 770 449



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm âm đạo (VÂĐ) do *Candida* spp. là một bệnh lý nhiễm khuẩn đường sinh dục phụ nữ phổ biến, đứng thứ hai sau viêm âm đạo do vi khuẩn ². VÂĐ do *Candida* spp. ảnh hưởng đến 75% phụ nữ ít nhất một lần trong đời, hầu hết trong nhóm tuổi sinh sản, tỷ lệ tái phát là khoảng 50% ⁵. Việc điều trị VÂĐ do *Candida* spp. thường nhanh khỏi nhưng rất dễ lây lan hay tái phát, gây ảnh hưởng đến sức khỏe, sinh hoạt và chất lượng cuộc sống của người phụ nữ. Trước đây, đã có nhiều đề tài nghiên cứu về vấn đề liên quan đến nhiễm *Candida* spp. ở âm đạo. Tuy nhiên, phần lớn các đề tài tập trung vào nghiên cứu ở một nhóm tuổi hay đối tượng nhất định. Đối với các đề tài nghiên cứu có sự tổng hợp về nhóm tuổi, đối tượng cùng với các yếu tố liên quan thì số lượng còn ít, tính cập nhật còn hạn chế, mà sự thống kê và cập nhật này là cần thiết để có thể nhận biết sự thay đổi trong tác động của *Candida* spp., từ đó có thể đưa sự so sánh, đánh giá và tham khảo trong các vấn đề liên quan khác như nghiên cứu, điều trị, dự phòng,... Chính vì những lí do trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu đề tài “Thực trạng nhiễm, sự phân bố các loài *Candida* spp. gây viêm âm đạo ở phụ nữ và các yếu tố liên quan”.

2. MỤC TIÊU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu tổng quát

Xác định tỷ lệ nhiễm, sự phân bố các loài *Candida* spp. gây viêm âm đạo và các yếu tố liên quan ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.

Mục tiêu cụ thể

1. Xác định tỷ lệ nhiễm *Candida* spp. ở âm đạo và sự phân bố tỷ lệ nhiễm theo độ tuổi ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.
2. Xác định tỷ lệ các loài *Candida* spp. phân lập từ bệnh phẩm âm đạo và sự phân bố các loài *Candida* spp. ở các nhóm tuổi ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.
3. Xác định các yếu tố liên quan đến nhiễm *Candida* spp. ở âm đạo ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh

viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.

2.2. Đối tượng nghiên cứu: Phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn.

Tiêu chuẩn chọn vào

Có thực hiện thăm khám âm đạo và có lấy mẫu huyết trắng. Độ tuổi ≥ 18 tuổi.

Đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

Điều trị nằm trong vòng 7 – 10 ngày trước khi đến khám.

Đặt thuốc âm đạo hay thực rửa âm đạo trong vòng 48 giờ trước khi đến khám. Đang hành kinh hoặc chảy máu âm đạo.

Những mẫu không đạt yêu cầu về bảo quản, vận chuyển hay thiếu thông tin.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả có phân tích.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Từ tháng 05/2022 đến 07/2022 tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn và Bộ môn Xét nghiệm Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

Cỡ mẫu

Cỡ mẫu của nghiên cứu được tính theo công thức:

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

Trong đó:

n: cỡ mẫu tối thiểu cho nghiên cứu.

$Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$: trị số từ phân phối chuẩn ($\alpha = 0,05$: sai lệch $\log_i 1$).

$P = 0,132$: tỷ lệ ước lượng kết cuộc trong dân số. P tham khảo từ nghiên cứu của Alfouzan W (2015) ⁶.

$d = 0,05$: sai số ước lượng.

Cỡ mẫu được tính theo công thức và dự trừ mất mẫu, mất thông tin (5%) nên chọn cỡ mẫu nghiên cứu là 186 đối tượng nghiên cứu.

Trong thời gian thu thập số liệu, số lượng mẫu đạt tiêu chuẩn và có đầy đủ thông tin thu thập được là 203 mẫu.

Phương pháp tiến hành

Đối tượng nghiên cứu được phỏng vấn thông qua bộ

câu hỏi đã được thiết kế để khai thác các yếu tố liên quan đến nhiễm Candida spp. ở âm đạo.

Mẫu huyết trắng được lấy bởi bác sĩ chuyên khoa bằng tăm bông vô trùng và bảo quản trong tube vô trùng, không sử dụng môi trường chuyên chở. Sau đó, mẫu huyết trắng được soi tươi với vật kính x10 và x40 để xác định là âm tính nếu tìm không thấy tế bào men hoặc dương tính nếu tìm thấy các tế bào men bầu dục nảy búp, sợi tơ nấm giả. Các mẫu dương tính sẽ được cấy phân lập trên Sabouraud và cấy định danh trên CHROMagar Candida. Đối với các mẫu cấy định danh được nhận định là Candida albicans/Candida dubliniensis sẽ thực hiện thử nghiệm tìm bào tử bao dày để phân biệt rõ

Candida albicans hay Candida dubliniensis.

Thống kê và xử lý số liệu

Sử dụng Microsoft Excel để thống kê số liệu.

Sử dụng SPSS 16.0 để xử lý và phân tích số liệu, xác định ý nghĩa của các mối liên quan giữa các yếu tố nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm Candida spp. ở âm đạo và sự phân bố tỷ lệ nhiễm theo độ tuổi

Tỷ lệ nhiễm Candida spp. ở âm đạo

Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm Candida spp. ở âm đạo

	Tần số	Tỷ lệ
Candida (+)	64	31,53%
Candida (-)	139	64,47%
Tổng	203	100%

Nghiên cứu tiến hành trên 203 phụ nữ đến khám phụ khoa tại Bệnh viện Đa khoa Khu vực Hóc Môn, kết quả cho thấy có 64 đối tượng nghiên cứu được xác định nhiễm Candida spp. ở âm đạo, chiếm tỷ lệ 31,53%. Tỷ lệ này tương đương với nghiên cứu của tác giả Nhữ Thị Hoa ², cao hơn với nghiên cứu của tác giả Trần Thị Lợi ³ và thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Do Ngọc Anh ⁷. Nghiên cứu của tác giả Nhữ

Thị Hoa có tỷ lệ thấp hơn nghiên cứu của chúng tôi có thể là do sự khác nhau về đối tượng nghiên cứu. Còn tỷ lệ ở nghiên cứu của tác giả Anh cao hơn nghiên cứu của chúng tôi là do tác giả này thực hiện nghiên cứu trong cộng đồng, còn nghiên cứu của chúng tôi chỉ thực hiện tại một bệnh viện.

Sự phân bố tỷ lệ nhiễm theo độ tuổi

Bảng 2: Sự phân bố tỷ lệ nhiễm theo độ tuổi

Độ tuổi	Mẫu nghiên cứu		Candida (+)	
	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ
< 20	7	3,45%	2	3,12%
20 - 34	38	18,72%	15	23,44%
35 - 40	59	29,06%	21	32,81%
41 – 50	64	31,53%	19	29,69%
> 50	35	17,24%	7	10,94%
Tổng	203	100%	64	100%



Kết quả cho tình trạng nhiễm Candida spp. ở âm đạo thường gặp nhất ở nhóm tuổi từ 35 – 40 tuổi, tiếp theo là nhóm tuổi từ 41 – 50, nhóm tuổi từ 20 – 34, nhóm tuổi >50, nhóm tuổi <20. Theo nhiều y văn thì nhiễm Candida spp. ở âm đạo chủ yếu gặp ở độ tuổi sinh sản (20 – 30 tuổi), tần suất giảm dần ở độ tuổi tiền mãn kinh và mãn kinh (sau 40 tuổi) ¹. Ở nghiên cứu của chúng tôi thì tần số của nhóm tuổi tiền mãn kinh (41 – 50 tuổi) tương đối cao có thể là nguyên nhân làm cho tỷ

lệ nhiễm Candida spp. ở nhóm tuổi này cao hơn so với nhóm tuổi sinh sản (20 – 34 tuổi). Tuy nhiên nhóm tuổi tiền mãn kinh có sự rối loạn nội tiết, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của Candida spp. có thể làm tăng tỷ lệ nhiễm ở nhóm tuổi này.

3.2. Tỷ lệ các loài Candida spp. phân lập từ bệnh phẩm âm đạo và sự phân bố các loài Candida spp. ở các nhóm tuổi

Tỷ lệ các loài Candida spp.

Bảng 3: Tỷ lệ các loài Candida spp.

Loài	Tần số	Tỷ lệ
Candida albicans	30	46,88%
Candida dubliniensis	1	1,56%
Candida tropicalis	3	4,69%
Candida krusei	6	9,38%
Candida kefyr/Candida glabrata	9	14,06%
Các loài Candida khác	15	23,44%
Tổng	64	100%

Kết quả nghiên cứu cho thấy, Candida albicans vẫn là loài chiếm tỷ lệ cao nhất trong các loài Candida spp. gây viêm âm đạo, tiếp theo là các loài Candida khác, Candida kefyr/Candida glabrata, Candida krusei, Candida tropicalis, Candida dubliniensis. Kết quả này tương tự với kết quả từ nhiều nghiên cứu khác là Candida albicans là loài thường gặp nhất vì nó được

xem là loài có độc lực mạnh hơn so với các loài Candida khác ^{1,7}. Tuy nhiên tỷ lệ Candida albicans ở nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn tỷ lệ trong nhiều y văn (70 – 90%) ¹ có nghĩa là tỷ lệ các loài NCAC đang tăng lên phù hợp với nhiều nghiên cứu gần đây cũng cho thấy sự gia tăng các loài này ¹⁰.

Sự phân bố các loài Candida spp. ở các nhóm tuổi

Bảng 4: Sự phân bố các loài Candida spp. ở các nhóm tuổi

Nhóm tuổi	Candida albicans		Candida dubliniensis		Candida tropicalis		Candida krusei		Candida kefyr/Candida glabrata		Candida khác	
	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ	Tần số	Tỷ lệ
<20	0	0%	0	0	0	0%	1	16,67%	1	11,11%	0	0%
20–34	10	33,33%	0	0	0	0%	1	16,67%	2	22,22%	2	13,33%
35–40	12	36,67%	1	100%	3	100%	1	16,67%	3	33,33%	2	13,33%
41–50	7	23,33%	0	0	0	0%	3	50,00%	1	11,11%	8	53,33%
>50	2	6,67%	0	0	0	0%	0	0%	2	22,22%	3	20,00%
Tổng	30	100%	1	100%	3	100%	3	100%	9	100%	15	100%

Kết quả ở bảng 4 cho thấy *Candida albicans* thường gặp nhất ở nhóm tuổi 35 - 40. *Candida dubliniensis* chỉ gặp thấy ở nhóm tuổi 35 - 40. *Candida tropicalis* chỉ gặp thấy ở nhóm tuổi 35 - 40. *Candida krusei* thường gặp nhất ở nhóm tuổi 35 - 40. *Candida kefyr/Candida*

glabrata thường gặp nhất ở nhóm tuổi 35 – 40. Các loài *Candida* khác thường gặp nhất ở nhóm tuổi 41 – 50.

3.3. Các yếu tố liên quan đến nhiễm *Candida spp.* ở âm đạo

Bảng 5: Các yếu tố liên quan đến nhiễm *Candida spp.* ở âm đạo

Yếu tố		Candida (-)	Candida (+)	p
Nghề nghiệp	Công nhân, làm thuê	75 (53,96%)	29 (45,31%)	p>0,05
	Nội trợ	31 (22,30%)	18 (28,12%)	
	Buôn bán	22 (15,83%)	10 (15,62%)	
	Cán bộ công chức, văn phòng	7 (5,04%)	2 (3,12%)	
	Nông dân	1 (0,72%)	2 (3,12%)	
	Học sinh, sinh viên	3 (2,16%)	3 (4,69%)	
Trình độ học vấn	Mù chữ	1 (0,72%)	1 (1,56%)	p>0,05
	Cấp 1, Cấp 2	91 (65,47%)	41 (64,06%)	
	Cấp 3	31 (22,30%)	16 (25,00%)	
	Đại học, Cao đẳng, Trung cấp	16 (11,51%)	6 (9,38%)	
Nơi ở	Thành thị	5 (3,60%)	4 (6,25%)	p>0,05
	Nông thôn	134 (96,4%)	60 (93,75%)	
Tình trạng hôn nhân	Chưa lập gia đình	7 (5,04%)	4 (6,25%)	p>0,05
	Đã lập gia đình	129 (92,81%)	59 (92,19%)	
	Góa/Ly thân/Ly dị	3 (2,16%)	1 (1,56%)	
Số lần sinh con	0 lần	14 (10,08%)	8 (12,50%)	p*>0,05
	1 – 2 lần	102 (73,38%)	46 (71,88%)	
	≥3 lần	23 (16,55%)	10 (15,62%)	
Tình trạng kinh nguyệt	Đã mãn kinh	28 (20,14%)	5 (7,81%)	p<0,05
	Không rối loạn kinh nguyệt	85 (61,15%)	40 (62,5%)	
	Có rối loạn kinh nguyệt	26 (18,71%)	19 (29,69%)	
Tình trạng mang thai	Không	139 (100%)	63 (98,44%)	p>0,05
	Có	0 (0%)	1 (1,56%)	
Nguồn nước sinh hoạt	Nước máy	71 (51,08%)	29 (45,31%)	p>0,05
	Nước giếng	40 (28,78%)	24 (37,50%)	
	Nước máy + Nước giếng	28 (20,14%)	11 (17,19%)	



Yếu tố		Candida (-)	Candida (+)	p
Thói quen thực rửa âm đạo	Không	131 (94,24%)	57 (89,06%)	p>0,05
	Có	8 (5,76%)	7 (10,94%)	
Thói quen sử dụng dung dịch vệ sinh	Không	39 (28,06%)	13 (20,31%)	p>0,05
	Có	100 (71,94%)	51 (79,69%)	
Đái tháo đường	Không	134 (96,40%)	58 (90,60%)	p>0,05
	Có	5 (3,60%)	6 (9,40%)	
Thuốc tránh thai	Không	119 (85,61%)	58 (90,62%)	p>0,05
	Có	20 (14,39%)	6 (9,38%)	
Dụng cụ tử cung	Không	101 (72,66%)	53 (82,81%)	p>0,05
	Có	38 (27,34%)	11 (17,19%)	
Bao cao su	Không	126 (90,68%)	55 (85,94%)	p>0,05
	Có	13 (9,35%)	9 (14,06%)	

(p: Phép kiểm χ^2 và kiểm định chính xác Fisher, p*: Mô hình hồi quy Binary logistic)

Từ kết quả bảng 5 cho thấy cho thấy yếu tố tình trạng kinh nguyệt có mối liên hệ có ý nghĩa với nhiễm Candida spp. ở âm đạo.

Nhóm có rối loạn kinh nguyệt có nhiều yếu tố nguy cơ dẫn đến nhiễm Candida spp. ở âm đạo hơn so với các nhóm còn lại có thể là do sự thay đổi bất thường của Estrogen gây mất cân bằng hệ vi sinh vật âm đạo, tạo cơ hội cho sự phát triển của Candida spp. gây bệnh. Đối với nhóm mãn kinh thì có nguy cơ thấp hơn là do lượng Estrogen bị mất đi kéo theo lượng glycogen giảm, gây bất lợi cho sự phát triển của loài vi nấm này^{8,9}.

Các yếu tố nghề nghiệp, trình độ học vấn, nơi ở, tình trạng hôn nhân, số lần sinh con, tình trạng mang thai, nguồn nước sinh hoạt, thói quen thực rửa âm đạo, thói quen sử dụng dung dịch vệ sinh, đái tháo đường, thuốc tránh thai, dụng cụ tử cung, bao cao su không có mối liên hệ có ý nghĩa với nhiễm Candida spp. ở âm đạo.

Đa số các nghiên cứu chỉ ra sự gia tăng tỷ lệ nhiễm Candida âm đạo ở phụ nữ mang thai là do sự gia tăng bài tiết hormon trong thai kỳ, cùng với đó là sự thay đổi về tâm lý, hệ miễn dịch và thói quen ăn uống của nhóm đối tượng này làm tăng khả năng phát triển của Candida spp.⁸. Do nghiên cứu của chúng tôi thực hiện tại Bệnh viện Đa khoa, không chuyên về Sản khoa nên số lượng

đối tượng mang thai đến khám ít tạo nên sự chênh lệch tỷ lệ lớn giữa nhóm có mang thai và không mang thai, nên khi xử lý dữ liệu cho ra kết quả chưa có sự liên quan giữa yếu tố này với nhiễm Candida spp. ở âm đạo.

Lượng glucose cao ở bệnh nhân đái tháo đường là nguồn dinh dưỡng cho sự phát triển của Candida spp.. Hơn nữa, bạch cầu ở bệnh nhân đái tháo đường hoạt động kém hiệu quả hơn so với người bình thường làm tăng cơ hội gây bệnh cho Candida spp. ở nhóm đối tượng này⁸. Trong quá trình tiếp xúc phỏng vấn đối tượng nghiên cứu, phần lớn các đối tượng đều không biết rõ về tình trạng đường huyết của mình. Đó có thể là nguyên nhân dẫn đến kết quả ở nghiên cứu của chúng tôi là không tìm thấy có mối liên hệ có ý nghĩa giữa yếu tố đái tháo đường và nhiễm Candida spp. ở âm đạo, mặc dù đa phần các nghiên cứu trong nước và ngoài nước đều cho thấy có mối liên hệ này.

Tuy có sự không đồng nhất giữa các kết quả nghiên cứu của các tác giả khác nhau nhưng có thể có sự tồn tại mối liên hệ giữa yếu tố nghề nghiệp, trình độ học vấn, nguồn nước, thói quen thực rửa âm đạo, thói quen sử dụng dung dịch vệ sinh, các biện pháp tránh thai với nhiễm Candida spp. ở âm đạo^{3,4}. Ví dụ như những người làm nghề ẩm ướt thường xuyên, sử dụng nước chưa qua xử lý, có thói quen thực rửa âm đạo hay có thói quen sử dụng dung dịch vệ sinh,... sẽ có nguy cơ nhiễm Candida spp. ở âm đạo cao.

4. KẾT LUẬN

Trong số 203 đối tượng nghiên cứu, tỷ lệ nhiễm *Candida* spp. âm đạo là 31,53%, tỷ lệ nhiễm cao nhất ở nhóm tuổi từ 35 – 40 (32,81%).

Tỷ lệ các loài *Candida* spp. phân lập được: *Candida albicans* (46,88%), các loài *Candida* khác (23,44%), *Candida kefyr/Candida glabrata* (14,06%), *Candida krusei* (9,38%), *Candida tropicalis* (4,69%), *Candida dubliniensis* (1,56%).

Sự phân bố các loài *Candida* spp. ở các nhóm tuổi: *Candida albicans/Candida dubliniensis*: nhóm tuổi 35 - 40 (38,71%), nhóm tuổi 20 - 34 (32,26%), nhóm tuổi 41 - 50 (22,58%), nhóm tuổi >50 (6,45%); *Candida dubliniensis*: nhóm tuổi 35 - 40 (100%); *Candida tropicalis*: nhóm tuổi 35 - 40 (100%); *Candida krusei*: nhóm tuổi 35 - 40 (50%), nhóm tuổi 50 (22,22%), nhóm tuổi 50 (20%), nhóm tuổi 20 - 34 (13,33%), nhóm tuổi 35 - 40 (13,33%).

Tình trạng kinh nguyệt là yếu tố có mối liên quan đến nhiễm *Candida* âm đạo. Các yếu tố nghề nghiệp, trình độ học vấn, nơi ở, tình trạng hôn nhân, số lần sinh con, tình trạng mang thai, nguồn nước sinh hoạt, thói quen thụt rửa âm đạo, thói quen sử dụng dung dịch vệ sinh, đài tháo đường, thuốc tránh thai, dụng cụ tử cung, bao cao su không có mối liên quan với nhiễm *Candida* ở âm đạo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lương Thị Trang, Huỳnh Mỹ Hạnh, Nguyễn Tuấn Dũng & cs, Đánh giá mức độ nhạy cảm của *Candida* spp. phân lập từ bệnh phẩm âm đạo với clotrimazol và fluconazol. Y Học TP Hồ Chí Minh, 2014. 18(2): 230-234.
- [2] Nhữ Thị Hoa, Tỷ lệ các tác nhân thường gây viêm âm đạo ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại các Bệnh viện Tuyến 2 TP.HCM, năm 2005. Y Học TP Hồ Chí Minh, 2007. 11(2): 170-176.
- [3] Trần Thị Lợi, Ngũ Quốc Vĩ, Tỷ lệ viêm âm đạo và các yếu tố liên quan ở phụ nữ đến khám phụ khoa tại BV. Đa khoa Trung ương Cần Thơ. Y Học TP Hồ Chí Minh, 2009. 13(1): 1-7.
- [4] Trần Xuân Mai, Trần Thị Kim Dung, Phan Anh Tuấn, Ký Sinh Trùng Y Học. Nhà xuất bản Y học; 2015.
- [5] Vulvovaginal Candidiasis (VVC). CDC. Accessed January 21. 2022. <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/candidiasis.htm>.
- [6] Alfouzan W, Dhar R, Ashkanani H et al., Species spectrum and antifungal susceptibility profile of vaginal isolates of *Candida* in Kuwait. J Mycol Med, 2015. 25(1): 23-8.
- [7] Anh DN, Hung DN, Tien TV et al., Prevalence, species distribution and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among symptomatic non-pregnant women of reproductive age at a tertiary care hospital, Vietnam. BMC Infect Dis, 2021. 21(1): 523.
- [8] Goncalves B, Ferreira C, Alves CT et al., Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. Crit Rev Microbiol, 2016. 42(6): 905-27.
- [9] He Y, Tang R, Deng J et al., Effects of oestrogen on vulvovaginal candidosis. Mycoses, 2022. 65(1): 4-12.
- [10] Singh DP, Kumar Verma R, Sarswat S et al., Non-*Candida albicans* *Candida* species: virulence factors and species identification in India. Curr Med Mycol, 2021. 7(2): 8-13.



STUDY ON *MELALEUCA CAJUPUTI* POWELL ESSENTIAL OIL IN PROTECTING FROM *AEDES AEGYPTI* MOSQUITOES

Nguyen Thi Van^{1,*}, Le Quoc Tuan¹, Hoang Thi Hoa¹, Do Thi Thuy Dung², Nguyen Khac Luc¹

¹Vietnam Military Medical University - 160 Phung Hung, Phuc La, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

²Nam Dinh University of Nursing - 257 Han Thuyen, Vi Xuyen, Nam Dinh, Vietnam

Received 01/12/2022

Revised 10/01/2023; Accepted 10/02/2023

ABSTRACT

Objective: Determine the dose of *Melaleuca* essential oil that has a protective effect, and the duration of protection from *Aedes aegypti* mosquitoes.

Objects and methods: The *Melaleuca* essential oil provided by Vietnam Essential Oil Company; *Ae. aegypti* mosquito with laboratory strains and natural strains; controlled trial to determine the dose of protection against *Ae. aegypti* using a K&D test box. Determination of protection time from *Ae. aegypti* using a test cage.

Results: dose of *Melaleuca* essential oil had a protective effect against *Ae. aegypti* the laboratory strain was 0.02 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, the natural strain was 0.05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. The duration of protection from *Ae. aegypti* with the laboratory and natural strains of *Melaleuca* essential oil at the concentration of 0.05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ (respectively 2.5%) mixed in ethanol solvent was 33 minutes, mixed in coconut oil solvent was 210 minutes.

Conclusion: The dose of *Melaleuca* essential oil has a protective effect against *Ae. aegypti* is 0.05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$; longest protection time 210 minutes.

Keywords: *Melaleuca* essential oil, protection time, *Aedes aegypti*.

*Corresponding author

Email address: bs.vank61@gmail.com

Phone number: (+84) 973 758 756

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG BẢO VỆ KHỎI MUỖI *Aedes Aegypti* CỦA TINH DẦU TRÀM (*MELALEUCA CAJUPUTI POWELL*)

Nguyễn Thị Vân^{1,*}, Lê Quốc Tuấn¹, Hoàng Thị Hòa¹, Đỗ Thị Thùy Dung², Nguyễn Khắc Lực¹

¹Học viện Quân Y - 160 Phung Hung, Phuc La, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

²Đại học Điều dưỡng Nam Định - 257 Hàn Thuyên, Vị Xuyên, TP. Nam Định, Nam Định, Việt Nam

Ngày nhận bài: 01 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 10 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 10 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định liều lượng tinh dầu Tràm có tác dụng bảo vệ, thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti*.

Đối tượng và phương pháp: Tinh dầu Tràm nguyên chất do Công ty Cổ phần Tinh dầu Việt Nam cung cấp; muỗi *Ae. aegypti* chủng phòng thí nghiệm và chủng thực địa; thử nghiệm có đối chứng nhằm xác định liều bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* bằng hộp thử nghiệm K&D. Xác định thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* bằng lồng thử nghiệm.

Kết quả: Liều tinh dầu Tràm có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* chủng phòng thí nghiệm là 0,02 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, chủng thực địa là 0,05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* chủng phòng thí nghiệm và chủng thực địa của tinh dầu Tràm nồng độ 0,05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ (tương ứng 2,5%) trong dung môi ethanol là 33 phút, trong dung môi dầu dừa là 210 phút.

Kết luận: Liều lượng tinh dầu Tràm có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* là 0,05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$; thời gian bảo vệ dài nhất 210 phút.

Từ khóa: Tinh dầu Tràm, thời gian bảo vệ, *Aedes aegypti*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Muỗi là vector của nhiều bệnh truyền nhiễm khác nhau, đặc biệt *Aedes aegypti* là vector hàng đầu trong bệnh sốt xuất huyết Dengue (SXHD). Đây là bệnh diễn ra hàng năm, ảnh hưởng lớn tới sức khỏe cộng đồng. Do SXHD có nhiều typ khác nhau nên vaccin hiệu quả chưa cao, chưa có thuốc điều trị đặc hiệu vì vậy việc phòng chống vector có vai trò quan trọng [1]. Xu hướng của thế giới

là sử dụng tinh dầu từ các thảo dược tự nhiên có hoạt tính xua, diệt côn trùng trong phòng chống muỗi đốt nhằm thay thế các chất hóa học, là những chất có ảnh hưởng tới sức khỏe con người cũng như môi trường [2].

Cây Tràm được trồng phổ biến nhiều nơi trên thế giới với nhiều giống Tràm khác nhau, mỗi loại cho hàm lượng tinh dầu khác nhau phụ thuộc giai đoạn sinh trưởng và thổ nhưỡng từng khu vực. Trên thế giới có một số công bố cho thấy tinh dầu Tràm có tác dụng

*Tác giả liên hệ

Email address: bs.vank61@gmail.com

Điện thoại: (+84) 973 758 756



xua, diệt muỗi [3], [4], tuy nhiên ở Việt Nam có rất ít nghiên cứu hiệu quả bảo vệ của tinh dầu Tràm. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm xác định nồng độ cũng như thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* của tinh dầu Tràm *Melaleuca cajuputi* powell chiết xuất tại Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng: + Muỗi *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) chủng phòng thí nghiệm.

+ Muỗi *Aedes aegypti* chủng thực địa: muỗi, bọ gậy *Aedes* được bắt tại 4 quận/huyện ở Hà Nội: Đống Đa, Hoàng Mai, Thường Tín, Hoài Đức. Các chủng được nhân nuôi từ bọ gậy trong phòng thí nghiệm. Muỗi thử nghiệm là thế hệ F2, muỗi cái khỏe, đủ chân, cánh, bay bình thường, từ 2-5 ngày tuổi, không cho ăn trước thử nghiệm 12 giờ.

Người tình nguyện: tình nguyện viên tham gia nghiên cứu có sức khỏe bình thường, không có tiền sử dị ứng với muỗi đốt hay tinh dầu Tràm và tự nguyện tham gia nghiên cứu. Đã được giải thích, hướng dẫn về quy trình thực hiện và sự khó chịu có thể xảy ra trong quá trình thí nghiệm, không sử dụng nước hoa, hóa chất xua muỗi, hút thuốc lá hoặc dầu bôi trên da trước thử nghiệm 12 giờ.

- Vật liệu: tinh dầu Tràm nguyên chất (*Melaleuca cajuputi oil*) do công ty Cổ phần tinh dầu Việt Nam (Vietnam Essential Oil., JDC) cung cấp với hàm lượng Cineole 1,8 đạt 60,6%.

Hóa chất pha (dung môi): ethanol, dầu dừa

Dụng cụ: hộp thử nghiệm xác định liều bảo vệ khỏi muỗi đốt (liều xua) được thiết kế theo mẫu K&D Module có cải tiến, được làm từ kính mica, 1 block gồm 2 hộp, mỗi hộp kích thước đáy 4x5 và cao 5cm, mặt trước có lỗ tròn đường kính 1cm để chuyển muỗi

vào, mặt đáy có cửa trượt [5], [6].

Lồng thử nghiệm xác định thời gian bảo vệ khỏi muỗi đốt (thời gian bảo vệ): khung bằng dây thép, hình lập phương, kích thước 30x30x30 cm, vỏ lồng bằng màn tuyn kích thước 32-36 lỗ/cm², cửa lồng có tay áo để ngăn không cho muỗi bay ra ngoài [7].

Găng tay: cao su để bảo vệ cẳng tay người thử nghiệm khỏi bị muỗi đốt, trên găng tay cắt một ô hình chữ nhật kích thước 3x10cm để bộc lộ da vùng cẳng tay cho thử nghiệm (hình 2).

Dụng cụ khác: pipet, giấy thấm kích thước 12x15cm...

- Thời gian nghiên cứu: tháng 7/2018 – 12/2020.

- Địa điểm nghiên cứu: labo Côn trùng – Bộ môn Ký sinh trùng và Côn trùng, Học viện Quân y

2.2. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

- Xác định liều bảo vệ của tinh dầu Tràm

Trong mỗi thí nghiệm, cho 05 muỗi vào một hộp thử để xác định liều bảo vệ. Để nơi yên tĩnh 30 phút trước khi tiến hành thử nghiệm.

Cách pha tinh dầu cho một diện tích thử: pha tinh dầu Tràm trong ethanol sao cho bôi 40μl dung dịch thử nghiệm lên vùng da thử có diện tích bằng đáy hộp thử nghiệm (20cm²), đạt các nồng độ C0 = 0 μl/cm², C1 = 0,005 μl/cm², C2 = 0,01 μl/cm², C3 = 0,02 μl/cm², C4 = 0,05 μl/cm², C5 = 0,1 μl/cm².

Tiến hành: Người tình nguyện bộc lộ vùng đùi, dùng cồn 70° khử mùi. Dùng bút vẽ lên vùng da đùi (Hình 1) các ô chữ nhật tương ứng với kích thước hộp thử nghiệm. Dùng pipet nhỏ 40μl dung dịch đối chứng (ethanol) và dung dịch thử nghiệm (tinh dầu pha trong ethanol) lên vùng da đã được đánh dấu tương ứng và dàn đều, để khô tự nhiên trong 5 phút. Sau đó đặt các hộp muỗi đã chuẩn bị sẵn lên vùng đã bôi dung dịch thử nghiệm, kéo nắp trượt cho muỗi tiếp xúc với da trong 3 phút. Quan sát số lần muỗi đậu/đốt ở mỗi hộp thử nghiệm. Ghi lại kết quả. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Liều có hiệu quả bảo vệ là liều thử nghiệm thấp nhất có số muỗi đậu/đốt giảm có ý nghĩa so với ô chứng.

Hình 1. Thử nghiệm xác định liều bảo vệ của tinh dầu



- Nghiên cứu thời gian bảo vệ của tinh dầu Tràm

Thử nghiệm theo phương pháp của K&D [5]. Chuyển 250 muối vào lồng thử nghiệm, để nơi yên tĩnh 30 phút trước khi tiến hành.

Người tình nguyện: đi găng tay đã chuẩn bị ở trên. Dùng pipet nhỏ 60 µl dung dịch đối chứng (ethanol) vào tay trái lên vùng da không bị găng tay che, dàn đều, để khô tự nhiên trong 5 phút. Cho tay đối chứng vào lồng thử nghiệm trong 3 phút, khi có 2 muối đậu/đốt thì bỏ tay ra và chuẩn bị để làm với tay thử nghiệm. Nếu trong 3 phút không có muối nào đậu/đốt thì cũng bỏ tay ra và

chờ 30 phút rồi lặp lại. Trường hợp lặp lại rồi mà vẫn không có muối nào đậu/đốt trong 3 phút thì kết thúc thử nghiệm và làm lại vào hôm khác. Tay thử nghiệm (tay phải) được chuẩn bị như tay đối chứng tuy nhiên thay dung dịch đối chứng bằng dung dịch thử nghiệm (lần lượt với các nồng độ từ C1 tới C5). Thử nghiệm được thực hiện trong 3 phút, sau đó bỏ tay ra khỏi lồng thử nghiệm, đợi 30 phút rồi lặp lại. Thử nghiệm dừng khi có ít nhất 2 muối đậu/đốt trong 3 phút ở tay thử nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Thời gian tác dụng bảo vệ tính bằng phút, được tính từ khi bôi tinh dầu cho đến khi dừng thử nghiệm.

Hình 2. Thử nghiệm xác định thời gian bảo vệ của tinh dầu



- Xử lý số liệu: bằng phần mềm excel 2016. Kiểm định thống kê: T - Test

- Đạo đức nghiên cứu: đề tài đã được hội đồng y đức Học viện Quân y chấp thuận (quyết định số 4752/QĐ-

HVQY ngày 28 tháng 12 năm 2017).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Bảng 1. Liều bảo vệ của tinh dầu Tràm với muỗi *Aedes aegypti* chủng phòng thí nghiệm

Liều lượng tinh dầu Tràm ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	Số lần muỗi đậu/ đốt Mean \pm SD
C0 - 0	7,2 \pm 2,5
C1 - 0,005	6,7 \pm 0,6
C2 - 0,01	6,7 \pm 2,7
C3 - 0,02	2,3 \pm 0,6
C4 - 0,05	0,0 \pm 0,0
C5 - 0,1	0,0 \pm 0,0
p	$p_{c_0, c_{1,2}} > 0,05$ $p_{c_0, c_{3,4,5}} < 0,05$

Nhận xét: Số lần muỗi đậu/đốt ở hộp bôi dung dịch đối chứng (ethanol) trung bình 3 lần thử nghiệm là 7,2.

Liều có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng phòng thí nghiệm đốt là 0,02 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$.

Bảng 2. Liều bảo vệ của tinh dầu Tràm với muỗi *Aedes aegypti* chủng thực địa

Liều lượng tinh dầu Tràm ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$)	Số lần muỗi đậu/ đốt Mean \pm SD
C0 - 0	8,4 \pm 2,5
C1 - 0,005	8,2 \pm 5,1
C2 - 0,01	7,0 \pm 3,5
C3 - 0,02	4,4 \pm 2,1
C4 - 0,05	0,0 \pm 0,0
C5 - 0,1	0,0 \pm 0,0
p	$p_{c_0, c_{1,2,3}} > 0,05$ $p_{c_0, c_{4,5}} < 0,05$

Nhận xét: Số lần muỗi đậu/đốt ở nhóm chứng và nhóm thử nghiệm tại liều C1, C2, C3 là không có sự khác biệt ($p > 0,05$) nhưng từ liều C4 (0,05 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$) số lần muỗi

đậu đốt giảm đi đáng kể với $p < 0,05$. Như vậy, chỉ với 0,05 μl tinh dầu Tràm trên 1 cm^2 đã có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng thực địa đốt.

Bảng 3. Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng phòng thí nghiệm của tinh dầu Tràm pha loãng trong ethanol

Thời gian (phút)		Số lần muỗi đậu/đốt	
		Ethanol	Ethanol + tinh dầu Tràm
<i>Aedes aegypti</i>	0+3p	4,6	0
	30+3p	-	5,5

Ghi chú: “-“ là dừng thử nghiệm

nghiệm tối đa là 33 phút. Thời gian này là quá ngắn cho một chất bảo vệ.

Nhận xét: tinh dầu Tràm pha loãng trong ethanol có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* chủng phòng thí

Bảng 4. Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng thực địa của tinh dầu Tràm pha loãng trong ethanol

Thời gian (phút)		Số lần muỗi đậu/đốt	
		Ethanol	Ethanol + tinh dầu Tràm
<i>Aedes aegypti</i>	0+3p	3,9	0
	30+3p	-	4,8

Ghi chú: “-“ là dừng thử nghiệm

dụng bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* chủng thực địa tối đa là 33 phút.

Nhận xét: tinh dầu Tràm pha loãng trong ethanol có tác

Bảng 5. Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng phòng thí nghiệm của tinh dầu Tràm pha loãng trong dầu dừa

Thời gian (phút)	Số lần muỗi đậu/đốt	
	Dầu dừa	Dầu dừa + tinh dầu Tràm
0+3 phút	3,3	0
30+3 phút	-	0
60+3 phút	-	0
90+3 phút	-	0
120+3 phút	-	0,7
150+3 phút	-	1,3
180+3 phút	-	1,7
210+3 phút	-	2,3
240+3 phút	-	-

Ghi chú: “-“ là dừng thử nghiệm

phòng thí nghiệm là 210+3 phút. Thời gian này đã tăng lên đáng kể so với tinh dầu Tràm pha loãng bằng cồn.

Nhận xét: Thời gian có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi của tinh dầu Tràm/dầu dừa đối với loài *Aedes aegypti* chủng



Bảng 6. Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng thực địa của tinh dầu Tràm pha loãng trong dầu dừa

Thời gian (phút)	Số lần muỗi đậu/đốt	
	Dầu dừa	Dầu dừa + tinh dầu Tràm
0+3 phút	2,7	0
30+3 phút	-	0
60+3 phút	-	0
90+3 phút	-	0,3
120+3 phút	-	0,7
150+3 phút	-	1,5
180+3 phút	-	1,9
210+3 phút	-	2,7
240+3 phút	-	-

Ghi chú: “-“ là dừng thử nghiệm

Nhận xét: Thời gian có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi của tinh dầu Tràm/dầu dừa đối với loài *Aedes aegypti* chủng thực địa là 210+3 phút. Như vậy, thời gian bảo vệ của tinh dầu Tràm/dầu dừa là như nhau ở cả 2 chủng muỗi *Aedes aegypti*.

4. BÀN LUẬN

Các sản phẩm chống côn trùng sử dụng hiện nay rất đa dạng về hình thức và thành phần nhưng chủ yếu được sản xuất từ các hóa chất tổng hợp như Diethyltoluamide (DEET)... tiềm ẩn độc tính và nguy cơ gây dị ứng. Trong tự nhiên có nhiều loại tinh dầu có tác dụng xua đuổi muỗi khá tốt như tinh dầu Tràm, tinh dầu Sả chanh, tinh dầu Hương thảo... [8] plant products were used in various aspects. However, their use against pests decreased when chemical products became developed. Recently, concerns increased with respect to public health and environmental security requiring detection of natural products that may be used against insect pests. In this study, 41 plant extracts and 11 oil mixtures were evaluated against the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (Linnaeus). Tinh dầu Tràm có thành phần hóa học chống lại một số vi khuẩn, nấm, virus và muỗi đã được Christine Patramurti tổng hợp công bố năm 2020 [9]. Thành phần hóa học của tinh dầu Tràm có sự thay đổi tùy vào vùng địa lý và các loài

tràm khác nhau, loài muỗi *Aedes* cũng có tập tính, sinh thái thay đổi theo từng thời kỳ và vùng địa lý. Nghiên cứu này bước đầu xác định sự nhạy cảm của muỗi *Ae. aegypti* khu vực Hà Nội với tinh dầu Tràm được trồng và chưng cất ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu ở bảng 1 và 2 cho thấy tinh dầu Tràm được thu hái và sản xuất ở Việt Nam có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng phòng thí nghiệm ở nồng độ 0,02µl/cm², chủng thực địa là 0,05µl/cm².

Kết quả bảng 3 và 4 cho thấy tinh dầu Tràm pha loãng trong ethanol có thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* rất ngắn (cả chủng thực địa và chủng phòng thí nghiệm là 33 phút) khó có thể đáp ứng được thời gian bảo vệ cần thiết. Nhiều nghiên cứu đã sử dụng các dung môi khác nhau để kéo dài thời gian bảo vệ của tinh dầu Tràm. Nghiên cứu của Amer và cộng sự (2006) cho thấy thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* khi kết hợp tinh dầu Tràm nồng độ 20% với hợp chất dung môi (genapol, ethanol, PEG) là 360 phút [8] plant products were used in various aspects. However, their use against pests decreased when chemical products became developed. Recently, concerns increased with respect to public health and environmental security requiring detection of natural products that may be used against insect pests. In this study, 41 plant extracts and 11 oil mixtures were evaluated against the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (Linnaeus). Tawatsin và cộng sự (2006) khi pha tinh dầu Tràm 10% trong dung môi là vanillin và ethanol cho thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Ae.*

aegypti là 126 phút với thời gian phơi nhiễm là 1 phút chứ không phải 3 phút như nghiên cứu này [10]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, dung môi sử dụng là dầu dừa vì đây là loại dược liệu rẻ tiền, dễ kiếm ở Việt Nam, có một số nghiên cứu cho thấy có độ an toàn khi sử dụng và hơn hết, dầu dừa có tác dụng kim hãm sự bay hơi của tinh dầu do đó làm tăng thời gian bảo vệ khỏi muỗi đốt [3]. Kết quả bảng 1 và 2 cho thấy muỗi *Aedes aegypti* ở cả chủng thực địa và chủng phòng thí nghiệm ở liều 0,05µl/cm² hầu như không còn lần đậu/đốt nào, vì vậy liều lượng này được dùng trong thử nghiệm xác định thời gian bảo vệ khỏi muỗi đốt.

Kết quả bảng 5 và 6 cho thấy, thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* đốt của tinh dầu Tràm pha trong dầu dừa kéo dài hơn so với khi pha trong ethanol (tăng lên ít nhất 5 lần). Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* cả chủng thực địa và chủng phòng thí nghiệm là 180 +3 phút. Như vậy, khi pha tinh dầu Tràm trong các dung môi khác nhau thì cho thời gian bảo vệ khác nhau. Cả tinh dầu Tràm và dầu dừa đều là dược liệu rất phong phú ở nước ta, chất lượng tốt, giá thành rẻ nên có tiềm năng ứng dụng để điều chế thành hợp chất bảo vệ tránh muỗi đốt hiệu quả và kinh tế.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu tác dụng bảo vệ của tinh dầu Tràm với muỗi *Aedes aegypti*, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

- Nồng độ tinh dầu Tràm có tác dụng bảo vệ khỏi muỗi *Aedes aegypti* chủng thực địa đốt là 0,05 µl/cm²; chủng phòng thí nghiệm 0,02 µl/cm².
- Thời gian bảo vệ khỏi muỗi *Ae. aegypti* chủng phòng thí nghiệm và chủng thực địa của tinh dầu Tràm nồng độ 0,05 µl/cm² (tương ứng 2,5%) trong dung môi ethanol là 33 phút, trong dung môi dầu dừa là 210 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] WHO (2021) Dengue và sốt xuất huyết Dengue. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- [2] Rasli R, Cheong YL, Che Ibrahim MK et al., Insecticide resistance in dengue vectors from hotspots in Selangor, Malaysia. PLoS Negl Trop Dis 15:e0009205. org/10.1371/journal.pntd.0009205, 2021.
- [3] Trongtokit Y, Rongsriyam Y, Komalamisra N et al., Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. Phytother Res 19:303–309. org/10.1002/ptr.1637, 2005.
- [4] Noosidum A, Prabaripai A, Chareonviriyaphap T et al., Excito-repellency properties of essential oils from *Melaleuca leucadendron* L., *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon, and *Litsea salicifolia* (Nees) on *Aedes aegypti* (L.) mosquitoes. J Vector Ecol 33:305–312. org/10.3376/1081-1710-33.2.305, 2008.
- [5] Klun JA, Kramer M, Debboun M, A NEW IN VITRO BIOASSAY SYSTEM FOR DISCOVERY OF NOVEL HUMAN-USE MOSQUITO REPELLENTS 1. Journal of the American Mosquito Control Association 21:64–70. org/10.2987/8756-971X(2005)21[64:ANIVBS]2.0.CO;2005.
- [6] Phasomkusolsil S, Soonwera M, Comparative mosquito repellency of essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 1:S113–S118. org/10.1016/S2221-1691(11)60136-6, 2011.
- [7] Bộ môn Sốt rét - Ký sinh trùng và Côn trùng, Học viện Quân y, Thực hành ký sinh trùng và côn trùng y học. Quân đội nhân dân, Hà Nội, 2011
- [8] Amer A, Mehlhorn H, Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. Parasitol Res 99:478–490. org/10.1007/s00436-006-0184-1, 2006.
- [9] Patramurti C, Amin R, Nastiti CMRR, A Review on the Potency of *Melaleuca leucadendron* Leaves Solid Waste in Wood Preservation and Its In Silico Prediction upon Biological Activities. International Journal of Forestry Research 2020:e8885259. org/10.1155/2020/8885259, 2020.
- [10] Tawatsin A, Thavara U, Wongsinkongman P et al., Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors (Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health 37:915–31, 2006.



EFFICACY OF THE CHLOROQUINE REGIMEN IN THE TREATMENT FOR *PLASMODIUM VIVAX* MALARIA AT KRONG PA DISTRICT, GIA LAI PROVINCE (2018-2020)

Ly Chanh Ty^{1,*}, Hoang Dinh Canh², Tran Thanh Duong², Trieu Nguyen Trung¹

¹Institute of Malariology, Parasitology, and Entomology Quy Nhon - 611B Nguyen Thai Hoc, Nguyen Van Cu, Qui Nhon, Binh Dinh, Vietnam

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

Received 29/11/2022

Revised 30/12/2022; Accepted 01/02/2023

ABSTRACT

Objective: In Krong Pa district's malaria endemic zone with recent epidemiology data have shown that *Plasmodium vivax* largely predominates over or equal to *P. falciparum*, and limited antimalarial drug response of *P. vivax* malaria data.

Subjects and methods: An non-randomized controlled clinical trial was conducted to evaluate the clinical efficacy and tolerance of chloroquine to treat *P. vivax* malaria. Total of 90 *P. vivax* malaria cases were enrolled in this trial and 42 days followed-up as per WHO protocol (2009).

Result: Showed that proportion of adequate clinical and parasitological response (98.9%), late clinical treatment (1.1%), positive asexual *P. vivax* parasitemia after 24, 48 and 72 hours were 91.1%, 11.1% and 0%, respectively; average asexual *P. vivax* density on D₀ was 16,397/μL, since first CQ dose administration, on day D₁ (3.293/μL), D₂ (110.5/μL), and D₃ (0/μL). The mean parasite clearance time and fever clearance time were 36 and 24 hours, respectively, mean time for parasite biomass 50% clearance was 3.50 hours (<5.2 hours as per protocol). Several adverse events including of headache, dizziness (10%), abdomen discomfort, nausea, loss of appetite (2.2%), skin rash, itch (1.1%), alopecia (1.1%).

Conclusion: These findings suggest that the first-line chloroquine may still have an important role to play in antimalarial therapy for *P. vivax* malaria.

Key words: Treatment efficacy, chloroquin, *P. vivax*.

*Corresponding author

Email address: lychanhty@gmail.com

Phone number: (+84) 975 823 444

HIỆU LỰC PHÁC ĐỒ CLOROQUIN TRONG ĐIỀU TRỊ SỐT RÉT *PLASMODIUM VIVAX* TẠI HUYỆN KRÔNG PA, TỈNH GIA LAI (2018-2020)

Lý Chanh Ty^{1,*}, Hoàng Đình Cảnh², Trần Thanh Dương², Triệu Nguyên Trung¹

¹*Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Quy Nhơn - 611B Nguyễn Thái Học, Nguyễn Văn Cừ, thành phố Quy Nhơn, Bình Định, Việt Nam*

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

Ngày nhận bài: 29 tháng 11 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 30 tháng 12 năm 2022; Ngày duyệt đăng: 01 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Với dữ liệu dịch tễ học tại vùng sốt rét lưu hành của huyện Krông Pa gần đây chỉ ra tỷ lệ *Plasmodium vivax* chiếm ưu thế hơn hoặc bằng so với *P. falciparum* và dữ liệu hiệu lực đáp ứng thuốc của loài *P. vivax* còn hạn hữu.

Đối tượng và phương pháp: Một thử nghiệm lâm sàng không ngẫu nhiên, không đối chứng được tiến hành nhằm đánh giá hiệu lực và tính dung nạp thuốc chloroquine (CQ) trong điều trị *P. vivax*. Tổng số 90 bệnh nhân nhiễm *P. vivax* được điều trị CQ và theo trong 42 ngày theo đề cương của WHO (2009).

Kết quả: Tỷ lệ đáp ứng lâm sàng và ký sinh trùng đầy đủ (98,9%), thất bại lâm sàng muộn (1,1%). Tỷ lệ bệnh nhân còn thể vô tính *P. vivax* sau 24; 48 và 72 giờ lần lượt 91,1%, 11,1% và 0%; mật độ thể vô tính *P. vivax* trung bình ngày D₀ là 16.397/ μ L, sau điều trị D₁ giảm còn 3.293/ μ L, D₂ còn 110,5/ μ L, D₃ là 0/ μ L; Thời gian làm sạch KST và cắt sốt trung bình lần lượt là 36 giờ và 24 giờ. Thời gian làm sạch 50% dung khối *P. vivax* là 3,50 giờ (<5,2 giờ). Một số biến cố bất lợi xảy ra khi uống CQ như đau đầu, chóng mặt (10%), đau bụng, buồn nôn, chán ăn (2,2%), ban đỏ da, ngứa (1,1%), rụng tóc (1,1%).

Kết luận: Thuốc ưu tiên chloroquine vẫn còn là liệu pháp thuốc sốt rét quan trọng trong điều trị *P. vivax*.

Từ khóa: Hiệu lực điều trị; chloroquin, *P. vivax*.

*Tác giả liên hệ

Email address: lychanhty@gmail.com

Điện thoại: (+84) 975 823 444



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Toàn cầu đã và đang thực hiện lộ trình tiến tới loại trừ sốt rét (LTSR) [1]. Tại Việt Nam, thành quả LTSR đang đạt được có sự góp phần quan trọng của thuốc có hiệu lực cao, nhưng dưới áp lực thuốc và kháng thuốc nên khâu giám sát tính nhạy-kháng là một khâu then chốt, không chỉ đối với *P. falciparum* đa kháng thuốc, mà cả *P. vivax* cũng đã giảm nhạy hoặc kháng với chloroquin (CQ) tại nhiều nước trong khu vực như Campuchia, Thái Lan, Myanmar, Indonesia, Đông Timor, Ấn Độ [2], và Việt Nam khó tránh khỏi vì CQ hiện vẫn là thuốc đầu tay điều trị *P. vivax* [3],[4]. Đặc biệt thuốc này đã có gần 70 năm dùng với nhiều mục đích khác nhau, đến nay đã ghi nhận một số ca thất bại điều trị do *P. vivax* như chỉ điểm cảnh báo kháng [5],[6]. Do đó, giám sát hiệu lực thuốc CQ trên bệnh nhân sốt rét *P. vivax* sẽ góp phần bổ sung dữ liệu và cơ sở thay đổi chính sách thuốc mới.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Bệnh nhân mắc SR do *P. vivax* chưa biến chứng;
- Thuốc CQ viên nén 250mg, lô SX: 17001CN, NSX: 17.02.2017, HSD: 17.2.2022, SĐK:VD-15025-11, do Công ty CPHDP Mekophar cung cấp.

2.2. Địa điểm

Chọn tất cả bệnh nhân trong toàn huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai.

2.3. Thời gian: Từ năm 2018-2020.

2.4. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng *in vivo*, không ngẫu nhiên, không đối chứng theo dõi 42 ngày đánh giá hiệu lực thuốc theo đề cương WHO (2009).

2.5. Cỡ mẫu

Với tỷ lệ thất bại điều trị từ nghiên cứu trước là 3,7% (Phạm Vĩnh Thanh, 2015), nên chọn $p \approx 5\%$, với khoảng tin cậy 95%, độ chính xác (d) là 0,05, khi đó cỡ mẫu tối thiểu tính được $n=73$. Để tránh tình trạng mất mẫu trong 42 ngày theo dõi, nên cộng thêm 20%, nên cỡ mẫu tối thiểu cuối cùng là $n \# 88$ ca.

Bảng 2.1. Cỡ mẫu tối thiểu dựa trên tỷ lệ thất bại điều trị (WHO, 2009)

Tỷ lệ thất bại ước tính trong quần thể (p), CI 95%										
d	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50
0,05	73	138	196	246	288	323	350	369	380	384
0,10	18	35	49	61	72	81	87	92	95	96

2.6. Phân tích số liệu

Số liệu nghiên cứu được phân tích dựa trên phần mềm *in vivo* (V7.1, WHO 2009)

3. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm chung nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Bảng 3.1. Một số đặc điểm về quần thể bệnh nhân nghiên cứu TES

TT	Đặc điểm nhóm nghiên cứu	Thời điểm bắt đầu nghiên cứu D ₀	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Tổng số người sàng lọc	1908	
	Số bệnh nhân có KSTSR (+)	453	23,7
	Số bệnh nhân có KSTSR (-)	1455	76,3
2	Cơ cấu KSTSR trong số (+)	453	
	<i>P. falciparum</i>	337	74,4
	<i>P. vivax</i>	109	24,1
	<i>P. malariae</i>	01	0,2
	<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	06	1,3
3	Tổng số ca <i>P. vivax</i> dương tính	109	
	Số ca đủ tiêu chuẩn nghiên cứu	90	82,6
	Số ca loại khỏi nghiên cứu TES	19	17,4

Tỷ lệ nhiễm KSTSR chung là 23,7%, trong đó *P. falciparum* (974,4%), *P. vivax* (24,1%), nhiễm phối hợp *P. falciparum*+*P. vivax* (1,3%) và *P. malariae* (0,2%). Số ca nhiễm *P. vivax* đủ tiêu chuẩn đưa vào nghiên cứu là 90 ca.

Bảng 3.2. Đặc điểm lâm sàng và tiền sử sốt bệnh nhân nghiên cứu

TT	Đặc điểm bệnh nhân (n=90)	Thời điểm bắt đầu vào ngày D ₀	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Thân nhiệt và cân nặng		Min-Max
	Nhiệt độ trung bình (SD) ^o C	39,0 (0,6)	37,5-40,6
	Cân nặng trung bình (SD)kg	60,3 (7,6)	25-72
	Số ngày có triệu chứng trước D ₀		
	1 ngày	54	60,0
2 ngày	17	18,9	
3 ngày	19	21,1	
2	Số ca có sốt và tiền sử có sốt		
	Nhiệt độ ở tai lúc D ₀ ≥37,5 ^o C	57	63,3
	Tiền sử có sốt (trong 48 giờ)	78	86,7
3	Tình trạng lách		
	Lách lớn (≥độ II)	16	17,7

Thời điểm trước khi điều trị CQ, bệnh nhân có nhiệt độ trung bình (39,0±0,6)^oC, cân nặng trung bình (60,3±7,6) kg, phần lớn BNSR có sốt khi đến khám (63,3%) và có tiền sử có sốt trong vòng 48 giờ (86,7%), tỷ lệ ca có lách lớn (17,7%).



Bảng 3.3. Đặc điểm về KST P. vivax và huyết học trên bệnh nhân

Đặc điểm bệnh nhân (n=90)	Thời điểm bắt đầu vào nghiên cứu D ₀	
	Số lượng	Min-Max
Mật độ KSTSR trung bình		
- MĐKST thể vô tính/μl	7.151	690-60.041
- Số bệnh nhân có giao bào	73	81,1%
Thông số huyết học (TB)		
- Nồng độ haemoglobin (g/dL)	11,7 (2,78)	9,2-12,3
- Haematocrit (%)	36,8 (7,27)	35,9-42,2

Mật độ thể vô tính trước điều trị (D₀) là 7151/μL, số ca có giao bào *P. vivax* (81,1%). Nồng độ Hb trung bình 11,7 g/dL và haematocrite trung bình là 36,8%.

3.2. Hiệu lực phác đồ CQ trong điều trị bệnh nhân SR do P. vivax

Bảng 3.4. Hiệu lực phác đồ CQ đối với SR do P. vivax

Thông số đánh giá hiệu lực		Hiệu lực (n=90)	
		SL(%)	CI95%
Hiệu lực	Thất bại điều trị sớm (ETF)	0	0
	Thất bại lâm sàng muộn (LCF)	1 (1,1)	0,0-6,0
	Thất bại ký sinh trùng muộn (LPP)	0	0
	Đáp ứng lâm sàng và KSTSR đầy đủ (ACPR)	89 (98,9)	94-100

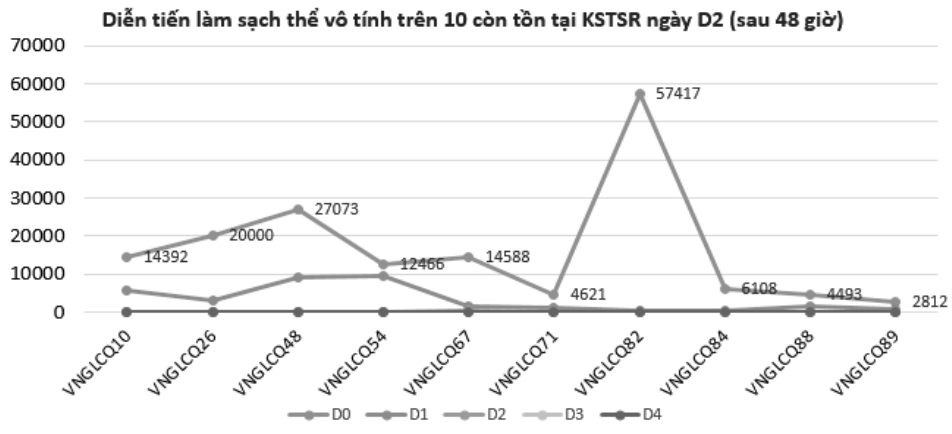
Tỷ lệ đáp ứng lâm sàng và KST đầy đủ (98,9%) và chỉ có 1 ca (1,1%) thất bại điều trị lâm sàng muộn.

Bảng 3.5. Phân tích trường hợp còn tồn tại thể vô tính P. vivax ngày D3

Tổng số ca phân tích(n=90)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Số trường hợp tồn tại KSTSR ở ngày D ₁	82	91,1
Số trường hợp tồn tại KSTSR ở ngày D ₂	10	11,1
Số trường hợp tồn tại KSTSR ở ngày D ₃	0	0
Số trường hợp tồn tại KSTSR sau ngày D ₄	0	0

Diễn tiến sạch KSTSR thể vô tính *P. vivax* sau điều trị cho thấy sau 24 giờ còn 91,1% còn thể vô tính, đến 48 đến còn lại 11,1% và đến 72 giờ sạch hoàn toàn.

Hình 3.1. Diễn biến mật độ số ký sinh trùng *P. vivax* trước và sau điều trị CQ 3 ngày



Bảng 3.6. Diễn tiến và tốc độ làm sạch ký sinh trùng *P. vivax* từ D0 đến \geq D3

Mã bệnh nhân					Diễn tiến làm sạch KST <i>P. vivax</i>				
TT	Mã số	Tuổi		Kg	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄
		Nam	Nữ						
1	10GLCQ		15	46	14392	5742	96	0	0
2	26GLCQ	24		61	20000	3009	16	0	0
3	48GLCQ	40		65	27073	9281	119	0	0
4	54GLCQ	24		55	12466	9472	79	0	0
5	67GLCQ	14		48	14588	1584	239	0	0
6	71GLCQ	15		52	4621	1025	159	0	0
7	82GLCQ	25		60	57417	277	80	0	0
8	84GLCQ	20		63	6108	239	80	0	0
9	88GLCQ	16		49	4493	1560	118	0	0
10	89GLCQ	33		62	2812	749	119	0	0
MĐKSTSR trung bình/ μ L \rightarrow Giảm dần					16.397	3.293	110,5	0	0

Số liệu cho thấy chỉ có 10 ca (11,1%) còn tồn tại thể vô tính *P. vivax* sau điều trị ở thời điểm D₂. Tính riêng từng ca bệnh thì mật độ *P. vivax* từng thời điểm D₀ đều

không ca, trung bình mật độ ngày D₀ là 16.397/ μ L, đến ngày D₁ giảm còn 3.293/ μ L, đến D₂ chỉ 110,5/ μ L và D₃ là zero.

Bảng 3.7. Hiệu lực CQ trong việc làm sạch ký sinh trùng P. vivax và cắt sốt

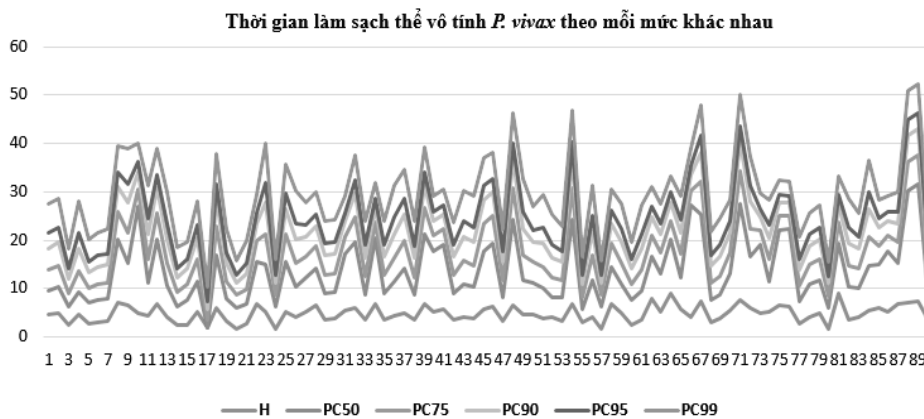
TT	Tổng số ca phân tích (n=90)	Thông số trung bình
1	Mật độ KSTSR/ μ l ngày D ₀	7.151 (690-60.041)
2	Thời gian sạch KST trung bình (median [IQR]-PCT)	36 (30-48)
3	Thân nhiệt ngày D ₀ (°C)	39,0 (0,6) 37,5-40,6
4	Thời gian cắt sốt trung bình (median [IQR]-FCT)	24 (12-35)

Thời gian sạch KST trung bình 36 giờ và cắt sốt trung bình là 24 giờ.

Bảng 3.8. Thời gian và tốc độ làm sạch KSTSR thể vô tính P. vivax

Slope half-life	Diễn tiến sạch thể vô tính P. vivax sau điều trị				
	PC50	PC75	PC90	PC95	PC99
3,502	8,858	12,605	16,397	18,815	23,595

Hình 3.2. Diễn tiến sạch thể vô tính P. vivax ở mức PC50, PC75, PC90, PC95, PC99



Thời gian làm sạch 50% lượng KST P. vivax chung là 3,5024 giờ (<5,2 giờ) và không có ca nào vượt 60 giờ để làm sạch thể vô tính.

3.3. Một số biến cố bất lợi trên bệnh nhân dùng thuốc CQ

Bảng 3.9. Biến cố bất lợi của thuốc CQ trên bệnh nhân

Một số biến cố bất lợi (n=90)	Số ca	Tỷ lệ (%)	Thời điểm (ngày....)
Đau đầu, chóng mặt	9	10	D ₁ -D ₃
Buồn nôn, nôn, chán ăn	2	2,2	D ₁ -D ₃
Đau bụng, rối loạn tiêu hóa	2	2,2	D ₁ -D ₃
Ban đỏ, ngứa	1	1,1	D ₃ -D ₇
Rụng tóc	1	1,1	D ₃ -D ₇

Sau khi dùng CQ, một số biến cố bất lợi xuất hiện như đau đầu, chóng mặt (10%), đau bụng buồn nôn, chán ăn (2,2%), ban đỏ da, ngứa (1,1%), rụng tóc (1,1%).

Bảng 3.10. Thông số huyết học ngày D₀ và sau dùng CQ tại ngày D₇

Thông số huyết học	Ngày D ₀		Ngày D ₇	
	Mean (SD)	Min-Max	Mean (SD)	Min-Max
Hồng cầu (G/l)	4,9 (0,7)	2,9-7,2	0,7 (0,9)	2,5-4,7
Hb (g/dL)	11,7 (2,8)	8,3-19,8	0,8 (1,5)	6,1-6,7
Hct (%)	36,8 (7,3)	32,9-52,2	1,8 (7,2)	19,9-43,5
Bạch cầu (G/l)	6,9 (4,2)	1,6-55,0	1,2 (4,6)	7,8-10,3
Tiểu cầu (G/l)	106,3 (62,8)	144,6-340,0	170,2 (108,5)	111,0-613,0

Các thông số huyết học trước khi điều trị D₀ và D₇ cho thấy các chỉ số hồng cầu, Hb, Hct, bạch cầu, tiểu cầu không có sự thay đổi đáng kể.

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu hiệu lực phác đồ

Dữ liệu phân tích của 90 bệnh nhân tham gia nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng cho thấy vào thời điểm trước khi uống thuốc thử nghiệm CQ (D₀) có thân nhiệt trung bình là 39,0±0,6°C, cân nặng là 60,3±7,6 kg. Phần lớn bệnh nhân có sốt khi đến khám tại cơ sở y tế (63,3%) hoặc có tiền sử có sốt trong vòng 48 giờ (86,7%). Tỷ lệ bệnh nhân có lách lớn từ độ 2 trở lên (17,7%). Mật độ KSTSR thể vô tính của nhóm bệnh nhân là 7151/μl và số bệnh nhân có giao bào *P. vivax* trong máu đồng thời với thể vô tính (81,1%), nồng độ Hb trung bình là 11,7 (g/dL) và tỷ lệ Hct trung bình là 36,8%, không có trường hợp nào biểu hiện thiếu máu nặng và đây là các thông số đủ điều kiện tiêu chuẩn tham gia quá trình

uống thuốc CQ theo dõi 42 ngày trên từng bệnh nhân.

4.2. Hiệu lực phác đồ CQ trong điều trị bệnh nhân sốt rét *P. vivax*

Về hiệu lực phác đồ CQ trong điều trị 90 bệnh nhân tham gia nghiên cứu cho thấy tỷ lệ đáp ứng lâm sàng và KST đầy đủ (98,9%) và chỉ có (1,1%) thất bại điều trị lâm sàng muộn. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu trong nước trên cùng điểm hoặc khác điểm nhưng cùng một địa bàn tỉnh [7],[8],[9]. Theo dõi diễn tiến quá trình làm sạch KSTSR thể vô tính của *P. vivax* cho thấy sau 24 giờ, có (91,1%) còn thể vô tính, sau đó 48 đến giờ chỉ còn lại (11,1%) còn tồn tại thể vô tính, nhưng sang đến 72 giờ thì không còn ca nào tồn tại thể vô tính của *P. vivax*. Tốc độ làm sạch KST *P. vivax* từ D₀ đến ≥D₃ chỉ có (11,1%) tồn tại thể vô tính *P. vivax* ở thời điểm D₂, đến D₃ thì không còn nữa. Tính riêng từng ca bệnh thì mật độ *P. vivax* từng thời điểm D₀ tất cả ca này đều không cao, chưa vượt quá ngưỡng 100.000/μL, trung bình mật độ các ca ngày D₀ là 16.397/μL, sau điều trị ngày D₁ giảm xuống còn 3.293/μL, đến ngày D₂, trung bình chỉ là 110,5/μL và ngày D₃ không còn ca nào tồn tại thể vô tính nữa. Điều này tương tự như các

ngiên cứu ở vùng Brazil Amazon cũng cho thấy diễn tiến làm sạch ký sinh trùng nhanh do các thể tự dưỡng còn nhạy với thuốc CQ [10]. Thời gian sạch KST trung bình là 36 giờ và thời gian cắt sốt trung bình trên lâm sàng là 24 giờ. Phân tích chi tiết từng thời điểm từ khi dùng thuốc CQ trên lâm sàng và theo dõi diễn tiến làm sạch KST thể vô tính của *P. vivax* cho thấy chỉ số K là 0,1979, thời gian làm sạch 50% dung khối KST *P. vivax* chung là 3.5024 giờ (<5,2 giờ). Đặc biệt không có ca nào vượt quá 60 giờ để làm sạch KSTSR thể vô tính của *P. vivax*. Điều này cho thấy quần thể *P. vivax* ở Krông Pa vẫn còn nhạy với CQ ở liều khuyến cáo của (WHO, 2015).

4.3. Một số biến cố bất lợi của thuốc CQ

Sau khi dùng thuốc CQ xuất hiện một số biến cố bất lợi như đau đầu, chóng mặt 9 ca (10%), đau bụng buồn nôn, rối loạn tiêu hóa, chán ăn 2 ca (2,2%), ban đỏ da, ngứa 1 ca (1,1%), đặc biệt có 1 ca rụng tóc bất thường (1,1%). Ngoài ra, các thông số huyết học tại thời điểm trước điều trị (D_0) và D_7 cho thấy các chỉ số hồng cầu, bạch cầu, Hb, Hct, tiểu cầu không có sự thay đổi có ý nghĩa, điều này cũng tương tự với một số kết quả đánh giá đa trung tâm thực hiện trên thể giới [11].

5. KẾT LUẬN

Tỷ lệ đáp ứng lâm sàng và KST đầy đủ (98,9%) và thất bại điều trị lâm sàng muộn (1,1%). Tỷ lệ bệnh nhân còn thể vô tính *P. vivax* sau 24 giờ (91,1%), sau 48 giờ (11,1%), đến 72 giờ (0%).

Mật độ thể vô tính trung bình D_0 là 16.397/ μ L, sau điều trị D_1 giảm còn 3.293/ μ L, D_2 giảm còn 110,5/ μ L, D_3 là 0 μ L; Thời gian làm sạch KST trung bình là 36 giờ, cắt sốt trên lâm sàng là 24 giờ. Thời gian làm sạch 50% dung khối KST *P. vivax* chung là 3.5024 giờ (<5,2 giờ), chưa có ca nào vượt quá 60 giờ.

Một số biến cố bất lợi sau uống thuốc CQ: đau đầu, chóng mặt 9 ca (10%), đau bụng buồn nôn, chán ăn (2,2%), ban đỏ da, ngứa (1,1%), rụng tóc bất thường (1,1%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] WHO, World malaria report 2020.
 [2] Ric NP, Lorenz VS, Neena V et al., Global extent of chloroquine-resistant Plasmodium vivax: A systematic review and meta-analysis. Lancet

Infect Dis 2014, 14:982-991.

- [3] Bộ Y tế, Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh sốt rét, Quyết định của Bộ trưởng Bộ Y tế số 4845/QĐ-BYT, ngày 08/9/2016.
- [4] Bộ Y tế, Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và phòng bệnh sốt rét, Quyết định của Bộ trưởng Bộ Y tế số 2699/QĐ-BYT, ngày 26/6/2020 của Bộ trưởng Bộ Y tế.
- [5] Bộ Y tế, Chiến lược quốc gia phòng chống và loại trừ bệnh sốt rét ở Việt Nam giai đoạn 2011-2020 và định hướng đến năm 2030, Quyết định của Thủ tướng Chính phủ số 1920/QĐ-TTg ngày 27/10/2011.
- [6] Bộ Y tế, Hướng dẫn giám sát và phòng chống bệnh sốt rét, Quyết định của Bộ trưởng Bộ Y tế số 4922/QĐ-BYT, ngày 25/10/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế.2021.
- [7] Huỳnh Hồng Quang, Triệu Nguyên Trung và CS, Đáp ứng của Plasmodium vivax với phác đồ chloroquine tại 3 tỉnh miền Trung-Tây Nguyên, Tạp chí Y học TP HCM, phụ bản tập 17(1), tr.74-79.2013.
- [8] Huỳnh Hồng Quang, Triệu Nguyên Trung và CS, Đánh giá hiệu lực phác đồ thuốc chloroquine đối với sốt rét Plasmodium vivax chưa biến chứng. Tạp chí Y học TP HCM; Phụ bản của tập 14(1), tr.247-253. 2010.
- [9] Huỳnh Hồng Quang, Nguyễn Đức Hồng, Lý Chanh Ty, Đánh giá hiệu lực phác đồ chloroquin trong điều trị sốt rét Plasmodium vivax tại một số điểm miền Trung-Tây Nguyên (2014-2017), Tạp chí Phòng chống sốt rét và các bệnh KST, số 5(119), tr.8-15.2020.
- [10] André MS, Lucas I Coutinho, Willian Su et al., Slow clearance of Plasmodium vivax with chloroquin amongst children younger than six months of age in the Brazilian Amazon. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro; 2014. Vol.109(5):540-545.
- [11] Commons RJ, Thriemer K, Anstey NM et al., The haematological consequences of Plasmodium vivax malaria after chloroquine treatment with and without primaquine: A WWARN systematic review and individual patient data meta-analysis. BMC Medicine; PMID: 31366382, doi: 10.1186/s12916-019-1386-6.2019

VALUATION OF THE CHLOROQUINE RESISTANCE *PLASMODIUM VIVAX* MALARIA BY CHLOROQUINE PLUS ITS METABOLIC DETHYLCHLOROQUINE BLOOD CONCENTRATION USING LIQUID CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS SPECTROMETRY

Ly Chanh Ty^{1,*}, Hoang Dinh Canh², Tran Thanh Duong², Trieu Nguyen Trung¹

¹Institute of Malariology, Parasitology, and Entomology Quy Nhon - 611B Nguyen Thai Hoc, Nguyen Van Cu, Qui Nhon, Binh Dinh, Vietnam

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

Received 29/11/2022

Revised 30/12/2022; Accepted 01/02/2023

ABSTRACT

Objective: With the spread chloroquine-resistant vivax malaria (CQRV) in Cambodia, Indonesia, East Timor, India (WHO, 2018), and in Vietnam, CQRV has been reported sporadically in provinces Binh Thuan, Quang Nam from 2-7% as malaria elimination's serious threat.

Subjects and methods: The current WHO protocol for assess the efficacy of CQRV mentioned the recurrence of early stage resistant parasites may occur after Day 28 in the presence of CQ plus desethylchloroquine (DCQ) blood levels above the minimum efficacy concentration (MEC \geq 100ng/ml) and relapses could occur as early as 36 days after standard CQ treatment. Therefore, in order to confirm CQRV it is recommended to extend the follow-up time to Day 42 and measure whole blood CQ plus DCQ level at Day 28 and at the time of *P. vivax* recurrence. A non-randomized controlled clinical trial and experiment lab by using liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis study designs in malaria endemic zone of Krong Pa district with the aim is to assess the *in vivo* efficacy and pharmaceutical susceptibility of *P. vivax* to CQ following the currently recommended regimen.

Result: The results showed that total of 90 vivax malaria cases were enrolled, adequate clinical and parasitological response (ACPR 98.9%), mean parasite clearance time, and fever clearance time were 36 hours and 24 hours, respectively. One case demonstrated *P. vivax* recurrence by Day 42 (1.1%) hat reconfirmed not resistant case, may be new infection or far relapse.

Key words: Chloroquine resistant *P. vivax*, desethylchloroquine.

*Corresponding author

Email address: lychanhty@gmail.com

Phone number: (+84) 975 823 444



ĐÁNH GIÁ SỐT RÉT DO *PLASMODIUM VIVAX* KHÁNG VỚI CHLOROQUINE THÔNG QUA ĐO NỒNG ĐỘ THUỐC CHLOROQUINE VÀ CHẤT CHUYỂN HÓA DESETHYLCHLOROQUINE BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ LỎNG GHEP KHỐI PHỔ

Lý Chanh Ty^{1,*}, Hoàng Đình Cảnh², Trần Thanh Dương², Triệu Nguyên Trung¹

¹*Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Quy Nhơn - 611B Nguyễn Thái Học, Nguyễn Văn Cừ, thành phố Quy Nhơn, Bình Định, Việt Nam*

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

Ngày nhận bài: 29 tháng 11 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 30 tháng 12 năm 2022; Ngày duyệt đăng: 01 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Với tình trạng sốt rét do *Plasmodium vivax* kháng chloroquine (CQRV) lan rộng tại Campuchia, Indonesia, Đông Timor, Ấn Độ (WHO, 2018) và tại Việt Nam, CQRV đã được ghi nhận rải rác tại Bình Thuận, Quảng Nam từ 2-7% như một mối đe dọa nghiêm trọng lộ trình loại trừ sốt rét.

Đối tượng và phương pháp: Đề cương của Tổ chức Y tế thế giới hiện tại áp dụng đánh giá CQRV lưu ý sự tái xuất hiện lại ký sinh trùng kháng giai đoạn sớm có thể xảy ra sau ngày D28 với sự hiện diện nồng độ thuốc CQ+DCQ (chất chuyển hóa của CQ) trong máu trên ngưỡng nồng độ có hiệu lực tối thiểu (MEC \geq 100ng/ml) và tái phát có thể xảy ra sớm vào ngày D35 sau liều chuẩn CQ. Do vậy, để xác định CQRV thì cần kéo dài thời gian theo dõi đến ngày D42 và đo nồng độ CQ+DCQ vào ngày D28 và thời gian tái xuất hiện *P. vivax* là cần thiết. Một thử nghiệm lâm sàng không ngẫu nhiên, tự chứng và phân tích thực nghiệm la bố phân tích nồng độ sắc ký lỏng ghép khối phổ, tiến hành tại vùng sốt rét lưu hành huyện Krông pa, nhằm đánh giá hiệu lực thuốc *in vivo* và tính nhạy được học của *P. vivax* với CQ sau khi dùng liệu trình chuẩn, đánh giá trên 90 bệnh nhân nhiễm *P. vivax*.

Kết quả nghiên cứu: Đáp ứng lâm sàng và ký sinh trùng đầy đủ là 98,9%, thời gian sạch ký sinh trùng và cắt sốt trung bình lần lượt là 36 và 24 giờ Conlaxtin: Một trường hợp tái xuất hiện lại *P. vivax* vào ngày D42 (1,1%) xác định không phải kháng mà có thể là nhiễm mới hoặc tái phát xa.

Từ khóa: *P. vivax* kháng chloroquine, desethylchloroquine.

*Tác giả liên hệ

Email: lychanhty@gmail.com

Điện thoại: (+84) 975 823 444

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một trong những vấn đề thách thức cho lộ trình tiến tới loại trừ sốt rét là ký sinh trùng (KST) *Plasmodium vivax* (*P. vivax*) đang giảm nhạy và kháng thuốc chloroquine phosphate (CQ) hiện đang lan rộng tại nhiều nước như Campuchia, Thái Lan, Myanmar, Indonesia, Đông Timor, Ấn Độ thông qua các nghiên cứu kháng *in vivo* và *in vitro* [1],[2],[3],[4], điều này cho thấy mối đe dọa thành quả phòng chống sốt rét (PCSR) các nước. Tại Việt Nam, một số điểm theo dõi liên tục đã phát hiện *P. vivax* giảm đáp ứng với CQ như tại tỉnh Bình Thuận [5], Quảng Nam [6], Bình Phước [7], Gia Lai [8]. Tuy nhiên, tất cả các trường hợp xuất hiện lại KST *P. vivax* chưa thể phân biệt rõ ràng tái phát hay tái nhiễm vì chưa có công cụ phân tích sinh học phân tử hoặc đo nồng độ thuốc CQ và chất chuyển hóa có hoạt tính desethylchloroquine (DCQ) tại thời điểm xuất hiện lại *P. vivax*, nên vẫn còn bỏ ngỏ tỷ lệ kháng, thất bại thật sự. Hiện nay, hầu hết các chỉ điểm phân tử vẫn chưa được hợp thức hóa, nên các nghiên cứu đánh giá kháng hiện nay chủ yếu dựa trên đề cương của WHO là đo nồng độ thuốc CQ và DCQ tại thời điểm xuất hiện lại KST [1]. Với ý nghĩa đó, nghiên cứu này tiến hành nhằm mục tiêu đánh giá tình kháng thuốc CQ của loài *P. vivax* tại huyện Krông Pa, Gia Lai thông qua đo nồng độ thuốc CQ + DCQ bằng ghép sắc ký lỏng với khối phổ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Bệnh nhân mắc sốt rét (SR) do *P. vivax* chưa biến chứng;
- Thuốc chloroquin phosphat viên nén 250mg, lô SX: 17001CN, NSX: 17.02.2017, HSD: 17.2.2022, SDK:VD-15025-11 do Công ty CPHDP Mekophar cung cấp.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Tại các xã có sốt rét lưu hành của huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai.

2.3. Thời gian nghiên cứu: Từ 2018 - 2020.

2.4. Thiết kế nghiên cứu

Thử nghiệm *in vivo* lâm sàng, không ngẫu nhiên, tự chứng và quan sát phòng thí nghiệm đo nồng độ thuốc và chất chuyển hóa (CQ+DCQ).

2.5. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu

2.5.1. Cỡ mẫu đánh giá hiệu lực của thuốc CQ

Dựa trên tỷ lệ thất bại điều trị từ nghiên cứu trước đó là 3,7% (Phạm Vĩnh Thanh, 2015), chọn $p \approx 5\%$, khoảng tin cậy 95%, độ chính xác (d) là 0,05. Khi đó cỡ mẫu tối thiểu tính được theo bảng 2.1 là $n = 73$, cộng thêm 20%, cỡ mẫu nghiên cứu thực tế 88 ca.

Bảng 2.1. Cỡ mẫu tối thiểu dựa trên tỷ lệ thất bại điều trị (WHO, 2009)

Tỷ lệ ước tính trong quần thể (p), độ tin cậy 95%										
d	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50
0,05	73	138	196	246	288	323	350	369	380	384
0,10	18	35	49	61	72	81	87	92	95	96

2.5.2. Phân tích nồng độ thuốc CQ + DCQ trên bệnh nhân tái xuất hiện lại *P. vivax*

Các ca xuất hiện lại *P. vivax* trong 28/42 ngày theo dõi, cần đo nồng độ (CQ+DCQ) trong máu qua mẫu máu lấy vào giấy thấm Whatman 3MM vào ngày D_0 , D_7 , $D_{thất bại}$ và D_{28} . Lấy 100 μ l máu đầu ngón tay bằng ống mao quản chứa sẵn heparin hoặc chất chống đông EDTA, để khô trong môi trường và bỏ vào túi nhựa có khóa, sau đó gửi đi phân tích bằng máy sắc ký HPLC (Agilent 1200, Đức) theo quy trình của Bell (2007). Hệ thống sắc ký

lỏng sử dụng cột phân tích trong pha nghịch Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 \times 150mm ID, 5 μ m) với tốc độ dòng chảy 1ml/phút, pha động isocratic chứa nước đã khử ion, acetonitrile và triethylamine theo tỷ lệ 90%, 10% và 1%.

2.6. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu nghiên cứu thu thập được tổng hợp, phân tích và xử lý theo phần mềm *in vivo* phiên bản 7.1 (WHO (2017)) và hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm dân số học của nhóm bệnh nhân *P. vivax*

Đặc điểm bệnh nhân (n=90)	Thời điểm bắt đầu nghiên cứu D ₀	
	Bệnh nhân <i>P. vivax</i>	
Giới tính	<i>SL</i>	(%)
Nam	82	91,1
Nữ	8	8,9
Nhóm tuổi		
Trung bình	26 (8)	
≥ 5 - < 15	3	3,3
≥ 15	87	96,7
Dân tộc		
Ja Rai	76	84,4
Tày	2	2,26
Nùng	1	1,13
Kinh	11	12,2
Nghề nghiệp		
Rẫy, khai thác rừng	82	91,1
Đi học (có đi rẫy)	4	4,5
Công nhân lâm trường	2	2,2
Cán bộ viên chức	2	2,2

Tỷ lệ nhiễm *P. vivax* ở nam giới là 91,1% và ở nữ 8,9%, trong đó nhóm tuổi >15 chiếm đa số (96,7%), dân tộc Ja Rai chiếm chủ yếu (84,4%), hầu hết bệnh nhân tham gia làm rẫy và khai thác lâm sản trong rừng (91,1%).

Bảng 3.2. Đặc điểm lâm sàng và tiền sử sốt bệnh nhân

Lâm sàng bệnh nhân nhiễm <i>P. vivax</i> (n=90)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Sốt vào ngày D ₀ ≥37,5°C	57	63,3
Tiền sử có sốt (trong 48 giờ)	78	86,7
Thân nhiệt ngày D ₀ (°C)	39,0 ± 0,6 (Min-Max:37,5-40,6)	

Thời gian từ khi bệnh nhân có triệu chứng sốt đến ngay cơ sở y tế khám (63,3%) và có tiền sử sốt trong 48 giờ (86,7%).

Bảng 3.3. Đặc điểm cận lâm sàng trên nhóm bệnh nhân nghiên cứu

TT	Một số đặc điểm cận lâm sàng bệnh nhân nhiễm <i>P. vivax</i> (n=90)	Số lượng	Min-Max
1	MĐKST thể vô tính/ μ l	7.151	690-60.041
2	Số bệnh nhân có giao bào	73/90	81,1%
3	Nồng độ haemoglobine (g/dL)	11,7 (2,78)	9,2-12,3
4	Tỷ lệ haematocrite (%)	36,8 (7,27)	35,9-42,2

Mật độ thể vô tính *P. vivax* ngày D₀ trung bình là 7151/ μ l và số ca có thể giao bào trong máu đồng thời với thể vô tính (81,1%) trên lam soi. Nồng độ haemoglobin (Hb) trung bình là 11,7 g/dL và haematocrite (Hct)

trung bình là 36,8%.

3.2. Hiệu lực thuốc chloroquine trên bệnh nhân nhiễm *P. vivax* tại Krông Pa

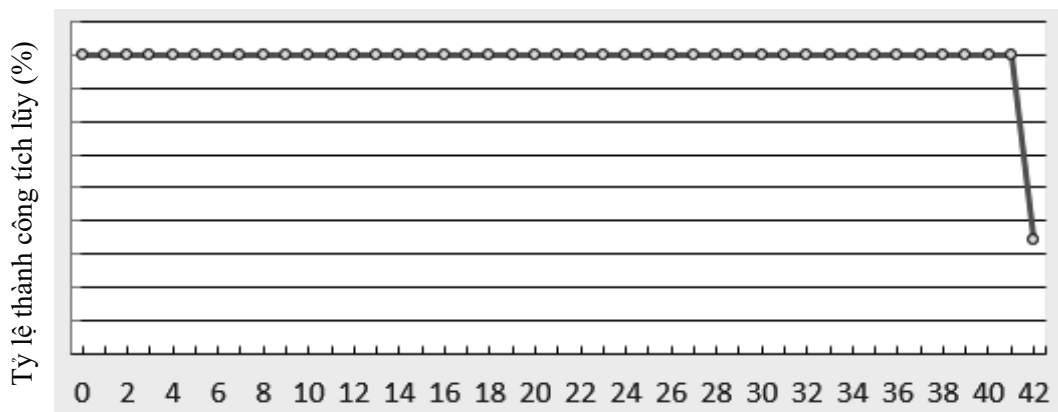
Bảng 3.4. Hiệu lực phác đồ CQ đối với ký sinh trùng *P. vivax*

TT	Đánh giá hiệu lực (n=90)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Đáp ứng lâm sàng và KSTSR đầy đủ (ACPR)	89	98,9
2	Thất bại điều trị sớm (ETF)	0	0
3	Thất bại lâm sàng muộn (LCF)	0	0
4	Thất bại ký sinh trùng muộn (LPF)	1	1,1
5	Số ca còn tồn tại thể vô tính ngày D ₃	0	0

Đáp ứng lâm sàng và KST đầy đủ sau điều trị thuốc CQ là 98,9%, chỉ có 1 ca (1,1%) biểu hiện thất bại lâm sàng muộn, xuất hiện lại *P. vivax* vào ngày theo dõi D₄₂.

Không có ca nào còn tồn tại thể vô tính *P. vivax* vào giờ 72 giờ hoặc ngày D₃.

Hình 3.1. Phân tích đường cong Kaplan-Meier sau 42 ngày



Quá trình theo dõi 42 ngày, chưa ghi nhận ca rút khỏi nghiên cứu và vi phạm nghiên cứu, nên đường cong sống còn của 90 ca đều hiện diện đủ vào ngày D₃₅, chỉ

có 1 ca xác định thất bại lâm sàng muộn vào ngày D₄₂ với loài *P. vivax*.

Bảng 3.5. Hiệu lực CQ trong việc làm sạch KST *P. vivax* và cắt sốt trên lâm sàng

TT	Tổng số ca phân tích (n=90)	Thông số trung bình
1	Mật độ KSTSR/ μ l ngày D ₀	7.151 (690-60.041)
2	Thời gian TB sạch KST (median [IQR]-PCT)	36 (30-48)
3	Thời gian TB cắt sốt (median [IQR]-FCT)	24(12-35)

Thời gian trung bình sạch KST sau điều trị CQ là 36 giờ và thời gian trung bình cắt sốt trên lâm sàng là 24 giờ.

Bảng 3.6. Thời điểm xuất hiện lại *P. vivax* trên nhóm bệnh nhân nghiên cứu

TT	Thời điểm xuất hiện KSTSR	Thời điểm bắt đầu vào nghiên cứu D ₀	
		Số lượng	Tỷ lệ %
1	Thời điểm còn tồn tại <i>P. vivax</i>		
	Ngày D ₀ (chưa điều trị CQ)	90	100
	Ngày D ₁	82	91,1
	Ngày D ₂	10	11,1
2	Thời điểm xuất hiện lại <i>P. vivax</i>		
	Từ ngày D ₃ -D ₃₅	0	0
	Ngày D ₄₂	1	1,1

Qua theo dõi đến ngày D₄₂ cho thấy, sau điều trị sạch *P. vivax* từ ngày D₃-D₃₅ không thấy xuất hiện lại *P. vivax*, song đến ngày D₄₂ thì có 1 ca (mã số 41GLCQ) tái xuất hiện loài *P. vivax* với thân nhiệt lúc đó là 38,6°C

và mật độ *P. vivax* là 1.030/ μ L, nên đo nồng độ thuốc CQ+DCQ vào ngày D₇, D₂₈ và D₄₂ để xác định có kháng thuốc hay không.

Bảng 3.7. Nồng độ thuốc CQ và chất chuyển hóa DCQ trong máu toàn phần

Ca bệnh 41GLCQ	Ngày đo nồng độ thuốc	Nồng độ (CQ + DCQ)	Đánh giá theo đề cương WHO
	D ₇	467,3 ng/mL	> 100 ng/mL
	D ₂₈	52,5 ng/mL	< 100 ng/mL
	D ₄₂	27 ng/mL	< 100 ng/mL

* Drug evaluation and analysis 0031-41GLCQ

Theo phân loại *in vivo* của WHO thì ca bệnh 41GLCQ được phân loại là thất bại lâm sàng muộn, ca bệnh này tái xuất hiện lại *P. vivax* vào ngày D₄₂, trong khi thời gian bán thải loại trừ của CQ+DCQ là 55 ngày là phù hợp sau khi dùng đủ liệu trình CQ tổng liều 25 mg/kg và nồng độ thuốc cộng chất chuyển hóa (CQ+DCQ) chỉ là 27ng/ml tại thời điểm đó không vượt 100ng/mL, nên xác định không phải kháng thuốc mà có thể là tái nhiễm, hoặc tái phát xa.

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Qua phân tích 90 bệnh nhân nhiễm *P. vivax* đơn thuần đủ điều kiện tham gia nghiên cứu và theo dõi đầy đủ 42 ngày, chủ yếu là bệnh nhân nam giới (91,1%), nữ chỉ có 8,9%; Nhóm tuổi >15 chiếm ưu thế (96,7%) và nhóm tuổi từ ≥ 5 - <15 (3,3%), dân tộc Ja Rai chiếm chủ yếu (84,4%), tiếp đến là dân tộc Kinh (12,2%), Tày (2,26%)

và Nùng (1,13%). Các bệnh nhân hầu hết có làm rầy, đi rừng và khai thác lâm sản (91,1%), số còn lại là các cán bộ lâm trường, kiểm lâm (2,2%) và viên chức (2,2%).

Bệnh nhân có sốt khi đến khám tại cơ sở y tế (63,3%) hoặc có tiền sử sốt trong vòng 48 giờ trước khi vào nghiên cứu (86,7%). Tỷ lệ bệnh nhân có lách to từ độ 2 trở lên (17,7%), điều này cũng phù hợp vì đa số các vùng sốt rét lưu hành *P. vivax* có mật độ KST thấp dưới ngưỡng phát hiện của kính hiển vi hoặc test nhanh, nên nhiễm trùng mạn tính và tái đi tái lại, chông con làm cho nhu mô lách xơ hóa là khó tránh khỏi. Mật độ *P. vivax* thể vô tính của nhóm bệnh nhân trung bình là 7151/ μ L và số bệnh nhân có giao bào *P. vivax* trong máu đồng thời với thể vô tính (81,1%), tương tự như các nghiên cứu khác trên thế giới [3],[4], các bệnh nhân không có thiếu máu nặng với nồng độ Hb trung bình là 11,7 (g/dL) và tỷ lệ Hct trung bình là 36,8%.

4.2. Đánh giá tình trạng kháng thuốc trên bệnh nhân nhiễm *P. vivax* tại Krông Pa

Qua điều trị bằng thuốc CQ cho 90 bệnh nhân nhiễm *P. vivax* chưa biến chứng và theo dõi đến 42 ngày cho thấy rằng trong quá trình theo dõi, không ghi nhận ca rút khỏi hoặc vi phạm nghiên cứu. Tỷ lệ đáp ứng lâm sàng và KST đầy đủ (98,9%) và chỉ có 1 ca (1,1%) thất bại lâm sàng muộn (mã số bệnh nhân 41GLCQ) xuất hiện lại cùng loài *P. vivax* vào ngày D₄₂ với thân nhiệt khi đó là 38,6°C và mật độ *P. vivax* là 1.030/ μ L và để khẳng định liệu ca nay có phải kháng thuốc hay không, nên được đo nồng độ thuốc và chất chuyển hóa (CQ+DCQ) vào ngày D₇, D₂₈ và D₄₂ để đánh giá tình trạng kháng thuốc.

Thuốc CQ có thể tích phân bố lớn vào máu và gắn vào mô sau uống, nên thải loại thuốc CQ ra khỏi cơ thể sẽ chậm, thời gian bán thải cuối cùng trung bình 45-55 ngày đối với CQ và 59-67 ngày đối với chất chuyển hóa DCQ, nên tương tự các nghiên cứu trước đây theo dõi tới điểm kết thì có thể lấy máu vào giấy thấm đo nồng độ (CQ+DCQ) tại thời điểm xuất hiện lại *P. vivax* sẽ có giúp đánh giá kháng của loài *P. vivax* với CQ. Tuy nhiên, ca bệnh 41GLCQ sau khi phân tích cho thấy thời điểm xuất hiện lại *P. vivax* là vào ngày D₄₂, trong khi thời gian bán thải loại trừ của CQ+DCQ là 55 ngày là phù hợp sau khi dùng đủ liệu trình CQ tổng liều 25 mg/kg và nồng độ thuốc và chất chuyển hóa thuốc (CQ+DCQ = 27ng/ml) đo tại thời điểm xuất hiện lại *P. vivax* đó đã không vượt 100ng/ml thì xác định không phải ca này kháng thuốc CQ (theo hướng dẫn

của WHO, 2017) mà có thể là tái nhiễm hoặc tái phát xa cần các phân tích phân tử chuyên sâu đánh giá chi tiết.

So sánh với các dữ liệu tổng hợp về hiệu lực thuốc CQ đối với *P. vivax* tại Việt Nam thì đã phát hiện *P. vivax* giảm đáp ứng với CQ như huyện Tánh Linh, Bình Thuận [5], huyện Nam Trà My, Quảng Nam [6], huyện Bù Gia Mập, Bình Phước [7], huyện Krông Pa, Gia Lai từ những năm trước đó [8] và tại các khu vực khác nhau theo Tổ chức Y tế thế giới tổng hợp dữ liệu từ năm 2010-2019 của 198 nghiên cứu TES trên toàn cầu thực hiện đánh giá kháng đối với *P. vivax* và tổng số bệnh nhân tham gia là 12.372 ca. Vùng nghiên cứu nhiều nhất là Đông Nam Á (41,9% tổng số nghiên cứu). Mặc dù, CQ vẫn còn hiệu lực trong điều trị *P. vivax* tại nhiều nước, song hiện tượng kháng CQ đã được xác định kháng tại tất cả các vùng với nhiều mức độ khác nhau [1],[2],[3] và ca thất bại muộn xảy ra tại huyện này, nên cần tiếp tục theo dõi hiệu lực thuốc CQ để có chiến lược thay đổi thuốc phù hợp.

5. KẾT LUẬN

- Tỷ lệ đáp ứng lâm sàng và ký sinh trùng đầy đủ của *P. vivax* với thuốc CQ là 98,9%.

- Tỷ lệ bệnh nhân còn thể vô tính *P. vivax* sau 24 giờ, sau 48 giờ và 72 giờ lần lượt là 91,1%; 11,1% và 0%. Không có trường hợp chậm sạch thể vô tính vào ngày D3. Thời gian trung bình sạch KST là 36 giờ, cắt sốt trên lâm sàng là 24 giờ.

- 01 Ca thất bại lâm sàng muộn được khẳng định không phải kháng CQ do *P. vivax* thông qua đo nồng độ thuốc CQ+DCQ với sắc ký lớp mỏng ghép khối phổ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] WHO, Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy, 2009.
- [2] WHO, Methods manual for laboratory quality control. Testing of malaria rapid diagnostic tests, 2016.
- [3] Yonne FC, Monica RFC, Jacqueline SC, In vitro chloroquine resistance for Plasmodium vivax isolates from the Western Brazilian Amazon. Malaria Journal;12:226, 2013.
- [4] Ric NP, Lorenz VS, Neena V et al., Global extent

- of chloroquine-resistant *Plasmodium vivax*: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 14:982-991, 2014.
- [5] Giao PT, Binh TQ, Peter VJ et al., Artemisinin or chloroquine for blood stage *Plasmodium vivax* malaria in Vietnam. *Tropical Medicine and International health*;7:856-864, 2002.
- [6] Pham Vinh Thanh, Hong Nguyen Van, Kevin Baird et al., Confirmed *Plasmodium vivax* resistance to chloroquin in Central Vietnam. *Antimicrob Agents Chemother*: 0791-0715, 2015.
- [7] Phung Duc Thuan, Jeremy F, White NJ et al., A randomized comparison of chloroquine versus dihydroartemisinin-piperaquine for the treatment of *Plasmodium vivax* infection in Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*;94(4):879-885, 2016.
- [8] Huynh Hong Quang, Ly Chanh Ty, Nguyen Duc Hong, Que Anh Tram, Evaluation of emerging *Plasmodium vivax* resistance to chloroquin in Gia Lai province (2016-2017): In vivo 28 days clinical trial. *Vietnam Journal of Infectious Diseases* (ISSN: 0866-7829), 2018.

DETERMINATION OF SOME FACTORS RELATED TO THE INFECTION OF SKIN AND MUCOUS MEMBRANES IN PEOPLE EXAMINED AND TREATED AT QUY HOA NATIONAL LEPROSY DERMATOLOGY HOSPITAL

Hoang Dinh Canh*, Tran Quang Phuc

National Hospital of Malariology, Parasitology and Entomology - 34 Trung Van, Nam Tu Liem, Hanoi, Vietnam

Received 04/01/2023

Revised 30/01/2023; Accepted 20/02/2023

ABSTRACT

Objectives: *Candida* spp causes opportunistic infections. The study was conducted on the skin and mucous membranes of people who came for examination and treatment at Quy Hoa National Leprosy Dermatology Hospital to determine risk factors related to *Candida* spp. infections.

Subjects and methods: The study was designed using descriptive analytical research method

Results: The overall prevalence of *Candida* spp. on the skin and mucous membranes was 28.57% (4,085/14 298). Factors related to *Candida* spp infection included insufficient knowledge about the harmful effects of *Candida* spp. infections (OR = 2.28, 95%CI:1.08 – 5.54, $p < 0.05$; no knowledge about the harmful effects of *Candida* spp infections (OR = 2.85, 95%CI:1.45 - 6.39, $p < 0.05$; no knowledge about the transmission route (OR = 3.37, 95% CI:1.11 – 5.99); no knowledge about the source of disease transmission (OR = 2.26, 95%CI:1.29 – 5.23); sharing clothes with infected people (OR = 1.69, 95%CI:1.32–5.08); and humid working environment (OR = 1.83, 95% CI:1.27 – 6.34, $p < 0.05$).

Conclusions: The knowledge, attitudes and practices of the people towards *Candida* spp prevention were still low. It is necessary to strengthen knowledge and practices of people towards *Candida* spp. prevention such as not sharing clothes, avoiding working in humid environments.

Keywords: Fungi; *Candida* spp infection, risk factors.

*Corresponding author

Email address: hoangcanh@yahoo.com

Phone number: (+84) 989 613 999



XÁC ĐỊNH MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN NHIỄM NẤM DA, NIÊM MẠC Ở NGƯỜI DÂN KHÁM BỆNH DA LIỄU TẠI BỆNH VIỆN PHONG DA LIỄU TRUNG ƯƠNG QUY HÒA

Hoàng Đình Cảnh*, Trần Quang Phục

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

Ngày nhận bài: 04 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 30 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 20 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Bệnh nấm *Candida* spp là bệnh nhiễm trùng cơ hội. Đề tài xác định một số yếu tố nguy cơ nhiễm nấm da, niêm mạc ở người dân khám bệnh da liễu tại Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa nhằm xác định các yếu tố nguy cơ có liên quan nhiễm *Candida* spp da, niêm mạc.

Đối tượng và phương pháp: Đề tài được thiết kế bằng phương pháp nghiên cứu mô tả có phân tích.

Kết quả: Tỷ lệ nhiễm nấm *Candida* spp da niêm mạc/bệnh nhân nhiễm nấm (+) chung là 28,57%(4.085/14 298).

Đã xác định các yếu tố có liên quan với tình trạng nhiễm nấm *Candida* spp, gồm: người không có kiến thức về tác hại bệnh do *Candida* spp OR = 2,28, 95%CI:1,08 – 5,54, $p < 0,05$; Không có kiến thức hiểu biết về tác hại của bệnh do *Candida* spp với các giá trị OR = 2,85, 95%CI:1,45 - 6,39, $p < 0,05$; Không hiểu về đường lây bệnh từ động vật sang người với tình trạng nhiễm nấm da niêm mạc, với OR = 3,37, 95%CI:1,11 – 5,99; Không hiểu về nguồn lây bệnh là từ đất sang người với OR = 2,26, 95%CI:1,29 – 5,23; Tình trạng mặc quần áo chung với nhiễm *Candida* spp, với OR = 1,69, 95%CI:1,32– 5,08; Có liên quan giữa môi trường làm việc nóng ẩm với nhiễm *Candida* spp, với OR = 1,83, 95%CI:1,27 – 6,34, $p < 0,05$.

Kết luận: Kiến thức, thái độ, thực hành của người dân phòng chống bệnh do *Candida* spp còn thấp, cần tăng cường giáo dục kiến thức, thực hành phòng bệnh do *Candida* spp như: Không mặc quần áo chung, không làm việc trong môi trường ẩm ướt.

Từ khóa: Nấm; nhiễm *Candida* spp; nguy cơ.

*Tác giả liên hệ

Email: hoangcanh@yahoo.com

Điện thoại: (+84) 989 613 999

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh do *Candida* spp là bệnh nhiễm trùng cơ hội, bệnh gặp ở người suy giảm miễn dịch, sử dụng corticoid kéo dài, ở người có điều kiện vệ sinh kém. Tỷ lệ mắc cao ở vùng có khí hậu nóng, ẩm [1], [2]. Tỷ lệ mắc *Candida* spp ở nước ta tương đối cao, có nơi tới > 50%. Miền Trung nước ta có khí hậu nhiệt đới, nóng ẩm, điều kiện kinh tế và vệ sinh còn nhiều hạn chế, kết hợp với kiến thức, thái độ, thực hành phòng bệnh do *Candida* spp của người dân còn hạn chế [3]. Theo số liệu thống kê của Bệnh viện Phong - Da liễu Trung ương Quy Hòa từ năm 2011 đến năm 2013 bệnh nấm da có tỷ lệ 5,3% trong các bệnh da – niêm mạc. Đến nay, chưa có một đề tài có tính chất quy mô, nghiên cứu sâu về các yếu tố nguy cơ nhiễm *Candida* spp trên địa bàn, chúng tôi thực hiện đề tài: “Xác định một số yếu tố liên quan nhiễm nấm da niêm mạc ở người dân khám và điều trị tại Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa”, nhằm mục tiêu: Xác định các yếu tố có liên quan đến tình trạng nhiễm nấm da niêm mạc ở người khám và điều trị tại Bệnh viện.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm, thời gian nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** Người khám bệnh da liễu
- **Địa điểm nghiên cứu:** Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa
- **Thời gian nghiên cứu:** Từ năm 2018 – 2019.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Đề tài được thiết kế bằng phương pháp nghiên cứu mô tả có phân tích

2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

- **Cỡ mẫu:** Áp dụng công thức tính cỡ mẫu nghiên cứu mô tả xác định một tỷ lệ:

$$n = Z^2_{(1-\alpha/2)} \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

p: Là tỷ lệ có kiến thức hiểu biết về bệnh do nấm *Candida* spp, chọn p = 0,5 [4];

$Z_{1-\alpha/2}$: Hệ số tin cậy, ứng với độ tin cậy 95% thì

$$Z_{1-\alpha/2} = 1,96;$$

ε: Sai số tương đối mong muốn chọn ε = 0,12.

Công thêm 10%, cỡ mẫu tính toán là 293 người, thực tế nghiên cứu ở 300 người nhóm nhiễm nấm *Candida* spp và 300 người cho nhóm không nhiễm *Candida* spp.

- **Phương pháp chọn mẫu:** Trong danh sách người đã xác định nhiễm nấm *Candida* spp và không nhiễm nấm *Candida* spp chọn ngẫu nhiên mỗi nhóm 300 người để thực hiện phỏng vấn về kiến thức, thái độ và thực hành phòng chống bệnh nấm.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu, các chỉ số nghiên cứu

- Nghiên cứu tỷ lệ nhiễm nấm *Candida* spp
- Kiến thức, thái độ, thực hành phòng chống bệnh nấm do *Candida* spp ở người dân đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa. Trong nghiên cứu chúng tôi lập bảng 2x2 tính toán tỷ suất chênh OR, với $OR = a.d/b.c$, $OR \neq 1$, 95%CI:

2.2.4. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

- Kỹ thuật trực tiếp soi tươi trong môi trường KOH20% xác định nấm *Candida* spp.
- Kỹ thuật phỏng vấn cộng đồng

2.2.5. Nhập và phân tích số liệu

Các số liệu được nhập và phân tích theo bằng chương trình SPSS và Stata 16.0 [4].

2.2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

Tuân thủ nghiêm túc các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, đảm bảo đầy đủ quyền lợi và nghĩa vụ của người tham gia nghiên cứu, chỉ nghiên cứu ở người tự nguyện [4].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả soi tươi trong môi trường KOH 20% xác định tỷ lệ nhiễm *Candida* spp da và niêm mạc

Tổng số 198.208 người mắc bệnh da đến khám, trong đó có trường hợp có kết quả dương tính với vi nấm khi soi tươi là 14.298 người chiếm 7,21%, trong số người nhiễm nấm (+) có 4.085 người xác định là do *Candida* spp chiếm tỉ lệ 28,57%.

Chúng tôi chọn 600 người trong đó có 300 người nhiễm nấm *Candida* spp và 300 người không nhiễm *Candida*

spp để phòng vẫn kiến thức, thái độ, thực hành phòng chống bệnh do nấm *Candida* spp, nhằm xác định các yếu tố nguy cơ nhiễm *Candida* spp.

3.2. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm nấm *Candida* spp

- Kiến thức liên quan đến nhiễm nấm *Candida* spp

Bảng 3.1. Kiến thức liên quan đến nhiễm nấm *Candida* spp (n = 600)

Kiến thức, thực hành		Có nhiễm	Không nhiễm	p	OR,95%CI:
Kiến thức hiểu biết về bệnh	Không có kiến thức	202	205	> 0,05	0,96,(0,38-2,75)
	Có kiến thức	98	95		
Kiến thức về tác hại của bệnh	Không có kiến thức	153	94	< 0,05	2,28,(1,08 – 5,54)
	Có kiến thức	147	206		
Kiến thức phòng bệnh	Không có kiến thức	202	126	< 0,05	2,85,(1,45 – 6,39)
	Có kiến thức	98	174		

Người không có kiến thức về tác hại do bệnh nấm *Candida* spp có nguy cơ nhiễm nấm cao gấp 2,28 lần người có kiến thức về tác hại của bệnh do nấm *Candida* spp, OR = 2,28, 95%CI:1,08 – 5,54. Có liên quan giữa các yếu tố về kiến thức hiểu biết về tác hại của bệnh do nấm *Candida* spp với các giá trị OR =2,85, 95%CI:1,45 - 6,39, p < 0,05.

trong nước như: Vũ Đức Bình (2013), cho thấy yếu tố không hiểu ngâm mình dưới nước và vệ sinh sinh dục không đúng cách có liên quan đến nhiễm nấm đường sinh sản (OR = 2,12, 95%CI: 1,19 – 3,75, p < 0,01) và (OR = 1,85, 95%CI: 1,06 – 3,27, p < 0,05)[2].

- Hiểu biết nguồn lây liên quan đến nhiễm nấm *Candida* spp (n =600)

Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu

Bảng 3.2. Liên quan giữa hiểu nguồn lây với nhiễm nấm *Candida* spp (n =600)

Nguồn lây		Có nhiễm	Không nhiễm	p	OR,95%CI
Hiểu biết	Không hiểu về nguồn lây bệnh	122	173	< 0,05	0,5,(0,16 – 1,15)
	Có hiểu về nguồn lây bệnh	178	127		
Người	Không hiểu người là nguồn lây	61	66	> 0,05	0,48,(0,24 – 1,37)
	Có hiểu người là nguồn lây bệnh	116	60		
Động vật	Không hiểu bệnh lây từ động vật sang người	171	112	< 0,05	3,37,(1,11 – 5,99)
	Có hiểu lây bệnh lây từ động vật sang người	6	15		
Đất, nước	Không hiểu đất là nguồn lây	116	58	< 0,05	2,26,(1,29 – 5,23)
	Có hiểu đất cũng là nguồn lây	61	69		

Có liên quan giữa không hiểu về đường lây bệnh từ động vật sang người với tình trạng nhiễm nấm da niêm

mạc, với OR = 3,37, 95%CI:1,11 – 5,99; Có liên quan giữa không hiểu biết về nguồn lây bệnh là từ đất sang

người với OR = 2,26, 95%CI:1,29 – 5,23.

Nhận xét về kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Xuân Huy (2018) cũng ở đối tượng phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ 18 – 49, nhận thấy các yếu tố

có liên quan với tình trạng nhiễm nấm đường sinh sản là sử dụng nguồn nước không hợp vệ sinh (OR = 4,39, 95%CI: 3,5 – 73, p < 0,05)[5].

- Nhiễm nấm *Candida spp* liên quan đến hành vi

Bảng 3.3. Các hành vi liên quan đến nhiễm nấm *Candida spp* (n = 600)

Hành vi		Có nhiễm	Không nhiễm	p	OR,95%CI
Kháng sinh kéo dài	Có	37	101	> 0,05	0,28, (0,12 – 0,93)
	Không	263	199		
Corticoide kéo dài	Có	24	96	> 0,05	0,19, (0,07 – 0,39)
	Không	276	204		
Thói quen đi giày, tất	Có	171	195	> 0,05	0,71, (0,29 – 1,83)
	Không	129	105		
Mặc chung quần áo	Có	98	67	< 0,05	1,69, (1,32– 5,08)
	Không	202	233		
Thói quen rửa chân	1-2 lần/ngày	73	84	> 0,31	0,84, (0,44 – 2,23)
	≥3 lần/ngày	227	216		

Có liên quan giữa tình trạng mặc quần áo chung với tình trạng nhiễm nấm *Candida spp*, với OR = 1,69, 95%CI:1,32– 5,08. Chưa tìm thấy liên quan giữa các yếu tố: sử dụng kháng sinh kéo dài, sử dụng corticoide kéo dài, thói quen đi giày tất, tình trạng và rửa chân chỉ 1 đến 2 lần/ ngày, với các giá trị OR chứa 1, p > 0,05.

Tại Việt Nam cũng có một số nghiên cứu về các hành vi liên quan đến nhiễm nấm da như nghiên cứu của Võ Thị Thanh Hiền (2018) [6], ở đối tượng học sinh 11-15 tuổi, kết quả cho thấy: Tỷ lệ nấm lang ben là 22,5%, trong đó *Malassezia furfur* (*M. furfur*) chiếm 96,4%. Học sinh có cơ địa ra mồ hôi có nguy cơ mắc bệnh lang ben cao gấp 1,44 lần so với học sinh không có cơ địa

ra mồ hôi với (OR = 1,44, 95%CI: 1,10 – 1,88) và học sinh không dùng xà phòng, sữa tắm khi tắm có nguy cơ mắc lang ben do *Malassezia furfur* cao gấp 1,47 lần học sinh có dùng xà phòng và sữa tắm khi tắm với (OR = 1,47, 95%CI: 1,02 – 2,19)[5].

Điều khác biệt ở đề tài nghiên cứu của Võ Thị Thanh Hiền (2018), tác nhân gây bệnh nấm da và niêm mạc là *Malassezia furfur* trong khi kết quả của chúng tôi hoàn toàn là *Candida spp*. Kết quả của Võ Thị Thanh Hiền cũng rất phù hợp với kết quả nghiên cứu của Tôn Nữ Phương Anh (2012), ở bệnh nhân đến khám và điều trị tại khoa Kí sinh trùng Bệnh viện Đại học Y Huế [7].

- Nhiễm *Candida spp* liên quan đến yếu tố tiếp xúc



Bảng 3.4. Nhiễm nấm Candida spp liên quan đến tiếp xúc (n = 600)

Yếu tố		Có nhiễm	Không nhiễm	p	OR, 95%CI:
Tiếp xúc động vật	Có	61	76	> 0,05	0,75,(0,34 – 2,47)
	Không	239	224		
Tiếp xúc nước, chất tẩy rửa	Có	55	73	> 0,05	0,70,(0,41 – 2,13)
	Không	245	227		
Chơi thể thao	Có	92	142	> 0,05	0,35,(0,24 – 1,33)
	Không	208	158		

Chưa tìm thấy liên quan giữa các yếu tố tiếp xúc với động vật, tiếp xúc với nước và chất tẩy rửa chơi thể thao với tình trạng nhiễm nấm *Candida* spp, với các giá trị OR < 1, p > 0,05. Kết quả này cũng phù hợp với thực tế là những người chơi thể thao thường xuyên ý thức vệ sinh của họ rất cao, sau khi chơi họ thường xuyên tắm

rửa sạch sẽ, khi tắm rửa họ phải sử dụng các chất tẩy rửa như: Sữa tắm, xà phòng... vì vậy không tìm thấy liên quan giữa yếu tố chơi thể thao, tiếp xúc với chất tẩy rửa với nhiễm nấm da niêm mạc là phù hợp [8].

- Nhiễm Candida spp liên quan thói quen sinh hoạt

Bảng 3.5. Các thói quen sinh hoạt có liên quan nhiễm Candida spp (n = 600)

Thói quen sinh hoạt		Có nhiễm	Không nhiễm	p	OR, 95%CI:
Nguồn nước	Máy	129	211	> 0,05	0,32, (0,14 – 1,13)
	Giếng	171	89		
Môi trường làm việc	Nóng, ẩm	80	119	< 0,05	1,83, (1,27 – 6,34)
	Thoáng mát	220	181		
Mặc bảo hộ khi làm việc	Có	55	118	> 0,05	0,35, (0,10 – 0,98)
	Không	245	182		
Thói quen chơi thể thao	Có	92	142	> 0,05	0,49, (0,41 – 1,83)
	Không	208	158		

Có liên quan giữa môi trường làm việc nóng ẩm với nhiễm nấm *Candida* spp, với OR = 1,83, 95%CI:1,27 – 6,34, p < 0,05. Kết quả cũng đã được ghi nhận và kết luận trong y văn và nhiều công trình nghiên cứu của các tác giả Nguyễn Thái Dũng (2017)[8], Rosa E.A.R. (2015) [9], Pagès et al (2017)[10].

quan đến tình trạng nhiễm *Candida* spp là: Không có kiến thức về tác hại do bệnh nấm *Candida* spp; Không có kiến thức về đường lây bệnh; Mặc quần áo chung, làm việc trong môi trường ẩm ướt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Griffiths CEM, Rook’s Textbook of Dermatology 4 Volume, John Wiley & Sons, Ltd, USA, 2016.
 [2] Vũ Đức Bình, Thực trạng nhiễm *Candida*, *Trichomonas vaginalis* đường sinh dục phụ nữ

4. KẾT LUẬN

Kiến thức, thái độ, thực hành của người dân phòng chống bệnh do *Candida* spp còn thấp, các yếu tố có liên

- tuổi sinh đẻ tại huyện Tam Nông tỉnh Phú Thọ và hiệu quả điều trị, giáo dục sức khỏe (2011 - 2013), Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt Rét, Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, 2013.
- [3] Phan Thị Xuân An, Tỷ lệ viêm âm đạo do nấm *Candida spp*, *Trichomonas vaginalis* và một số yếu tố liên quan ở phụ nữ độ tuổi sinh đẻ tại phường Thành Nhất, Thành phố Buôn Ma Thuột, Đại học Tây Nguyên, 2013.
- [4] Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Trung ương, Phương pháp nghiên cứu khoa học, Sách đào tạo tiến sỹ, NXB Y học, 2019.
- [5] Nguyễn Xuân Huy, Nghiên cứu thực trạng vô sinh và một số yếu tố liên quan ở nữ công nhân tại các khu công nghiệp tỉnh Hải Dương, hiệu quả một số biện pháp can thiệp (2016 -2017), Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Trung ương, 2018.
- [6] Võ Thị Thanh Hiền, Thực trạng, một số yếu tố liên quan, thành phần loài nấm *Malassezia spp* gây bệnh lang ben ở học sinh 11 – 15 tuổi và hiệu quả can thiệp tại Hải Phòng (2016 -2017), Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, 2018.
- [7] Tôn Nữ Phương Anh, Nghiên cứu tình hình bệnh nấm ở da của các bệnh nhân đến xét nghiệm tại khoa Kí sinh trùng Bệnh viện trường đại học Y Dược Huế, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, Số 4, Tr.59–64, 2012.
- [8] Nguyễn Thái Dũng, Nghiên cứu một số đặc điểm nhiễm nấm da và kết quả điều trị ở bệnh nhân tại Trung tâm Chống Phong - Da liễu tỉnh Nghệ An năm 2015 – 2016, Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, Hà Nội, 2017.
- [9] Rosa EAR, Oral Candidosis, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2015.
- [10] Pagès A, Iriart X, Molinier L et al., Cost Effectiveness of *Candida* Polymerase Chain Reaction Detection and Empirical Antifungal Treatment among Patients with Suspected Fungal Peritonitis in the Intensive Care Unit. Value Health, 20(10),1319-1328, 2017.



THE PREVALENCE AND COMPOSITION OF *CANDIDA SPP.* IN MUCOSA OF PATIENTS EXAMINATED AT QUY HOA NATIONAL LEPROSY DERMATOLOGY HOSPITAL

Hoang Dinh Canh*, Tran Quang Phuc

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

Received 04/01/2023

Revised 31/01/2023; Accepted 22/02/2023

ABSTRACT

Objectives: The study was conducted on mucosa of people who came for examination and treatment at Quy Hoa National Leprosy Dermatology Hospital in 2019 to determine the percentage and composition of *Candida spp* and identify its classification position in the genealogical tree of fungi.

Subjects and methods: The study was designed using experimental descriptive research method in the laboratory, with direct smear in 20% KOH medium and Sabouraud culture.

Results: Among 49 positive samples with fungi using direct smear in KOH20% medium, 85.7% (42/49) were identified positive via Sabouraud culture. Morphological identification resulted in 33/42 samples of *C. albicans* (78.58%), 03/42 samples of *C.tropicalis* (7.14%), 01/42 sample of *C. glabrata* (2.38%), 01/42 sample of *C. parapsilosis* (2.38%), 01/42 sample of *C.krusei* (2.38%), and 03/42 unknown species commonly called *Candida spp* (7.14%). With molecular identification, 100% of the samples (42/42 species) were identified, including 30/42 *C. albicans* (71.44%), 04 *C.tropicalis* (28.56%), 04 *C. glabrata* (28.56%), 02 *C.parapsilosis* (4.76%), 01 *C.dubliniensis* (2.28%), and 01 *C.orthopsilosis* (2.38%).

Conclusions: Molecular method is superior to morphological method in species identification. *C. albicans* is found to be the main cause of diseases in human mucosa (71.44%), and other species account for a negligible proportion.

Keywords: Fungi, mucosa.

*Corresponding author

Email address: hoangcanh@yahoo.com

Phone number: (+84) 989 613 999

NGHIÊN CỨU TỶ LỆ THÀNH PHẦN LOÀI NẤM *CANDIDA* SPP Ở DA NIÊM MẠC TRÊN NGƯỜI ĐẾN KHÁM TẠI BỆNH VIỆN PHONG DA LIỄU QUY HÒA

Hoàng Đình Cảnh*, Trần Quang Phục

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

Ngày nhận bài: 04 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 31 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 22 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu tỷ lệ, thành phần loài nấm *Candida* spp ở da niêm mạc trên người đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa năm 2019 nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ, thành phần loài *Candida* spp và xây dựng vị trí phân loại trong cây phả hệ loài nấm.

Đối tượng và phương pháp: Đề tài được thiết kế bằng phương pháp nghiên cứu mô tả thực nghiệm tại labo, với các kỹ thuật soi tươi trong môi trường KOH 20% xác định nhiễm nấm bằng nuôi cấy nấm trong môi trường Saboraud.

Kết quả: Tỷ lệ nuôi cấy nấm (+) trong môi trường Saboraud từ 49 mẫu (+) khi soi tươi trong môi trường KOH20% là 85,7%(42/49). Kết quả định loài bằng hình thái học có 33/42 mẫu là *C. albicans* chiếm 78,58%, có 03 mẫu *C.tropicalis* chiếm 7,14%, 01 mẫu *C.glabrata* chiếm 2,38%, có 01 mẫu *C.parapsilosis* chiếm 2,38%, có 01 mẫu *C.krusei* chiếm 2,38%, có 03 mẫu chưa xác định được loài bằng hình thái gọi chung là *Candida* spp chiếm 7,14%. Kết quả định loài bằng sinh học phân tử có 100% số mẫu đã xác định được loài 42/42, trong đó có 30/42 mẫu là *C. albicans* chiếm 71,44%, có 04 mẫu *C.tropicalis* chiếm 28,56%, có 04 mẫu *C.glabrata* chiếm 28,56%, có 02 mẫu *C.parapsilosis* chiếm 4,76%, có 01 mẫu *C.dublinsiensis* chiếm 2,28%, có 01 mẫu là *C.orthopsilosis* chiếm 2,38%.

Kết luận: Bằng kỹ thuật sinh học phân tử cao hơn phương pháp định danh bằng hình thái học. Loài *C. albicans* chiếm ưu thế trong gây bệnh ở da niêm mạc trên người bệnh (71,44%), các loài khác chiếm tỷ lệ không đáng kể.

Từ khóa: Nấm, da - niêm mạc.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Candida spp là một nấm men phổ biến trong thiên nhiên, đa số sống hoại sinh, một số ít ký sinh trên người và súc vật. *Candida* spp là một trong những căn nguyên gây bệnh thường gặp nhất. *Candida* spp thuộc chi nấm

men, họ *Cryptococcaceae*, hình tròn hoặc hình bầu dục, đôi khi gặp dạng sợi hoặc vô định hình, kích thước dao động từ 3 – 10 nm, sinh sản bằng bào tử hoặc nảy chồi. Bình thường có thể tìm thấy *Candida* spp ký sinh ở trên da, trong họng miệng, đường tiêu hoá, âm đạo... mà không gây bệnh, chúng sống cộng sinh và cân bằng

*Tác giả liên hệ

Email: hoangcanh@yahoo.com

Điện thoại: (+84) 989 613 999



trong vi hệ bình thường. *Candida* spp thực sự gây bệnh cho người khi cơ thể suy giảm miễn dịch và có yếu tố thuận lợi. Có nhiều loài *Candida* spp, mỗi loài khác nhau có độc tính khác nhau nên khả năng gây bệnh khác nhau. Như các loài *Candida* spp tồn tại được trong môi trường niêm mạc âm đạo, đầu tiên chúng phải bám dính được vào tế bào biểu mô niêm mạc, sau đó, xâm nhập vào tế bào biểu mô âm đạo nhờ men phân huỷ protein đặc hiệu do *Candida* spp tiết ra [1], [2]. Đối với *Candida albicans* có khả năng bám dính và xâm nhập vào tế bào biểu mô niêm mạc cao hơn các loài *Candida* spp khác [1], [3].

Khu vực miền Trung có khí hậu nóng ẩm, điều kiện kinh tế xã hội và vệ sinh của người dân còn nhiều hạn chế, nên tỷ lệ nhiễm trong cộng đồng cao. Theo số liệu thống kê của Bệnh viện Phong - Da liễu Trung ương Quy Hòa từ năm 2011 đến năm 2013 bệnh nấm da có tỷ lệ 5,3% trong các bệnh da – niêm mạc. Đến nay, chưa có một đề tài có tính chất quy mô về tỷ lệ thành phần loài nấm *Candida* spp trên địa bàn, với tính cấp thiết của vấn đề chúng tôi thực hiện đề tài: Nghiên cứu tỷ lệ, thành phần loài nấm *Candida* spp ở da niêm mạc trên người đến khám và điều trị tại Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa năm 2019, nhằm mục tiêu: Xác định tỷ lệ, thành phần loài *Candida* spp và xây dựng vị trí phân loại trong cây phả hệ loài nấm.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu:

+ Các mẫu bệnh phẩm (+) qua kỹ thuật soi tươi trong môi trường KOH20%.

+ Các chủng nuôi cấy nấm (+) trong môi trường Saboraud.

- **Địa điểm nghiên cứu:** Nghiên cứu thực hiện tại Labo xét nghiệm vi sinh Bệnh viện Phong Da liễu Trung ương Quy Hòa

- **Thời gian nghiên cứu:** Năm 2019

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Đề tài được thiết kế bằng phương pháp nghiên cứu mô tả thực nghiệm tại labo [4]

2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

- Cỡ mẫu nghiên cứu người bệnh:

+ 49 mẫu nuôi cấy nấm từ những bệnh nhân có kết quả soi tươi trong môi trường KOH20% (+).

+ 42 chủng nuôi cấy nấm (+) trong môi trường Saboraud.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu, các chỉ số nghiên cứu

- Nghiên cứu tỷ lệ (+) qua nuôi cấy nấm trong môi trường Saboraud với pH 4,5, có kháng sinh chloramphenicol và các kháng sinh cần thiết khác; Định danh loài bằng hình thái với các khóa định loài nấm *Candida* spp [1], [5], [6].

- Xác định tỷ lệ, thành phần loài nấm *Candida* spp bằng kỹ thuật sinh học phân tử với gen mồi ITS-1, ITS-4.

2.2.4. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

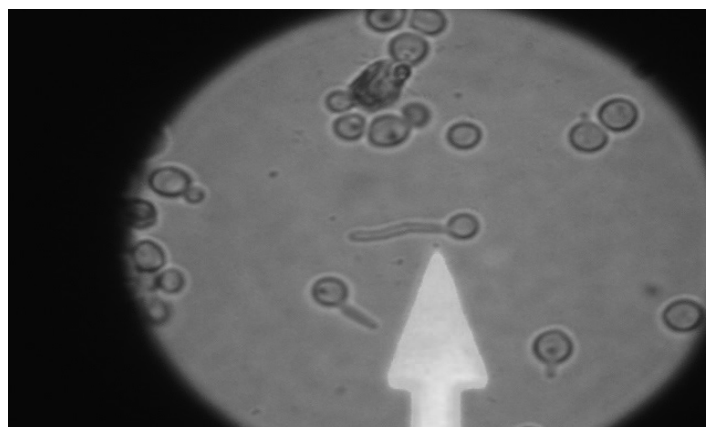
Đề tài sử dụng các kỹ thuật trong nghiên cứu sau:

- Kỹ thuật nuôi cấy nấm trong môi trường Saboraud;

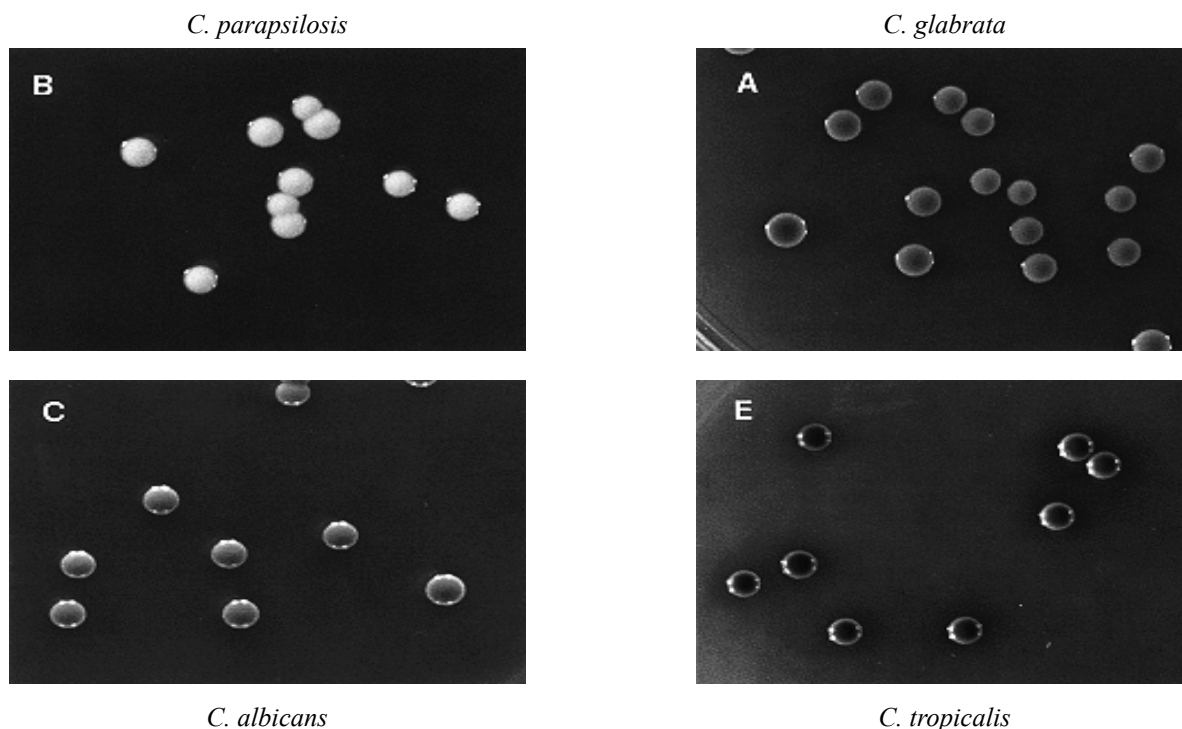
- Kỹ thuật phân lập *Candida* spp trong môi trường Chromo agar

- Kỹ thuật test mầm giá định danh loài *Candida* spp

Hình 2.1. Hình ảnh test mầm giá



Hình 2.2. Hình ảnh khuẩn lạc trên môi trường Chrom agar



- Kỹ thuật định danh bằng phản ứng đồng hóa đường trên bộ kit API 20C AUX(MT3)
- Kỹ thuật định danh loài nấm bằng hình thái học.
- Kỹ thuật giải trình tự gen nấm *Candida* spp.

DNA là cơ sở hóa học gen. Giải trình tự gen là quy trình xác định được thứ tự sắp xếp 4 loại nucleotide trên phân tử DNA. Xác định trình tự cho kết quả là mô tả tuyến tính một cách hình ảnh hay còn gọi là “chuỗi”, tóm tắt súc tích cấu trúc ở mức nguyên tử của phân tử vừa được xác định trình tự. Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gửi đi giải trình tự trực tiếp Công ty Nam Khoa Biotech theo phương pháp Sanger. Các trình tự gen ITS của các chủng *Candida* spp đăng ký trên ngân hàng gen được sử dụng để so sánh phân tích phả hệ nguồn gốc bằng chương trình MEGA6.06 sử dụng phương pháp “kết nối liền kề” (neighbor-joining, NJ) với hệ số tin cậy

1000 bootstrap (Tamura et al., 2013).

2.2.5. Nhập và phân tích số liệu

Các số liệu được nhập và phân tích theo bằng chương trình SPSS và Stata 16.0 [4].

2.2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

Tuân thủ nghiêm túc các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, đảm bảo đầy đủ quyền lợi và nghĩa vụ của người tham gia nghiên cứu, chỉ nghiên cứu ở người tự nguyện [4].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả xác định loài

3.1.1. Kết quả nuôi cấy nấm trong môi trường Sabouraud và định danh bằng hình thái

Bảng 3.1. Tỷ lệ (+) khi nuôi cấy nấm trong môi trường Sabouraud (n= 49)

Kết quả nuôi cấy	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Có khuẩn lạc nấm (+)	42	85,7
Không có khuẩn lạc (-)	07	14,3
Chung	49	100,0



Tỷ lệ có khuẩn lạc nấm *Candida* spp là 85,7%(42/49), không có khuẩn lạc là 14,3%(07/49).

Bảng 3.2 Kết quả định danh bằng hình thái học các mẫu nấm *Candida* spp (n = 42)

TT	Mã bệnh nhân	Định danh bằng hình thái
1	D.N02	<i>C.albicans</i>
2	D.N03	<i>C.glabrata</i>
3	D.N04	<i>C.albicans</i>
4	D.N05	<i>C.albicans</i>
5	D.N06	<i>C.albicans</i>
6	D.N07	<i>C.albicans</i>
7	D.N08	<i>C.albicans</i>
8	D.N09	<i>C.albicans</i>
9	D.N10	<i>C.albicans</i>
10	D.N11	<i>C.albicans</i>
11	D.N12	<i>Candida</i> spp
12	D.N13	<i>C.albicans</i>
13	D.N14	<i>C.albicans</i>
14	D.N15	<i>C.parapsilosis</i>
15	D.N16	<i>C.albicans</i>
16	D.N17	<i>C.albicans</i>
17	D.N19	<i>C.albicans</i>
18	D.N21	<i>C.krusei</i>
19	D.N22	<i>C.albicans</i>
20	D.N23	<i>C.albicans</i>
21	D.N24	<i>C.tropicalis</i>
22	D.N25	<i>C.tropicalis</i>
23	D.N26	<i>C.albicans</i>
24	D.N27	<i>C.albicans</i>
25	D.N28	<i>C.albicans</i>
26	D.N29	<i>C.albicans</i>
27	D.N30	<i>C.albicans</i>
28	D.N31	<i>Candida</i> spp
29	D.N33	<i>C.albicans</i>

TT	Mã bệnh nhân	Định danh bằng hình thái
30	D.N34	<i>C.krusei</i>
31	D.N36	<i>C.tropicalis</i>
32	D.N38	<i>C.albicans</i>
33	D.N39	<i>C.albicans</i>
34	D.N40	<i>C.albicans</i>
35	D.N41	<i>C.albicans</i>
36	D.N42	<i>Candida spp</i>
37	D.N43	<i>C.albicans</i>
38	D.N46	<i>C.albicans</i>
39	D.N47	<i>C.albicans</i>
40	D.N48	<i>C.albicans</i>
41	D.N49	<i>C.albicans</i>
42	D.N50	<i>C.albicans</i>

Tổng số có 35/42(83,33%) mẫu phù hợp với xác định bằng hình thái cho kết quả là *Candida spp* hoặc một loài hình thái học và có 7/42 (16,67%) mẫu định danh loài khác.

Bảng 3.3. Kết quả định danh bằng sinh học phân tử (n = 42)

TT	Mã bệnh nhân	Kết quả giải trình tự gen
1	D.N02	<i>C.albicans</i>
2	D.N03	<i>C.glabrata</i>
3	D.N04	<i>C.glabrata</i>
4	D.N05	<i>C.albicans</i>
5	D.N06	<i>C.albicans</i>
6	D.N07	<i>C.albicans</i>
7	D.N08	<i>C.albicans</i>
8	D.N09	<i>C.albicans</i>
9	D.N10	<i>C.albicans</i>
10	D.N11	<i>C.albicans</i>
11	D.N12	<i>C.glabrata</i>
12	D.N13	<i>C.albicans</i>
13	D.N14	<i>C.albicans</i>



TT	Mã bệnh nhân	Kết quả giải trình tự gen
14	D.N15	<i>C.parapsilosis</i>
15	D.N16	<i>C.albicans</i>
16	D.N17	<i>C.albicans</i>
17	D.N19	<i>C.albicans</i>
18	D.N21	<i>C.orthopsilosis</i>
19	D.N22	<i>C.albicans</i>
20	D.N23	<i>C.albicans</i>
21	D.N24	<i>C.tropicalis</i>
22	D.N25	<i>C.tropicalis</i>
23	D.N26	<i>C.albicans</i>
24	D.N27	<i>C.albicans</i>
25	D.N28	<i>C.albicans</i>
26	D.N29	<i>C.albicans</i>
27	D.N30	<i>C.albicans</i>
28	D.N31	<i>C.glabrata</i>
29	D.N33	<i>C.albicans</i>
30	D.N34	<i>C.tropicalis</i>
31	D.N36	<i>C.tropicalis</i>
32	D.N38	<i>C.albicans</i>
33	D.N39	<i>C.albicans</i>
34	D.N40	<i>C.dublinsiensis</i>
35	D.N41	<i>C.albicans</i>
36	D.N42	<i>C.parapsilosis</i>
37	D.N43	<i>C.albicans</i>
38	D.N46	<i>C.albicans</i>
39	D.N47	<i>C.albicans</i>
40	D.N48	<i>C.albicans</i>
41	D.N49	<i>C.albicans</i>
42	D.N50	<i>C.albicans</i>

Bảng 3.4. Tỷ lệ, thành phần các chủng nấm trong giải trình tự gen (n =42)

TT	Các chủng nấm	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Giá trị p
1	<i>C. albicans</i> (1)	30	71,4	P _{1:2,3,4,5,6} < 0,05
2	<i>C. glabrata</i> (2)	4	9,5	
3	<i>C. tropicalis</i> (3)	4	9,5	
4	<i>C. parapsilosis</i> (4)	2	4,8	
5	<i>C. orthopsilosis</i> (5)	1	2,4	
6	<i>C. dubliniensis</i> (6)	1	2,4	
Tổng số		42	100	

Khác biệt có ý nghĩa thống kê tỷ lệ loài *C. albicans* so với 9,55, 9,5%, 4,8%, 2,4% và 2,4%, với p < 0,05. so với tỷ lệ các loài nấm *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Candida* spp, *C. krusei*, với các tỷ lệ 71,4% **3.1.2. Kết quả so sánh nuôi cấy định danh bằng hình thái và giải trình tự gen**

Bảng 3.5. So sánh kết quả các chủng nấm bằng hình thái và giải trình tự gen (n =42)

TT	Mã bệnh nhân	Định danh bằng hình thái	Kết quả giải trình tự gen
1	D.N02	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
2	D.N03	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>
3	D.N04	<i>C.albicans</i>	<i>C.glabrata</i>
4	D.N05	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
5	D.N06	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
6	D.N07	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
7	D.N08	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
8	D.N09	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
9	D.N10	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
10	D.N11	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
11	D.N12	<i>Candida</i> spp	<i>C.glabrata</i>
12	D.N13	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
13	D.N14	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
14	D.N15	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>
15	D.N16	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
16	D.N17	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
17	D.N19	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
18	D.N21	<i>C.krusei</i>	<i>C.orthopsilosis</i>

TT	Mã bệnh nhân	Định danh bằng hình thái	Kết quả giải trình tự gen
19	D.N22	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
20	D.N23	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
21	D.N24	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
22	D.N25	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
23	D.N26	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
24	D.N27	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
25	D.N28	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
26	D.N29	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
27	D.N30	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
28	D.N31	<i>Candida spp</i>	<i>C.glabrata</i>
29	D.N33	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
30	D.N34	<i>C.krusei</i>	<i>C.tropicalis</i>
31	D.N36	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
32	D.N38	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
33	D.N39	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
34	D.N40	<i>C.albicans</i>	<i>C.dubliniensis</i>
35	D.N41	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
36	D.N42	<i>Candida spp</i>	<i>C.parapsilosis</i>
37	D.N43	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
38	D.N46	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
39	D.N47	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
40	D.N48	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
41	D.N49	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
42	D.N50	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>

Tổng số có 35/42(83,33%) mẫu phù hợp với xác định loài bằng cả hai phương pháp hình thái và giải trình tự gen.

Có 7/42(16,67%) mẫu định danh bằng hình thái cho kết quả là *Candida spp* hoặc một loài khác, khi định danh bằng giải trình tự gen đều cho kết quả cụ thể tên loài:

- D.N04 định loài bằng hình thái là *C.albicans* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.glabrata*; Mẫu D.N40 định loài bằng hình thái là *C.albicans* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.dubliniensis*

- Mẫu D.N12 định loài bằng hình thái là *Candida spp* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.glabrata*

- Mẫu D.N21 định loài bằng hình thái là *C.krusei* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.orthopsilosis*; Mẫu D.N34 định loài bằng hình thái là *C.krusei* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.tropicalis*

- Mẫu D.N31 định loài bằng hình thái là *Candida spp* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.glabrata*; Mẫu D.N42 định loài bằng hình thái là *Candida spp* khi định loài bằng giải trình tự gen là *C.parapsilosis*

Bảng 3.6. Chiều dài vùng ITS của các mẫu nấm (n =42)

Chiều dài vùng ITS (bp)	Mẫu số	Kết quả BLAST	
		Tên loài	Độ tương đồng (%)
472	DN 21	<i>C.orthopsilosis</i>	100,0
481	DN 15, 24	<i>C.parapsilosis</i>	100,0
485	DN34	<i>C.tropicalis</i>	100,0
486	DN36		100,0
497	DN5, 7, 8, 9, 11, 13, 16, 17, 19, 26, 27, 28, 29, 30, 36, 38, 39, 47, 48, 50	<i>C. albicans</i>	100,0
498	DN2, 6, 14, 43, 46, 49		
502	DN22	<i>C.dublinsiensis</i>	100,0
842	DN12	<i>C. glabrata</i>	100,0
844	DN4		
848	DN3		

Phân tích các trình tự cho thấy trình tự của 37 mẫu có độ dài dao động từ 472 – 848 bp. So sánh với các trình tự trên Ngân hàng gen NCBI cho thấy các trình tự mẫu tương đồng cao(99,0-100%) với 6 loài nấm *Candida* spp:

- *C. orthopsilosis*
- *C. parapsilosis*
- *C. tropicalis*
- *C. albicans*
- *C. dubliniensis*
- *C. glabrata*

Chiều dài vùng ITS của các mẫu giải trình tự gen:

- *C. parapsilosis* (481bp);
- *C. tropicalis* (485-486bp);
- *C. albicans* (497-498bp);
- *C. dubliniensis* (502bp);
- *C. glabrata* (842-848).

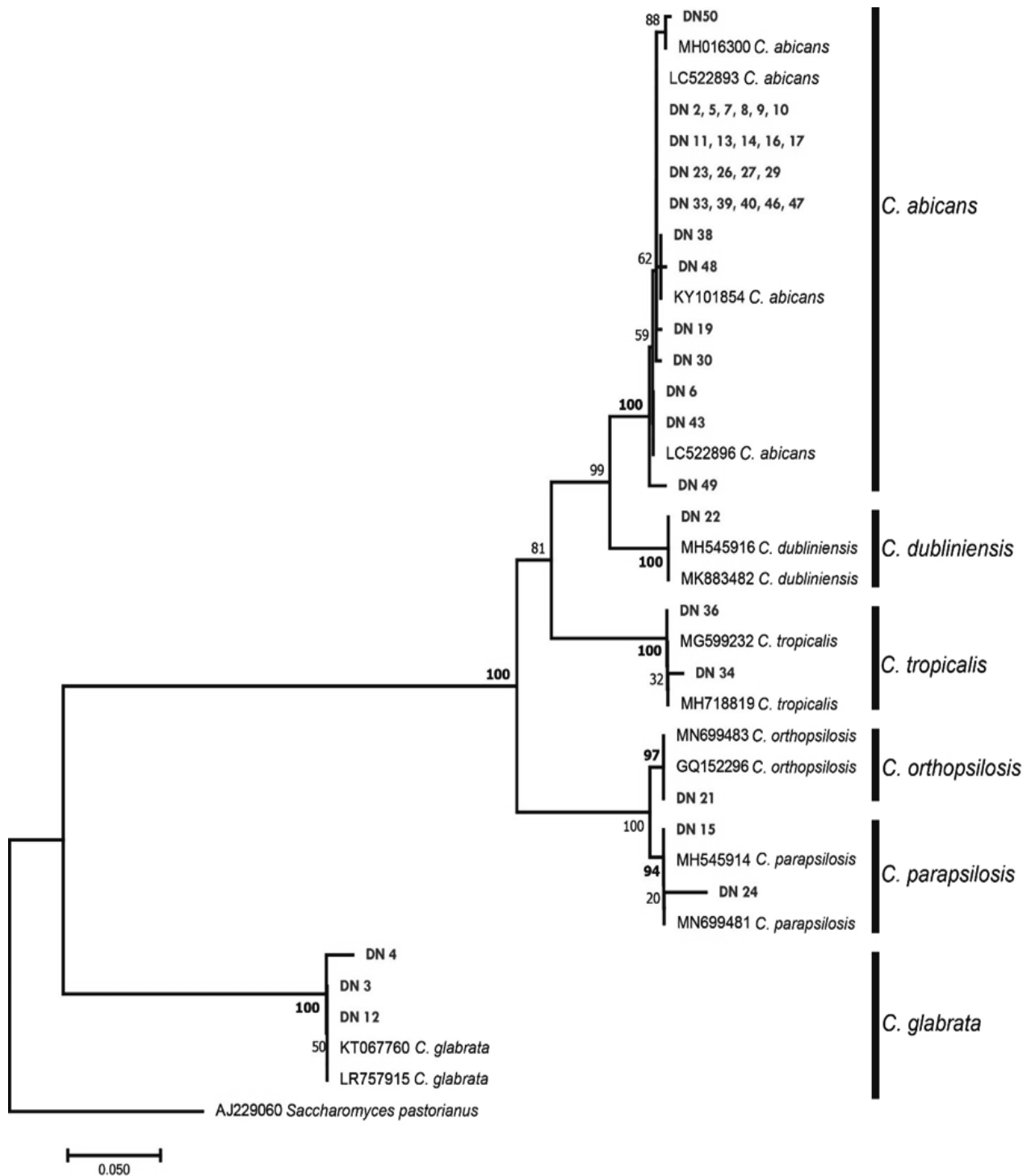
Còn lại 05 mẫu có đoạn chuỗi AND bị rớt không đưa vào phân tích phả hệ, nhưng vẫn có thể dùng để xác định loài bằng chương trình BLAST.

3.2. Kết quả bản đồ phả hệ gen

Kết quả vị trí trong cây phả hệ trong nghiên cứu theo hình 3.2 sau:



Hình 3.2. Mối quan hệ di truyền các loài *Candida* spp dựa trên trình tự vùng ITS được xây dựng bằng phương pháp Neighbor Joining trên phần mềm MEGA6



Trình bày cây phả hệ biểu thị mối quan hệ giữa các chủng nấm cho thấy: các loài nấm phân lập và phân tích trong nghiên cứu này, tùy theo mức độ khác nhau về phân loại mà có những sự sắp xếp khác nhau trong cây phả hệ sơ bộ kết luận chúng thuộc về 6 chủng nấm khác nhau đó là: *C. albicans*, *C. glabrata*,

C. tropicalis, *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* và *C. dubliniensis* [9], [10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng như của các tác giả như Nguyễn Xuân Huy (2018) [5], về tỷ lệ thành phần loài nấm gây bệnh ở đường sinh dục.

4. KẾT LUẬN

Khả năng phát hiện định danh loài nấm *Candida* spp bằng kỹ thuật sinh học phân tử cao hơn phương pháp định danh bằng hình thái học. Loài *C. albicans* chiếm ưu thế trong gây bệnh ở da niêm mạc trên người bệnh (71,44%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Griffiths CEM, Rook's Textbook of Dermatology 4 Volume, John Wiley & Sons, Ltd, USA, 2016.
- [2] Vũ Đức Bình, Thực trạng nhiễm *Candida*, *Trichomonas vaginalis* đường sinh dục phụ nữ tuổi sinh đẻ tại huyện Tam Nông tỉnh Phú Thọ và hiệu quả điều trị, giáo dục sức khỏe (2011 - 2013), Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt rét Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, 2013.
- [3] Phan Thị Xuân An, Tỷ lệ viêm âm đạo do nấm *Candida* spp, *Trichomonas vaginalis* và một số yếu tố liên quan ở phụ nữ độ tuổi sinh đẻ tại phường Thành Nhất, Thành phố Buôn Ma Thuột, Đại học Tây Nguyên, 2013.
- [4] Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Trung ương, Phương pháp nghiên cứu khoa học, Sách đào tạo tiến sĩ, NXB Y học, 2019.
- [5] Nguyễn Xuân Huy, Nghiên cứu thực trạng vô sinh và một số yếu tố liên quan ở nữ công nhân tại các khu công nghiệp tỉnh Hải Dương, hiệu quả một số biện pháp can thiệp (2016 -2017), Luận án tiến sĩ y học, Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Trung ương, 2018.
- [6] Võ Thị Thanh Hiền, Thực trạng, một số yếu tố liên quan, thành phần loài nấm *Malassezia* spp gây bệnh lang ben ở học sinh 11 – 15 tuổi và hiệu quả can thiệp tại Hải Phòng (2016 -2017), Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, 2018.
- [7] Tôn Nữ Phương Anh, Nghiên cứu tình hình bệnh nấm ở da của các bệnh nhân đến xét nghiệm tại khoa Kí sinh trùng Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 2012, 4, 59–64.
- [8] Nguyễn Thái Dũng, Nghiên cứu một số đặc điểm nhiễm nấm da và kết quả điều trị ở bệnh nhân tại Trung tâm Chống Phong - Da liễu tỉnh Nghệ An năm 2015 – 2016, Luận án tiến sĩ Y học, Viện Sốt rét Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, Hà Nội, 2017.
- [9] Rosa EAR, Oral Candidosis, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2015.
- [10] Pagès A, Iriart X, Molinier L et al., Cost Effectiveness of *Candida* Polymerase Chain Reaction Detection and Empirical Antifungal Treatment among Patients with Suspected Fungal Peritonitis in the Intensive Care Unit. Value Health, 20(10),1319-1328, 2017.



FACTORS RELATED TO THE QUALITY OF LIFE OF PATIENTS WITH END-STAGE CHRONIC KIDNEY DISEASE AT NGHE AN FRIENDSHIP GENERAL HOSPITAL (2021)

Tran Tat Thang^{1,*}, Hoang Dinh Canh², Hoang Thi Thanh³

¹Nghe An Eye Hospital - Nghi Phu, Vinh city, Nghe An, Vietnam

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

³Nghe An Friendship General Hospital - Km5, V.I. Le Nin, Vinh, Nghe An, Vietnam

Received 09/12/2022

Revised 12/01/2023; Accepted 15/02/2023

ABSTRACT

Objectives: The issue of improving the quality of life for patients with chronic kidney failure is increasingly focused. The scale of assessment of quality of life by questionnaire SF-36 was developed and used by European countries on many different chronic diseases. To determine the factors related to quality of life in patients with end-stage chronic renal failure at Nghe An Friendship General Hospital

Methods: The study employed descriptive analytical research method with the study subjects were patients with end-stage chronic kidney disease treated at Nghe An Friendship General Hospital

Results: There was no relationship between the index of urea, creatinine, Hb, HATT, HATTr with SF-36, MCS, PCS scores. Kidney disease symptoms have a strong correlation with SF-36 score (with $r = 0.567$, $p < 0.001$, there is a fairly close correlation between kidney disease burden and SF-36 score ($r = 0.566$), $p < 0.001$) The field of social support with SF-36 score, mental health and physical health showed a positive correlation between SF-36 score ($r = 0.310$; $p < 0.001$), Support area of dialysis staff with SF-36 score, mental health and physical health for results. was negatively correlated with scores SF-36 ($r = -0.387$, $p < 0.001$), MCS ($r = -0.345$; $p < 0.001$).

Conclusion: There is a relationship between quality of life and kidney disease symptoms, burden of kidney disease, social support and care of dialysis staff. There was no relationship between quality of life and Urea, creatinine, Hb, HAR, HATTr indexes.

Keywords: Chronic kidney disease, SF-36, chronic kidney failure, quality of life.

*Corresponding author

Email address: thangmatna@gmail.com

Phone number: (+84) 913 055 375

CÁC YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN CHẤT LƯỢNG CUỘC SỐNG Ở BỆNH NHÂN SUY THẬN MẠN GIAI ĐOẠN CUỐI TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ ĐA KHOA NGHỆ AN (2021)

Trần Tất Thắng^{1,*}, Hoàng Đình Cảnh², Hoàng Thị Thành³

¹Bệnh viện Mắt Nghệ An - Nghi Phú, TP Vinh, Nghệ An, Việt Nam

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

³Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An - Km số 5, V.I. Lê Nin, thành phố Vinh, Nghệ An, Việt Nam

Ngày nhận bài: 09 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 12 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 15 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Vấn đề nâng cao chất lượng cuộc sống cho người bệnh suy thận mạn ngày càng được chú trọng. Thang điểm đánh giá chất lượng cuộc sống bằng bộ câu hỏi SF-36 được các nước châu Âu xây dựng và sử dụng trên nhiều bệnh lý mạn khác nhau. Đề tài nhằm xác định các yếu tố liên quan đến chất lượng cuộc sống ở bệnh nhân suy thận mạn giai đoạn cuối tại Bệnh viện Hữu nghị đa khoa Nghệ An.

Phương pháp nghiên cứu: Đề tài được thiết kế bằng phương pháp nghiên cứu mô tả có phân tích với đối tượng nghiên cứu là các bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối điều trị tại Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An.

Kết quả: Không có mối tương quan nào giữa chỉ số ure, creatinin, Hb, HATT, HATTr với điểm SF-36, MCS, PCS. Triệu chứng bệnh thận có mối tương quan đồng biến chặt chẽ với điểm SF-36 (với $r = 0,567$; $p < 0,001$, có mối tương quan đồng biến khá chặt chẽ giữa gánh nặng bệnh thận với điểm SF-36 ($r = 0,566$; $p < 0,001$). Lĩnh vực hỗ trợ xã hội với điểm SF-36, sức khỏe tinh thần và sức khỏe thể chất cho kết quả có mối tương quan đồng biến giữa điểm SF-36 ($r = 0,310$; $p < 0,001$). Lĩnh vực hỗ trợ của nhân viên lọc máu với điểm SF-36, sức khỏe tinh thần và sức khỏe thể chất cho kết quả có mối tương quan nghịch với điểm SF-36 ($r = -0,387$; $p < 0,001$), MCS ($r = -0,345$; $p < 0,001$).

Kết luận: Có mối liên quan giữa chất lượng cuộc sống với triệu chứng bệnh thận, gánh nặng bệnh thận, hỗ trợ xã hội và chăm sóc của nhân viên lọc. Không có mối liên quan giữa chất lượng cuộc sống với các chỉ số Ure, creatinine, Hb, HAR, HATTr.

Từ khóa: Bệnh thận mạn, SF-36, suy thận mạn, chất lượng cuộc sống.

*Tác giả liên hệ

Email: thangmatna@gmail.com

Điện thoại: (+84) 913 055 375



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận mạn đang là một vấn đề sức khỏe toàn cầu và là gánh nặng chung của toàn thế giới [1], [2]. Tại Việt Nam, số bệnh nhân mắc bệnh thận mạn ngày càng tăng. Theo điều tra của Bộ Y tế năm 2019, tỷ lệ mắc bệnh thận ước tính là 6,73% dân số [3], khoảng 5,4 triệu người.

Nguyễn Cảnh Phú (2015), tỷ lệ bệnh nhân suy thận mạn cho các vùng là 1,042% [2]. Trong đó gặp chủ yếu ở vùng miền núi và vùng ven biển, nhưng không có sự khác biệt giữa các vùng [4]. Vấn đề nâng cao chất lượng cuộc sống cho người bệnh suy thận mạn và bệnh nhân lọc máu chu kỳ ngày càng được chú trọng [5], [6]. Thang điểm đánh giá chất lượng cuộc sống bằng bộ câu hỏi SF-36 được các nước châu Âu xây dựng và sử dụng trên nhiều bệnh lý mạn khác nhau [7], thang điểm này đã được ứng dụng trong nghiên cứu đánh giá chất lượng cuộc sống bệnh nhân suy thận mạn tại Việt Nam [8], [9]. Để góp phần đánh giá hiệu quả điều trị cũng như chăm sóc bệnh nhân bệnh thận mạn và có những giải pháp can thiệp phù hợp chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu xác định các yếu tố liên quan đến chất lượng cuộc sống ở bệnh nhân suy thận mạn giai đoạn cuối tại Bệnh viện Hữu nghị đa khoa Nghệ An (2021) bằng bộ câu hỏi SF-36.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm, thời gian nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** Gồm các bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối.

+ **Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:** Bệnh nhân > 16 tuổi được chẩn đoán xác định bệnh thận giai đoạn cuối chưa chạy thận lần nào, đồng ý tham gia trả lời câu hỏi.

+ **Tiêu chuẩn loại trừ:** Bệnh nhân đang ở tình trạng cấp cứu như: phù phổi cấp, suy hô hấp, nhiễm trùng

hoặc đợt cấp suy thận mạn tính, người bệnh rối loạn tâm thần.

- **Địa điểm nghiên cứu:** Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An

- **Thời gian nghiên cứu:** Từ tháng 10/2020 đến tháng 5/2021.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả loạt ca bệnh có phân tích.

- **Nội dung và các chỉ số nghiên cứu:** Tuổi, giới tính, trình độ học vấn, nghề nghiệp, điều kiện kinh tế, bệnh nền, chỉ số BMI, công thức máu, sinh hóa máu, bộ câu hỏi chất lượng cuộc sống bệnh nhân bệnh thận mạn SF-36. Tiêu chuẩn chẩn đoán bệnh thận mạn: Chẩn đoán bệnh thận mạn theo KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) (NKF-KDOQI) 2012 [8]. Bệnh thận mạn giai đoạn cuối khi mức lọc cầu thận giảm nặng (< 15 ml/ph 1,73 m²) hoặc phải điều trị thay thế thận. Tất cả BN được tính MLCT theo công thức Cockcroft Gault ước đoán độ thanh lọc creatinine [10].

2.3. Xử lý và phân tích số liệu

Số liệu sau khi thu thập sẽ được xử lý bằng phần mềm thống kê STATA 16.0. Các biến số định lượng độc lập được kiểm định bằng phép kiểm *t*.

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu

Tuân thủ mọi quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, các thông tin cá nhân bệnh nhân đều được giữ bí mật tuyệt đối. Quyền lợi và nghĩa vụ của người bệnh được đảm bảo.

3. KẾT QUẢ

3.1. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và các yếu tố ure, hemoglobin, huyết áp

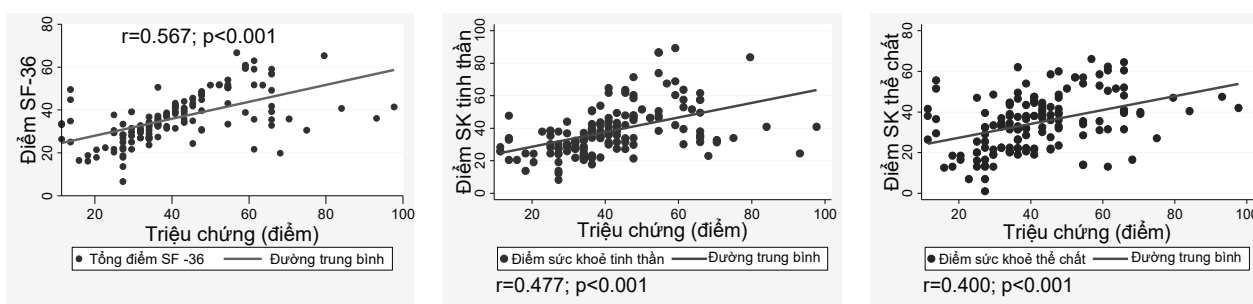
Bảng 1. Tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và các chỉ số Ure, creatinin, hemoglobin và huyết áp

Chỉ số SL, SH	Điểm SF-36		
	Điểm SF-36 r(p)	MCS r(p)	PCS r(p)
Urê	0,092 (0,264)	0,046 (0,577)	0,035 (0,668)
Creatinin	0,004 (0,963)	0,003 (0,971)	0,003(0,971)
Hb	0,047 (0,572)	0,024 (0,772)	0,077 (0,349)
HA tâm thu	0,024 (0,772)	0,131 (0,109)	0,072 (0,378)
HA tâm trương	0,019 (0,813)	0,079 (0,335)	0,043 (0,602)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, không có mối tương quan nào giữa chỉ số ure, creatinin, Hb, HATT, HATTTr với điểm SF-36, MCS, PCS.

3.2. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và triệu chứng bệnh thận

Hình 1. Tương quan điểm số SF-36, MCS, PCS với triệu chứng

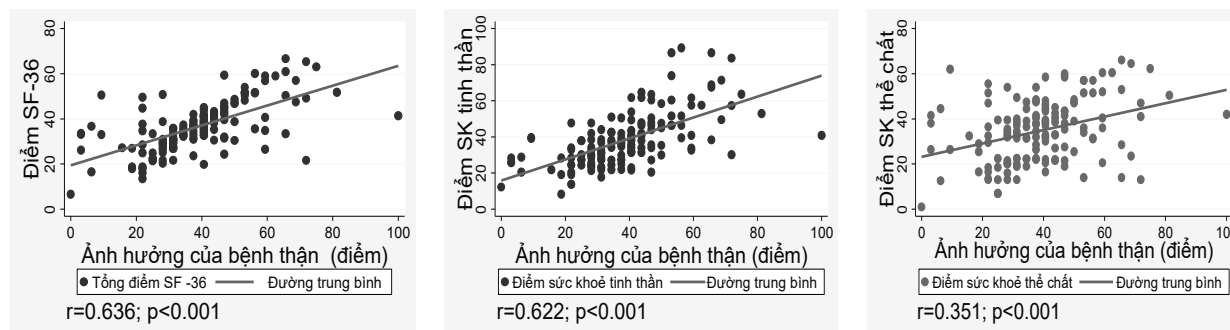


Triệu chứng bệnh thận có mối tương quan đồng biến chặt chẽ với điểm SF-36 (với $r = 0,567$; $p < 0,001$), điểm sức khoẻ tinh thần (với $r = 0,477$; $p < 0,001$) và

điểm sức khoẻ thể chất (với $r = 0,400$; $p < 0,001$).

3.3. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và ảnh hưởng của bệnh thận

Hình 2. Tương quan giữa điểm số SF-36, MCS, PCS với ảnh hưởng của bệnh thận

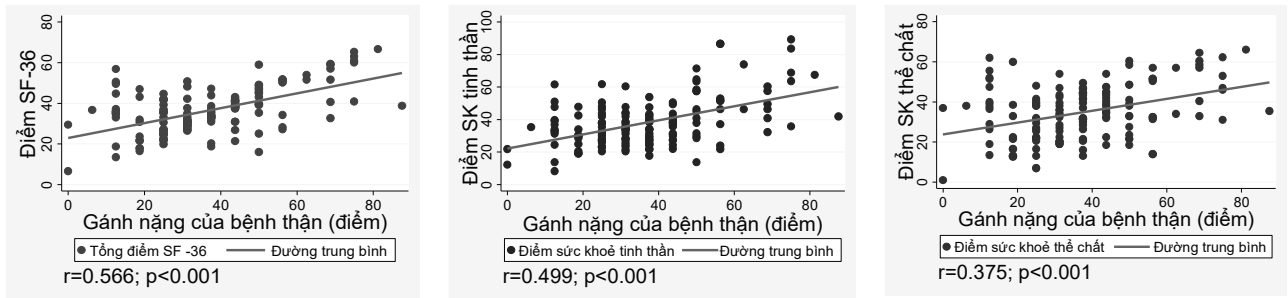


Kết quả cho thấy vấn đề ảnh hưởng của bệnh thận có mối tương quan đồng biến chặt chẽ với điểm SF-36 ($r = 0,636$; $p < 0,001$), MCS ($r = 0,622$; $p < 0,001$), PCS (r

$= 0,351$; $p < 0,001$).

3.4. Mối tương quan giữa điểm số SF-36, MCS, PCS và gánh nặng của bệnh thận

Hình 3. Tương quan điểm số SF-36, MCS, PCS với gánh nặng bệnh thận

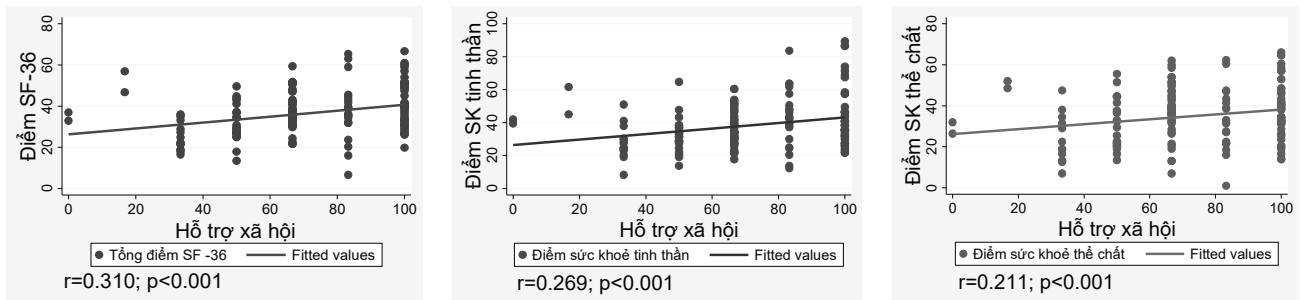


Có mối tương quan đồng biến chặt chẽ giữa gánh nặng bệnh thận với điểm SF-36 ($r = 0,566$; $p < 0,001$), điểm sức khỏe tinh thần ($r = 0,499$; $p < 0,001$) và sức khỏe

thể chất ($r = 0,375$; $p < 0,001$).

3.5. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và hỗ trợ xã hội

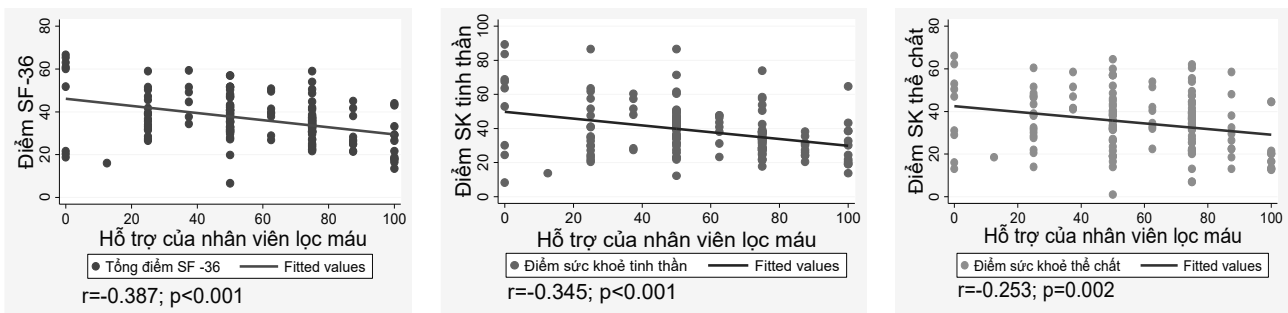
Hình 4. Tương quan điểm số SF-36, MCS, PCS và hỗ trợ xã hội



Có mối tương quan đồng biến giữa điểm SF-36 ($r = 0,310$; $p < 0,001$).

3.6. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và hỗ trợ của nhân viên lọc máu

Hình 5. Tương quan điểm số SF-36, MCS, PCS với hỗ trợ của nhân viên lọc máu



Có tương quan nghịch với điểm SF-36 ($r = -0,387$; $p < 0,001$), MCS ($r = -0,345$; $p < 0,001$).

và các yếu tố ure, hemoglobin, huyết áp

Kết quả của đề tài không có mối tương quan nào giữa chỉ số ure, creatinin, Hb, HATT, HATTTr với điểm SF-36, MCS, PCS ($p > 0,05$), tương tự với kết quả nghiên cứu của tác giả Hoàng Nam Phong (2013) [9]. Tuy nhiên, khi so sánh với một số nghiên cứu của các tác

4. BÀN LUẬN

4.1. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS

giả: Hoàng Bùi Bảo (2012), có tương quan nghịch biến giữa điểm SF-36 với chỉ số ure ($r = -0,31$, $p < 0,05$), creatinin ($r = -0,3$, $p < 0,05$); không có tương quan giữa điểm SF-36 với chỉ số HATT ($r = -0,02$, $p > 0,05$) và HATTr ($r = -0,05$, $p > 0,05$); có tương quan thuận giữa điểm SF-36 với Hb ($r = 0,55$, $p < 0,01$) [13]. Nguyễn Dũng và CS (2014), có tương quan nghịch biến giữa điểm SF-36 với chỉ số ure ($r = -0,62$, $p < 0,01$), creatinin ($r = -0,69$, $p < 0,01$), HATT ($r = -0,81$, $p < 0,01$), HATTr ($r = -0,80$, $p < 0,01$), tương quan thuận giữa điểm SF-36 và Hb ($r = 0,62$, $p < 0,01$) [8].

4.2. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và triệu chứng bệnh thận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, triệu chứng bệnh thận có mối tương quan đồng biến chặt chẽ với điểm SF-36 (với $r = 0,567$; $p < 0,001$), điểm sức khỏe tinh thần (với $r = 0,477$; $p < 0,001$) và điểm sức khỏe thể chất (với $r = 0,400$; $p < 0,001$). Kết quả này cũng phù hợp với kết quả của tác giả Hoàng Nam Phong (2013), với tương quan đồng biến giữa triệu chứng với điểm SF-36 ($r = 0,61$; $p < 0,001$), điểm sức khỏe tinh thần ($r = 0,44$; $p < 0,001$) và điểm sức khỏe thể chất ($r = 0,55$; $p < 0,001$) [9], tác giả Lê Thị Huyền (2016) có sự tương quan thuận giữa triệu chứng với điểm sức khỏe tinh thần ($r = 0,584$; $p < 0,001$) [14]. Điều này có nghĩa là người bệnh có nhiều triệu chứng thì chất lượng cuộc sống tinh thần và thể chất càng thấp.

4.3. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và ảnh hưởng của bệnh thận

Kết quả cho thấy vấn đề ảnh hưởng của bệnh thận có mối tương quan đồng biến chặt chẽ với điểm SF-36 ($r = 0,636$; $p < 0,001$), MCS ($r = 0,622$; $p < 0,001$), PCS ($r = 0,351$; $p < 0,001$). Kết quả này phù hợp với Hoàng Nam Phong (2013), với tương quan đồng biến giữa ảnh hưởng của bệnh thận với điểm số SF-36 ($r = 0,47$; $p < 0,001$), MCS ($r = 0,316$; $p < 0,001$), PCS ($r = 0,47$; $p < 0,001$) [9], Lê Thị Huyền và cộng sự (2016) với sự tương quan thuận giữa ảnh hưởng của bệnh thận với điểm sức khỏe tinh thần ($r = 0,470$; $p < 0,001$) [14]. Như vậy khi người bệnh bị ảnh hưởng nhiều về vấn đề bệnh thận thì sức khỏe tinh thần và thể chất cũng đều bị suy giảm.

4.4. Mối tương quan giữa điểm số SF-36, MCS, PCS và gánh nặng của bệnh thận

Kết quả cho thấy mối tương quan đồng biến khá chặt chẽ giữa gánh nặng bệnh thận với điểm SF-36 ($r =$

$0,566$; $p < 0,001$), MCS ($r = 0,499$; $p < 0,001$) và PCS ($r = 0,375$; $p < 0,001$), tương tự với kết quả nghiên cứu của Hoàng Nam Phong, với tương quan đồng biến giữa gánh nặng bệnh thận và điểm SF-36 ($r = 0,48$; $p < 0,001$), MCS ($r = 0,324$; $p < 0,001$), PCS ($r = 0,46$; $p < 0,001$) [9]. Một nghiên cứu tại Uganda (2021) của giả Peace Bagasha P và cộng sự cho kết quả có mối liên quan giữa sức khỏe thể chất với gánh nặng của bệnh thận với mức ý nghĩa $p < 0,005$ [11]. Vì vậy khi người bệnh nghĩ rằng bản thân bị bệnh là gánh nặng cho gia đình và xã hội, thì càng ảnh hưởng đến chất lượng sống của họ.

4.5. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và hỗ trợ xã hội

Phân tích tương quan giữa lĩnh vực hỗ trợ xã hội với điểm SF-36, sức khỏe tinh thần và sức khỏe thể chất cho kết quả có mối tương quan đồng biến giữa lĩnh vực hỗ trợ xã hội và điểm SF-36 ($r = 0,310$; $p < 0,001$), MCS ($r = 0,269$; $p < 0,001$) và PCS ($r = 0,211$; $p < 0,001$). Tương tự với kết quả của tác giả Hoàng Nam Phong (2013), tương quan giữa hỗ trợ xã hội và điểm SF-36 là $r = 0,29$ ($p < 0,001$), MCS là $r = 0,168$ ($p = 0,041$) và PCS là $r = 0,29$ ($p < 0,001$) [9]. Qua nghiên cứu cho thấy, người bệnh nhận được sự quan tâm hỗ trợ của xã hội càng nhiều thì điểm số càng cao, đồng nghĩa với chất lượng cuộc sống càng tốt.

4.6. Mối tương quan của điểm số SF-36, MCS, PCS và hỗ trợ của nhân viên lọc máu

Khảo sát người bệnh về mối tương quan giữa lĩnh vực hỗ trợ của nhân viên lọc máu với điểm SF-36, sức khỏe tinh thần và sức khỏe thể chất cho kết quả có mối tương quan nghịch với hỗ trợ của nhân viên lọc máu với điểm SF-36 ($r = -0,387$; $p < 0,001$), MCS ($r = -0,345$; $p < 0,001$) và PCS ($r = -0,253$; $p < 0,001$), tương tự với kết quả của tác giả Hoàng Nam Phong (2013) với tương quan giữa sự hỗ trợ của nhân viên lọc máu và điểm SF-36 là $r = -0,3$ ($p < 0,001$), MCS là $r = -0,308$ ($p < 0,001$) và PCS là $r = -0,17$ ($p = 0,02$) [9].

Điều này có nghĩa là người bệnh trong quá trình điều trị mà điểm số chất lượng càng thấp, thì cần có sự quan tâm và hỗ trợ của nhân viên lọc máu nhiều hơn.

5. KẾT LUẬN

- Không có sự tương quan giữa điểm số CLCS, sức khỏe tinh thần, sức khỏe thể chất và các chỉ số sinh lý

và sinh hoá như Hb, HC, BC, HCT, HA tâm thu, HA tâm trương, ure, creatinin với ($p > 0,05$).

- Đa số các vấn đề của bệnh thận có tương quan thuận với điểm SF-36, sức khoẻ thể chất, sức khoẻ tinh thần, như triệu chứng, ảnh hưởng, gánh nặng, và sự hỗ trợ xã hội.

- Có mối tương quan nghịch giữa điểm SF-36, sức khoẻ thể chất và sức khoẻ tinh thần với hỗ trợ của nhân viên lọc máu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Gia Tuyển, Bệnh thận mạn tính và suy thận mạn tính Bệnh học nội khoa, Tập 1, Trường Đại học Y Hà Nội, Nhà xuất bản Y học, 2015.
- [2] Nguyễn Cảnh Phú, Nguyễn Văn Tuấn, Nghiên cứu tỷ lệ và một số yếu tố nguy cơ suy thận mạn tính ở người dân Nghệ An - Đề xuất một số giải pháp dự phòng và nâng cao chất lượng điều trị suy thận mạn tính. Tạp chí KH-CN Nghệ An. 3(2), 44-57, 2015.
- [3] Phạm Thanh Hiền, Võ Tam, Nguyễn Thanh Minh, Khảo sát một số biểu hiện tim mạch bệnh nhân lọc máu chu kỳ tại bệnh viện Chợ Rẫy. Tạp chí y học lâm sàng, 6(2), 11-22, 2017.
- [4] Akdag I, Yilmaz Y, Kahvecioglu S et al., Clinical value of the malnutrition-inflammation-atherosclerosis syndrome for long-term prediction of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease: a 5-year prospective study. Nephron Clin Pract, 108(2), c99-c105, 2008.
- [5] USRDS, "Chapter Twelve International comparisons 2010". Vol.2.pp.383-396, 2010.
- [6] KDIGO, Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease", Kidney International supplements. Vol.3(1), pp.5-14, 2012.
- [7] Đỗ Gia Tuyển, Bệnh học nội khoa "Phương pháp đo mức lọc cầu thận", Nhà xuất bản Y Học Hà Nội, 2021.
- [8] Nguyễn Dũng, Võ Văn Thắng, Nghiên cứu về chất lượng cuộc sống và các yếu tố liên quan ở bệnh nhân suy thận giai đoạn cuối tại Bệnh Viện đa khoa tỉnh Bình Định, Tạp chí Y học Cộng đồng, 10 +11, 38-45, 2014.
- [9] Hoàng Nam Phong, Đánh giá chất lượng cuộc sống của bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối. Luận văn Thạc sỹ, Đại Học Y Hà Nội, 3-60, 2013.
- [10] Mahato SKS, Apidechkul T, Sriwongpan P, Factors associated with quality of life among chronic kidney disease patients in Nepal: a cross-sectional study. Health Qual Life Outcomes, Vol.18(1), p.207, 2020.
- [11] Bagasha P, Namukwaya E, Leng M, Comparison of the health-related quality of life of end stage kidney disease patients on hemodialysis and non-hemodialysis management in Uganda. BMC Palliat Care, Vol.20(1), p.52, 2021.
- [12] Manavalan M, Majumdar A, Harichandra Kumar KT et al., Assessment of health-related quality of life and its determinants in patients with chronic kidney disease. Indian J Nephrol, Vol.27(1), pp.37-43, 2017.
- [13] Hoàng Bùi Bảo, Lê Hữu Lợi, Nghiên cứu chất lượng sống ở bệnh nhân suy thận mạn giai đoạn cuối. Tạp chí Y học Việt nam, Tập 2(5), Tr.22, 2012.
- [14] Lê Thị Huyền, Ngô Huy Hoàng, Nghiên Cứu chất lượng cuộc sống của người bệnh suy thận mạn điều trị tại Bệnh viện Hữu Nghị Việt Nam - Cu Ba Đồng Hới, Tạp chí Khoa học Điều dưỡng, 5(1), 68-76, 2016.

FACTORS ASSOCIATED BETWEEN DYSLIPIDEMIA AND SOME SPECIAL CHARACTERISTICS OF OUTPATIENT HYPERTENSIVE PATIENTS AT VINH CITY GENERAL HOSPITAL, NGHE AN PROVINCE (2021)

Tran Tat Thang^{1,*}, Hoang Dinh Canh², Hoang Thi Tam³

¹Nghe An Eye Hospital - Nghi Phu, Vinh city, Nghe An, Vietnam

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

³Nghe An Friendship General Hospital - Km5, V.I. Le Nin, Vinh, Nghe An, Vietnam

Received 09/12/2022

Revised 15/01/2023; Accepted 18/02/2023

ABSTRACT

Objectives: The study determined some factors related to dyslipidemia with some special features of hypertensive patients treated as outpatients at Vinh City General Hospital, Nghe An province in 2021.

Methods: The study employed descriptive analytical research method with the study subjects being hypertensive patients treated as outpatients at Vinh City General Hospital, Nghe An province.

Results: There was no statistically significant difference in changes in blood lipid composition between age groups ($p>0.05$). Correlation analysis showed no linear correlation between age and cholesterol index with $p=0.58$, while age and Triglycerid index were correlated with $p=0.04$. There are 63.9% patients with central obesity have dyslipidemia. There are 36.1% patients without central obesity with dyslipidemia. This difference was not statistically significant ($p>0.05$). The likelihood of dyslipidemia in the overweight and obese group was 4.15 times higher than that in the lean and normal BMI group (OR: 4.15, 95% CI:1.82-9.47). The likelihood of dyslipidemia in the group with increased WHR was 3.15 times higher than in the group with normal WHR. The likelihood of dyslipidemia in patients with Hypertension ≥ 5 years is 3.69 times higher than in patients with Hypertension < 5 years (OR: 3.69; $p<0.05$). The likelihood of dyslipidemia in patients with diabetes is 2.76 times higher than the group without diabetes (OR=2.76, 95%CI: 1.01-7.49). The relationship between dyslipidemia and family history of hypertension, smoking, alcohol/beer consumption has not been found ($p>0.05$).

Conclusions: BMI, waist/hip circumference (WHR), duration of hypertension > 5 years; History of diabetes are factor associated with dyslipidemia in hypertensive patients. In addition, the study showed that age and HDL-C index were negatively correlated, and age and LDL-C index were positively correlated.

Keywords: Dyslipidemia, Hypertension.

*Corresponding author

Email address: thangmatna@gmail.com

Phone number: (+84) 913 055 375



NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN GIỮA RỐI LOẠN LIPID MÁU VỚI MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA BỆNH NHÂN TĂNG HUYẾT ÁP ĐIỀU TRỊ NGOẠI TRÚ TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA THÀNH PHỐ VINH - NGHỆ AN (2021)

Trần Tất Thắng^{1,*}, Hoàng Đình Cảnh², Hoàng Thị Tâm³

¹Bệnh viện Mắt Nghệ An - Nghi Phú, TP Vinh, Nghệ An, Việt Nam

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

³Bệnh viện Hữu nghị Đa khoa Nghệ An - Km số 5, V.I. Lê Nin, thành phố Vinh, Nghệ An, Việt Nam

Ngày nhận bài: 09 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 15 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 18 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đề tài nghiên cứu nhằm xác định một số yếu tố liên quan giữa rối loạn lipid máu với một số đặc điểm của bệnh nhân tăng huyết áp điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Đa khoa thành phố Vinh - Nghệ An năm 2021.

Phương pháp: Đề tài được thiết kế bằng phương pháp nghiên cứu mô tả có phân tích với đối tượng nghiên cứu là bệnh nhân tăng huyết áp điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Đa khoa thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An.

Kết quả: Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự thay đổi các thay đổi thành phần lipid máu giữa các nhóm tuổi ($p>0,05$). Phân tích tương quan cho thấy không có mối tương quan tuyến tính giữa tuổi và chỉ số cholesterol với $p=0,58$, trong khi tuổi và chỉ số TG có tương quan với $p=0,04$. Có 63,9% bệnh nhân béo phì trung tâm có RLLM. Có 36,1% bệnh nhân không có béo phì trung tâm có RLLM. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Khả năng bị RLLM ở nhóm thừa cân, béo phì cao gấp 4,15 so với nhóm có BMI ở mức gầy, bình thường (OR:4,15, 95%CI:1,82-9,47). Khả năng mắc RLLM ở nhóm tăng WHR cao gấp 3,15 lần so với nhóm có WHR bình thường. Khả năng bị RLLM ở bệnh nhân mắc THA ≥ 5 năm cao gấp 3,69 lần so với bệnh nhân mắc THA < 5 năm (OR:3,69; $p<0,05$). Khả năng mắc RLLM ở bệnh nhân có ĐĐT cao gấp 2,76 lần nhóm không mắc ĐĐT (OR=2,76, 95%CI: 1,01-7,49). Chưa nhận thấy mối liên quan giữa RLLM với tiền sử gia đình có người mắc THA hút thuốc, uống rượu/bia ($p>0,05$).

Kết luận: Chỉ số BMI, vòng eo/vòng hông (WHR), thời gian bị THA > 5 năm; tiền sử đái tháo đường là các yếu tố liên quan đến rối loạn lipid máu ở bệnh nhân tăng huyết áp. ngoài ra nghiên cứu cho thấy tuổi và chỉ số HDL-C có tương quan nghịch, tuổi và chỉ số LDL-C có tương quan thuận.

Từ khóa: Rối loạn Lipid máu, tăng huyết áp.

*Tác giả liên hệ

Email: thangmatna@gmail.com

Điện thoại: (+84) 913 055 375

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng huyết áp (THA) và rối loạn lipid máu (RLLM) là những yếu tố nguy cơ chính của bệnh tim mạch và chiếm hơn 80% số ca tử vong và tàn tật ở các nước có thu nhập trung bình và thấp [52]. Ở Việt Nam, nghiên cứu của Trương Thị Thu Hương (2010) cho thấy bệnh nhân THA nguyên phát thì tỉ lệ RLLM chiếm 96,4% [14]. Theo Trần Quang Bình và cộng sự năm 2016, nghiên cứu RLLM với THA ở người trung niên cho thấy RLLM thường gặp ở người THA (83,3%) và tỉ lệ mắc tăng theo tuổi, RLLM là yếu tố nguy cơ của THA [2]. Bệnh nhân THA thường có tỉ lệ RLLM rất cao, biến chứng nguy hiểm cho tính mạng người bệnh ngày càng nhiều. Do đó việc phát hiện các RLLM, xác định các yếu tố nguy cơ gây bệnh ở người THA sẽ giúp cho việc phòng và điều trị các biến chứng do THA gây ra. Nghệ An là một tỉnh có diện tích rộng, dân số đông, số lượng bệnh nhân THA đang điều trị hàng năm tại các bệnh viện trên địa bàn tỉnh là tương đối lớn. Để có cái nhìn tổng thể về thực trạng bệnh nhân THA nguyên phát có RLLM, chúng tôi tiến hành đề tài: “*Nghiên cứu một số yếu tố liên quan giữa rối loạn lipid máu với một số đặc điểm của bệnh nhân tăng huyết áp điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Đa khoa thành phố Vinh - Nghệ An (2021)*”.

2.1. ĐỐI TƯỢNG, THỜI GIAN, ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

- Đối tượng nghiên cứu: Các bệnh nhân được chẩn

đoán xác định có THA nguyên phát, tự nguyện tham gia nghiên cứu.

- Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Đa khoa thành phố Vinh

- Thời gian nghiên cứu từ 1/1/2022 đến 30/5/2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Đề tài được thiết kế bằng phương pháp dịch tễ học mô tả có phân tích.

2.2.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu theo công thức ước lượng một tỷ lệ:

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

Trong đó: n là cỡ mẫu tối thiểu, p là tỷ lệ tăng huyết áp ước tính, là hệ số tin cậy, là độ chính xác tương đối, chọn p = 0.813 theo kết quả nghiên cứu trước. Với hệ số tin cậy 95%, thì =1,96, độ chính xác tương đối lựa chọn là = 0,15. n=234. Thực tế nghiên cứu 236 bệnh nhân.

Cách chọn mẫu nghiên cứu thuận tiện.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu

Xác định một số yếu tố liên quan giữa rối loạn lipid máu với đặc điểm của bệnh nhân tăng huyết áp như: Tuổi, hút thuốc lá, uống rượu, hoạt động thể lực, chỉ số BMI, tiền sử gia đình THA.

2.2.4. Biến số, chỉ số và phương pháp đo lường

Bảng 2.1. Biến số và chỉ số trong nghiên cứu mô tả có phân tích

Tuổi	Gồm 4 nhóm: <45 45-54 55-64 n≥65
Hút thuốc lá	Có hút > 100 điếu thuốc; Không hút < 100 điếu thuốc
Hoạt động thể lực	Có hoạt động cường độ trung bình ít hơn 30 phút mỗi ngày, 5 ngày một tuần. Hoặc có hoạt động cường độ nặng ít hơn 20 phút mỗi ngày, 3 ngày mỗi tuần.
- Uống rượu, bia	Có uống rượu bia > 1 đơn vị rượu chuẩn/ngày đối với nữ giới, > 2 đơn vị rượu chuẩn/ngày đối với nam giới; Mức không an toàn với nam giới ≥ 05 đơn vị uống chuẩn/ngày, với nữ giới: ≥ 04 đơn vị uống chuẩn/ngày
Đái tháo đường	Theo tiêu chuẩn chẩn đoán ĐTĐ theo Hội ĐTĐ Hoa Kỳ 2016
BMI	< 18,5: Gầy; Từ 18,5-22,9: Bình thường; Từ 23-24,9: Thừa cân; ≥ 2: Béo phì
Rối loạn chuyển hóa lipid máu	Cholesterol toàn phần >5,2 mmol/L (200mg/dL) Triglycerid >1,7 mmol/L (150mg/dL) HDL-C <1,03 mmol/L (40mg/dL) LDL-C >2,58 mmol/L (100mg/dL)

2.2.5. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

Đề tài sử dụng kỹ thuật xét nghiệm sinh hóa, đo huyết áp, đo vòng eo, vòng hông, BMI...

2.2.6. Phân tích xử lý số liệu thống kê y sinh học

Nhập số liệu bằng phần mềm EpiData software 3.1. Phân tích bằng phần mềm STATA 14.0.

2.2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Tuân thủ nghiêm các quy định về y đức trong nghiên cứu, chỉ nghiên cứu ở người tự nguyện.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

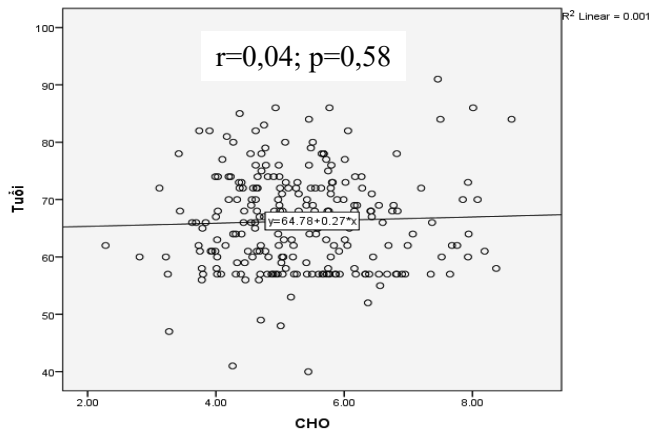
3.1. Rối loạn lipid máu theo tuổi

Bảng 3.1. Các thông số lipid máu bị rối loạn theo tuổi

Nhóm tuổi TP Lipid	< 45		45 - 54		55 - 64		N ≥ 65		Tổng	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Tăng TC	1	0,9	1	0,9	49	42,6	64	55,7	115	100,0
Tăng TG	1	1,0	1	1,0	53	51,4	48	46,6	103	100,0
Giảm HDL-C	0	0,0	0	0,0	13	39,4	20	60,4	33	100,0
Tăng LDL-C	1	0,5	4	2,2	75	40,5	105	56,8	185	100,0

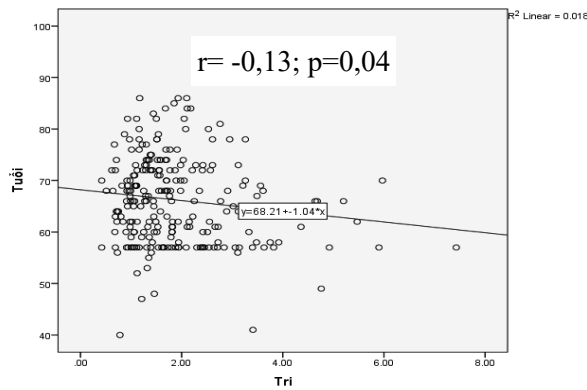
Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự thay đổi các thay đổi thành phần lipid máu giữa các nhóm tuổi ($p > 0,05$).

Biểu đồ 3.1. Tương quan giữa tuổi và chỉ số cholesterol



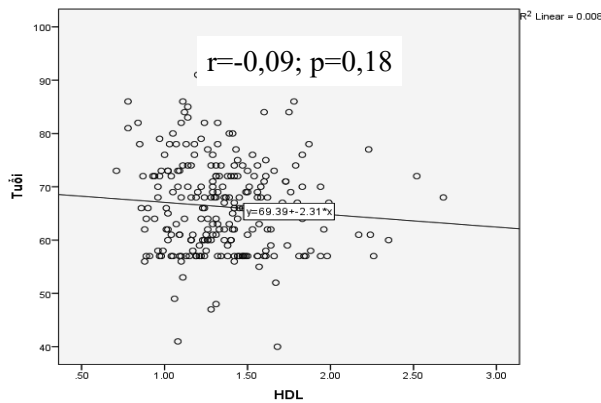
Phân tích tương quan cho thấy không có mối tương quan tuyến tính giữa tuổi và chỉ số cholesterol với $p = 0,58$.

Biểu đồ 3.2. Tương quan giữa tuổi và chỉ số Triglycerid



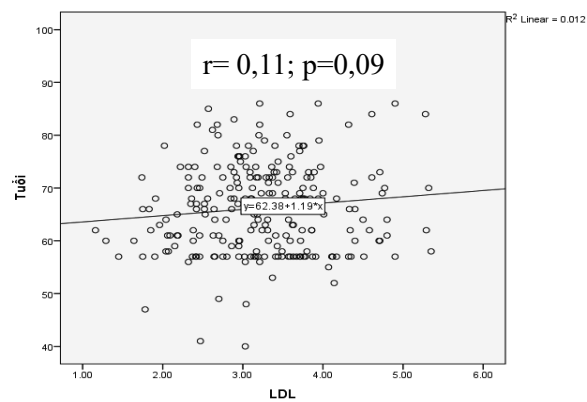
Chưa tìm thấy tương quan giữa tuổi và chỉ số TG, $r = -0,13$.

Biểu đồ 3.3. Tương quan giữa tuổi và chỉ số HDL-C



Chưa tìm thấy tương quan cho thấy tuổi và chỉ số HDL-C, với $r = -0,09$.

Biểu đồ 3.3. Tương quan giữa tuổi và chỉ số HDL-C



Chưa tìm thấy liên quan giữa tuổi và chỉ số LDL-C, với $r = 0,11$

3.2. Đặc điểm rối loạn lipid máu theo chỉ số vòng eo



Bảng 3.2. Liên quan lipid máu với chỉ số vòng eo (n=236)

Béo phì trung tâm	RLLM				OR (CI 95%)	p
	Có		Không			
	n	%	n	%		
Có	131	63,9	14	45,2	2,15 (1,01 - 4,61)	0,46
Không	74	36,1	17	54,8		

Có 63,9% bệnh nhân béo phì trung tâm có RLLM. Có 36,1% bệnh nhân không có béo phì trung tâm có RLLM. Sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

3.3. Đặc điểm bệnh nhân rối loạn lipid máu theo chỉ số BMI

Bảng 3.3. Liên quan giữa rối loạn lipid máu với chỉ số BMI

BMI	RLLM				OR (95%CI)	p
	Có		Không			
	n	%	n	%		
Gầy - bình thường (BMI < 23)	76	37,1	22	71,0	4,15 (1,82-9,47)	<0,05
Thừa cân - béo phì (BMI ≥ 23)	129	62,9	9	29,0		
Tổng	205	100,0	31	100,0		

Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mức BMI với tình trạng RLLM ($p<0,05$). Khả năng bị RLLM ở nhóm thừa cân, béo phì cao gấp 4,15 so với nhóm có BMI ở mức gầy, bình thường (OR:4,15,

95%CI:1,82-9,47).

3.4. Đặc điểm bệnh nhân rối loạn lipid máu theo WHR (vòng eo/vòng hông)

Bảng 3.4. Liên quan lipid máu với tỉ lệ vòng eo/vòng hông

WHR	RLLM				OR (95%CI)	p
	Có		Không			
	n	%	n	%		
Tăng	130	63,4	11	35,5	3,15 (1,43 -6,94)	0,003
Bình thường	75	36,6	20	64,5		
Tổng	205	100,0	31	100,0		

Khả năng mắc RLLM ở nhóm tăng WHR cao gấp 3,15 lần so với nhóm có WHR bình thường.

3.5. Liên quan giữa rối loạn lipid máu với tiền sử gia đình

Bảng 3.5. Mối liên quan giữa RLLM với tiền sử gia đình mắc THA của bệnh nhân

Tiền sử gia đình	RLLM	Có		Không		P	OR (CI 95%)
		n	%	n	%		
Có		81	39,5	15	48,4	0,35	1,44 (0,67-3,06)
Không		124	60,5	16	51,6		

Chưa nhận thấy mối liên quan giữa RLLM với tiền sử gia đình có người mắc THA ($p>0,05$).

3.6. Liên quan giữa rối loạn lipid máu với thời gian mắc bệnh THA

Bảng 3.6. Tỷ lệ rối loạn lipid máu với thời gian mắc bệnh tăng huyết áp

Thời gian THA	RLLM	Có		Không		OR (CI 95%)	P
		n	%	n	%		
≥ 5 năm		159	77,56	15	48,39	3,69 (1,69-8,0)	0,001
< 5 năm		46	22,44	16	51,61		

Khả năng bị RLLM ở bệnh nhân mắc THA ≥ 5 năm cao gấp 3,69 lần so với bệnh nhân mắc THA < 5 năm (OR:3,69; $p<0,05$).

3.7. Mối liên quan giữa rối loạn lipid máu với một số yếu tố nguy cơ

Bảng 3.7. Liên quan giữa rối loạn lipid máu với một số yếu tố nguy cơ (n=236)

Yếu tố nguy cơ		RLLM				OR (CI 95%)	P
		Có		Không			
		n	%	n	%		
Hút thuốc lá	Có	1	3,2	19	9,3	0,33 (0,04 – 2,53)	0,26
	Không	30	96,8	186	90,7		
uống rượu, bia trong 01 tháng	Có	68	33,2	8	25,8	0,7 (0,3– 1,65)	0,41
	Không	137	66,8	23	74,2		
Hoạt động thể lực	Có	146	71,2	28	90,3	0,27 (0,78 – 0,91)	0,02
	Kém	59	28,8	3	9,7		
Đái tháo đường	Có	71	34,6	5	16,1	2,76 (1,01 – 7,49)	0,04
	Không	134	66,4	26	83,9		

Khả năng mắc RLLM ở bệnh nhân có ĐTD cao gấp 2,76 lần nhóm không mắc ĐTD (OR=2,76, 95%CI: 1,01-7,49).

3.8. Mối liên quan giữa rối loạn tăng thành phần lipid máu và một số đặc điểm của bệnh nhân tăng huyết áp



Bảng 3.8. Liên quan giữa tình trạng hút thuốc và rối loạn thành phần lipid máu (n=236)

TP lipid		Hút thuốc	Có		Không		P
			n	%	n	%	
TC	BT		13	65,0	108	50,0	0,20
	Tăng		7	35,0	108	50,0	
TG	BT		10	50,0	122	56,5	0,55
	Tăng		10	50,0	94	43,5	
HDL-C	BT		14	70,0	189	87,5	0,03
	Giảm		6	30,0	27	12,5	
LDL-C	BT		3	15,0	48	22,2	0,45
	Tăng		17	85,0	168	77,8	

Có liên quan giữa tình trạng hút thuốc với HDL-C giảm ($p < 0,05$).

Bảng 3.9. Liên quan giữa tình trạng hoạt động thể lực và rối loạn thành phần lipid máu (n=236)

TP lipid		HDTL	Có		Không		P
			n	%	n	%	
TC	BT		93	53,4	28	45,2	0,26
	Tăng		81	46,6	34	54,8	
TG	BT		99	56,9	34	54,8	0,78
	Tăng		75	43,1	28	45,2	
HDL-C	BT		150	86,2	53	85,5	0,89
	Giảm		24	13,8	9	14,5	
LDL-C	BT		43	24,1	9	14,8	0,11
	Tăng		132	75,9	52	85,2	

Không có liên quan giữa hoạt động thể lực với tăng TC ($p > 0,05$), tăng TG ($p > 0,05$), HDL-C giảm ($p > 0,05$), LDL-C tăng ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi hầu hết các thành phần lipid thay đổi nhiều nhất gặp ở nhóm tuổi ≥ 65 . Tác giả Trương Thị Thu Hương (2010) cho kết quả khác: Tăng TC gặp nhiều nhất ở nhóm < 40 tuổi, tăng TG gặp nhiều nhất ở tuổi 40-65, giảm HDL-C nhiều nhất ở nhóm $>$

65 tuổi, tăng LDL-C nhiều nhất ở tuổi > 65 [4]. Trong nghiên cứu của Trương Văn Trị (2012) nồng độ trung bình của TG ở nhóm 60 - 69 tuổi cao hơn nhóm ≥ 70 tuổi [9].

Nghiên cứu này tương tự của Nguyễn Thiện Tuấn, có 89,3% bệnh nhân béo phì trung tâm có mắc RLLM, khả năng này cao gấp 2,5 lần ở nhóm bệnh nhân không béo phì trung tâm [5]. Anoop Misra nhận thấy người có béo phì trung tâm có RLLM cao hơn người không béo phì trung tâm (73% so với 61%), nguy cơ ĐĐT typ 2 và bệnh mạch vành cao hơn [10].

Đinh Hữu Hùng (2021) kết quả phân tích hồi quy logistic cho thấy thừa cân/béo phì liên quan độc lập với sự gia tăng nguy cơ RLLM (OR = 1,64; 95%CI:1,28 - 2,10; p<0,001) [3]. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Thủy năm 2013 cũng cho thấy có sự tương quan mức độ vừa giữa TC, TG, LDL-C với BMI (p<0,001) [8]. Kết quả của các tác giả này tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi, qua đó khẳng định rằng có mối liên quan giữa mức độ thừa cân, béo phì với tỉ lệ RLLM.

Kết quả nghiên cứu có mối liên quan giữa RLLM với thời gian bị THA và bệnh nhân THA có RLLM là do chế độ ăn uống, sinh hoạt, tập luyện hằng ngày của cá nhân người bệnh. Ngoài ra cũng chưa tìm được mối liên quan giữa việc hút thuốc và RLLM và có mối liên quan giữa việc người bệnh có vận động thể lực và RLLM [5] [6]. Có 30,0% bệnh nhân hút thuốc có tình trạng giảm HDL-C (p<0,05), có 85,0% bệnh nhân hút thuốc cho tăng LDL-C tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Trong nghiên cứu của Hoàng Thị Minh Thư năm 2021 cho thấy có 72,0% người bệnh có tiền sử ĐTĐ mắc RLLM, tuy nhiên chưa tìm ra mối liên quan giữa tiền sử ĐTĐ với tình trạng rối loạn lipid của người bệnh [7].

5. KẾT LUẬN

Một số yếu tố liên quan giữa rối loạn lipid máu ở bệnh nhân tăng huyết áp điều trị ngoại trú tại Bệnh viện đa khoa thành phố Vinh - Nghệ An năm 2021 là: Chỉ số BMI, Vòng eo/vòng hông (WHR), Thời gian bị THA > 5 năm; Tiền sử đái tháo đường. Ngoài ra nghiên cứu cho thấy tuổi và chỉ số HDL-C có tương quan nghịch, tuổi và chỉ số LDL-C có tương quan thuận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Quang Bình, Phạm Trần Phương, “Đặc điểm và mối liên quan của rối loạn lipid máu với tăng huyết áp ở người trung niên”, Tạp chí Y học dự phòng, Tập XXVI, số 10 (183) 2016.
- [2] Đỗ Thúy Ngọc, Tình trạng rối loạn lipid máu và một số yếu tố liên quan trên bệnh nhân tăng huyết

áp tại khoa Khám bệnh, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ y khoa, Đại học Y Hà Nội, 2012.

- [3] Đinh Hữu Hùng, Đỗ Văn Dũng, Vũ Anh Nhi, “Mối liên quan giữa rối lipid máu và thừa cân/béo phì ở người trưởng thành trong cộng đồng tỉnh Đắk Lắk, Tạp chí Y học dự phòng, Tập 31, số 9, năm 2021 Phụ bản.
- [4] Trương Thu Hương, Nguyễn Thị Tuyết, Bùi Hữu Minh Trí, “Tình trạng rối loạn lipid máu ở bệnh nhân tăng huyết áp tại Khoa Lão, Bệnh viện Tim mạch An Giang”. Kỷ yếu Hội thảo khoa học. Một số vấn đề cập nhật trong chẩn đoán và điều trị bệnh tim mạch, tr. 37-45, 2010.
- [5] Nguyễn Thiện Tuấn, Khảo sát một số yếu tố liên quan đến rối loạn lipid máu trên bệnh nhân tăng huyết áp nguyên phát tại Bệnh viện đa khoa trung tâm An Giang. Luận án Thạc sĩ y khoa, Trường Đại học Y dược Cần Thơ, 2017.
- [6] Nguyễn Văn Tuấn, Hoàng Thị Cúc, “Nghiên cứu rối loạn lipid máu ở người cao tuổi tăng huyết áp”, Tạp chí Y học Việt Nam, tập 508/11, 2021, 119-128.
- [7] Hoàng Thị Minh Thư, Nghiên cứu các chỉ số lipid và glucose máu trên bệnh nhân đột quỵ não cao tuổi tại Bệnh viện Hữu Nghị Đa khoa Nghệ An. Luận văn Thạc sĩ chuyên ngành Sinh học thực nghiệm, Trường Đại học Vinh, 2021.
- [8] Nguyễn Thị Hồng Thủy, Nghiên cứu rối loạn lipid máu ở người cao tuổi có tăng huyết áp và đề xuất một số giải pháp chủ động, thuận lợi trong điều trị rối loạn lipid máu ở nhóm bệnh này tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Phú Yên. Tạp chí Y học Việt Nam, 2/12, 2013, 217-226.
- [9] Trương Văn Trị, Nguyễn Đức Công, “Nghiên cứu đặc điểm rối loạn lipid máu ở bệnh nhân cao tuổi tại Bệnh viện Thống Nhất”, Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh, tập - 16, Phụ bản của số 1, năm 2012.
- [10] Misra A, Shrivastava U, Obesity and Dyslipidemia in South Asians. Nutrients, 5(7), 2708–2733, 2013.



COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF REAL TIME PCR ON THE BLOTTING PAPER SAMPLE COMPARED TO TRADITIONAL TECHNIQUES IN DETECTING MALARIA PARASITES

Le Thanh Liem*, Tran Phu Manh Sieu, Trinh Tuyet Hue

University of Medicine and Pharmacy at HCMC - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 04/01/2023

Revised 01/02/2023; Accepted 23/02/2023

ABSTRACT

Objective: The study demonstrated to compare the effectiveness of realtime PCR on the blotting paper sample against 10% Giemsa smear and the rapid test for diagnosing malaria parasites, thereby providing the necessary information about modern testing methods with higher sensitivity.

Method: The study described a series of cases conducted on 19 samples on Whatmann 3MM and 19 blood samples with EDTA collected from malaria parasite culture, collected at the Institute of Malaria – Parasitology – Insects. HCMC from 07/2022-10/2022.

Results: Realtime PCR technique is more sensitive and effective than traditional methods, the detectable malaria parasite density was 3 parasites/ μ l of blood by realtime PCR.

Conclusions: Realtime PCR technique detects malaria parasite on Whatmann 3MM absorbent paper sample with high sensitivity, specificity, high stability with good variability CV% < 3% and standard deviation SD < 1.2.

Keywords: Malaria parasite, Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Realtime PCR.

*Corresponding author

Email address: lethanhliem960527@outlook.com

Phone number: (+84) 704 686 458

<https://doi>

SO SÁNH HIỆU QUẢ CỦA KỸ THUẬT REAL-TIME PCR TRÊN MẪU GIẤY THẨM SO VỚI CÁC KỸ THUẬT TRUYỀN THỐNG TRONG PHÁT HIỆN KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT

Lê Thanh Liêm*, Trần Phủ Mạnh Siêu, Trịnh Tuyết Huệ

Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 04 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 01 tháng 02 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 23 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu được tiến hành nhằm mục tiêu so sánh hiệu quả của kỹ thuật real time PCR trên mẫu giấy thấm so với soi nhuộm Giemsa 10% và test nhanh chẩn đoán ký sinh trùng sốt rét, từ đó cung cấp các thông tin cần thiết về phương pháp xét nghiệm hiện đại có độ nhạy cao hơn.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang được tiến hành trên 19 mẫu giấy thấm và 19 mẫu máu với chống đông EDTA được thu thập từ canh cây KSTSR, được thu thập tại Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng TP.HCM từ 07/2022-10/2022.

Kết quả: Kỹ thuật realtime PCR có độ nhạy và hiệu quả hơn hẳn các phương pháp truyền thống, mật độ KSTSR có thể phát hiện được bằng kỹ thuật realtime PCR là 3 KSTSR / μ L máu.

Kết luận: Kỹ thuật realtime PCR phát hiện KSTSR trên mẫu giấy thấm Whatmann 3MM đạt độ nhạy, độ đặc hiệu cao, có tính ổn định cao với độ biến thiên tốt CV% < 3% và độ lệch chuẩn SD < 1,2.

Từ khóa: KSTSR, Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Realtime PCR.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax là hai ký sinh trùng sốt rét gây bệnh phổ biến, bệnh được lây truyền thông qua vết đốt của muỗi cái Anopheles Spp.⁽¹⁾. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) năm 2019, ước tính có khoảng 229 triệu người mắc bệnh sốt rét, ước tính có khoảng 409 nghìn ca tử vong do sốt rét, trẻ em dưới 5 tuổi là nhóm tuổi dễ bị nhiễm bệnh nhất⁽²⁾. Bên cạnh đó, hiện tượng ký sinh trùng sốt rét kháng thuốc ở các vùng sốt rét lưu hành tại Việt Nam ngày càng phổ biến với mức độ kháng thuốc

ngày càng tăng cao⁽²⁾.

Công tác giám sát và chẩn đoán bệnh sốt rét tại Việt Nam gặp khá nhiều khó khăn tại các khu vực vùng sâu vùng xa như khu vực Tây Nguyên, Bình Phước, ... vì không có đủ điều kiện cơ sở vật chất để lưu trữ và xử lý mẫu⁽³⁾. Tại Việt Nam, các phương pháp chẩn đoán truyền thống như soi kính hiển vi (được xem là tiêu chuẩn vàng), xét nghiệm nhanh kháng nguyên tuy không đòi hỏi cao về trang thiết bị nhưng lại hạn chế về độ nhạy, độ đặc hiệu, phụ thuộc vào kinh nghiệm của kỹ thuật viên, bên cạnh đó còn đòi

*Tác giả liên hệ

Email: lethanhlkiem960527@outlook.com

Điện thoại: (+84) 704 686 458



hỏi lượng mẫu thu thập phải nhiều, nếu không thực hiện ngay cần phải lưu trữ ở điều kiện thích hợp. Trong khi đó bằng kỹ thuật phân tử như realtime PCR lại cho kết quả có độ nhạy và độ đặc hiệu cao với lượng mẫu thu thập nhỏ. Việc ứng dụng giấy thấm Whatmann 3MM để thu thập một lượng máu nhỏ thì mang lại nhiều tiện lợi, mẫu sau thu thập có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng và dễ dàng chuyển đến phòng xét nghiệm^(3,4). Do đó, nghiên cứu so sánh hiệu quả của kỹ thuật realtime PCR trên mẫu giấy thấm với các kỹ thuật chẩn đoán khác nhằm phát hiện ký sinh trùng sốt rét góp phần cung cấp thêm thông tin về kỹ thuật chẩn đoán hiện đại từ đó có thể ứng dụng trong thực tiễn để tối ưu hoá quy trình bảo quản, lưu trữ và vận chuyển bệnh phẩm.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Từ chủng Plasmodium falciparum ban đầu thực hiện nuôi cấy invitro trong 28 ngày bằng RPMI 1640 (L-glutamine & 25mM HEPES) của hãng Corning®/ Mediatech theo quy trình được xây dựng bởi tác giả Lê Thành Đồng tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP.HCM⁽⁵⁾.

2.2. Cách tiến hành

Vật liệu - Mẫu bệnh phẩm

Sau quá trình nuôi cấy, thu thập canh cấy KSTSR,

ước lượng mật độ KSTSR khoảng 6% (tương ứng 300.000 KSTSR/ μ l máu), thực hiện pha loãng thành các mức nồng độ khác nhau ($1/2$, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}). Thực hiện phân phối 1ml mẫu vào ống EDTA và 50 μ l mẫu vào giấy thấm Whatmann 3MM với từng mức pha loãng.

Các mẫu máu trong chống đông EDTA gồm 19 mẫu được ký hiệu từ ED001 đến ED019 được thực hiện nhuộm soi với Giemsa 10% và test nhanh chẩn đoán kháng nguyên Onsite Malaria Pf/Pv Ag Rapid Test của hãng CTK Biotech.

Các mẫu máu được thu thập bằng giấy thấm Whatmann 3MM gồm 19 mẫu được ký hiệu từ WH001 đến WH019 thực hiện tách chiết thu thập DNA của KSTSR theo phương pháp tách chiết cột silica bằng bộ kit TopPure® Blood DNA Extraction kit và thực hiện kỹ thuật realtime PCR bằng bộ kit TopSENSI® Plasmodium falciparum/vivax qPCR kit để phát hiện KSTSR các mẫu DNA thu nhận được.

Mồi và mẫu dò đặc hiệu sử dụng để phát hiện P. falciparum, P. vivax

Vùng gene 18S rRNA của Plasmodium được lựa chọn để thiết kế mồi và mẫu dò đặc hiệu phát hiện P.falciparum và P.vivax. Các trình tự trên vùng gene 18S rRNA của P.falciparum (M19172) và P.vivax (X13926) này được công bố trên ngân hàng GenBank tham khảo từ công trình nghiên cứu của tác giả Rougemort và các cộng sự vào năm 2004⁽⁶⁾. Trình tự các mồi xuôi, mồi ngược và probe như sau:

Bảng 1: Trình tự các mồi và mẫu dò được thiết kế trong nghiên cứu

Tên	Trình tự Nucleotide (5' – 3')
Plas – R	AACCCAAAGACTTTGATTTCTCATAA
Falci – F	CCGACTAGGTGTTGGATGAAAGTGTTAA
Vivax – F	CCGACTAGGCTTTGGATGAAAGATTTTA
Falci – P	FAM-AGC AAT CTA AAA GTC ACC TCG AAA GAT GAC T-TAMRA
Vivax - P	ROX-AGC AAT CTA AGA ATA AAC TC C GAA GAG AAA ATT CT-TAMRA

Thiết lập phản ứng realtime PCR Taqman probe

Thiết lập phản ứng realtime PCR trong tube 0,2 ml gồm các thành phần sau: 10 µl SensiFast™ Probe No-ROX Mix 2X; 01 µl mỗi môi (Plas-R, Falc-F, Vivax-F) nồng độ 10 µM/môi; 0,25 µl mỗi mẫu dò (Falc-P, Vivax-P) với nồng độ 10 µM/mẫu dò; nước khử ion 1,5 µl và 10 µl DNA bản mẫu từ bệnh phẩm. Thực hiện kèm 01 chứng âm và 01 chứng dương là plasmid tái tổ hợp của hai loài *P.falciparum* và *P.vivax*.

Thiết lập chương trình realtime PCR: 1 chu kỳ 3 phút ở 95°C; 45 chu kỳ 95°C trong 10 giây và 58°C trong 40 giây. Kết quả được phân tích trên phần mềm của máy QuantStudio5.

Thu thập thông tin

Ghi nhận kết quả âm tính, dương tính và giá trị Ct ở các mẫu dương tính sau khi có phân tích trên phần mềm của máy QuantStudio5.

Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm Stata 14.0

Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu chỉ sử dụng số liệu thứ cấp, các thông tin cá nhân được đảm bảo bí mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu, không được sử dụng cho bất kỳ mục đích nào khác. Nghiên cứu xin phép y đức từ Hội đồng y đức Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh số: 145/HĐĐĐ-ĐHYD ngày chấp thuận: 15/02/2022.

2.3. Tiêu chuẩn chọn mẫu

Mẫu máu được nuôi cấy invitro KST Plasmodium falciparum trong 28 ngày, được đánh giá có sự xuất hiện KSTSR trong canh cấy bằng phương pháp soi nhuộm.

2.4. Tiêu chuẩn loại trừ

Mẫu nuôi cấy bị ngoại nhiễm.

2.5. Thiết kế nghiên cứu

Thiết kế cắt ngang mô tả.

3. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả các mẫu máu trong chống đông EDTA

Bảng 2: Kết quả phát hiện KSTSR bằng kỹ thuật soi nhuộm với Giemsa 10% và Test nhanh chẩn đoán ở các mức nồng độ pha loãng

Nồng độ pha loãng	Ước lượng mật độ KSTSR phát hiện được (KSTSR/µl máu)	Soi nhuộm	Test nhanh
1	300.000	Dương tính	Dương tính
1/2	150.000	Dương tính	Dương tính
10 ⁻¹	30.000	Dương tính	Dương tính
10 ⁻²	3.000	Dương tính	Dương tính *
10 ⁻³	300	Âm tính	Dương tính *
10 ⁻⁴	30	Âm tính	Âm tính
10 ⁻⁵	3	Âm tính	Âm tính
* Các mẫu cho kết quả dương tính yếu			

Kết quả nghiên cứu cho thấy bằng phương pháp soi nhuộm với Giemsa 10% chỉ phát hiện được các mẫu ở mức pha loãng 10⁻², với mật độ KSTSR ước tính được là khoảng 3.000 KSTSR/µl máu. Bằng test nhanh phát hiện được KSTSR ở mật độ 300 KSTSR/µl máu tương ứng độ pha loãng 10⁻³, tuy nhiên phản ứng cho

kết quả dương tính yếu. Bằng hai phương pháp trên không phát hiện được KSTSR ở mật độ thấp dưới 300 KSTSR/µl máu.

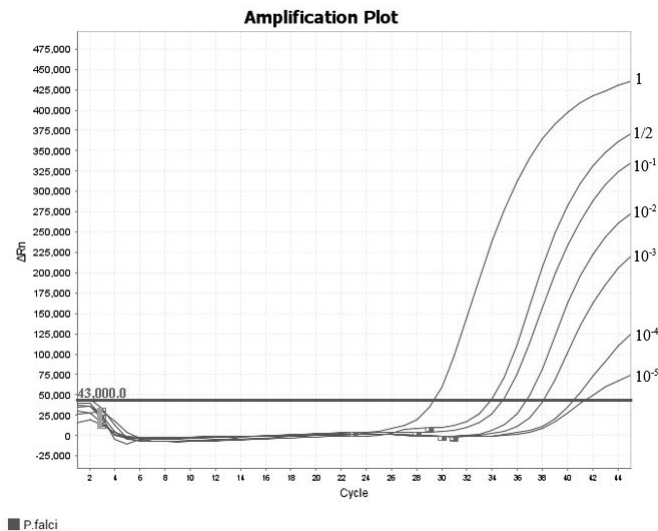
3.2. Kết quả các mẫu máu trên giấy thấm Whatman 3MM

Bảng 2: Kết quả phát hiện KSTSR bằng kỹ thuật Real time PCR trên giấy thấm Whatmann 3MM ở các mức nồng độ pha loãng

Nồng độ pha loãng	Ước lượng mật độ KSTSR phát hiện được (KSTSR/ μ l máu)	Real time PCR
1	300.000	Dương tính
$1/2$	150.000	Dương tính
10^{-1}	30.000	Dương tính
10^{-2}	3.000	Dương tính
10^{-3}	300	Dương tính
10^{-4}	30	Dương tính
10^{-5}	3	Dương tính

Kết quả nghiên cứu cho thấy bằng phương pháp realtime PCR với các môi và mẫu dò đặc hiệu với KSTSR phát hiện được các mẫu ở mức pha loãng thấp nhất 10^{-5} , với mật độ KSTSR ước tính chỉ 3 KSTSR/ μ l máu.

Hình 1: Biểu đồ tín hiệu huỳnh quang khuếch đại gene 18S rRNA bằng realtime PCR các mẫu pha loãng từ canh cấy được thu thập vào giấy thấm Whatmann 3MM



Đồng thời để đánh giá tính ổn định của phương pháp realtime PCR phát hiện KSTSR trên mẫu giấy thấm, nghiên cứu sử dụng hệ số biến thiên CV% và độ lệch chuẩn SD đánh giá dựa trên giá trị trung bình 3 lần chạy của chu kỳ ngưỡng Ct (Cycle threshold).

Bảng 3: Kết quả đánh giá độ ổn định của phương pháp realtime PCR phát hiện KSTSR trên mẫu giấy thấm Whatmann 3MM

Nồng độ pha loãng	Mean CtWH	SD	CV (%)
1	28,91	0,18	0,61
1/2	34,04	0,14	0,42
10 ⁻¹	35,09	0,24	0,67
10 ⁻²	36,94	0,17	0,45
10 ⁻³	39,18	1,24	3,17
10 ⁻⁴	41,04	0,23	0,57
10 ⁻⁵	41,95	0,58	1,38

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy giá trị CV% < 3% và độ lệch chuẩn SD < 1,2. Độ chênh lệch hệ số biến thiên giữa các mức nồng độ khác nhau không đáng kể, thể hiện tính ổn định của phương pháp realtime PCR phát hiện KSTSR trên mẫu giấy thấm.

4. BÀN LUẬN

Trong bài báo này, nghiên cứu đã cho thấy kỹ thuật soi nhuộm Giemsa 10% cho kết quả dương tính thấp, bỏ sót các trường hợp mẫu có mật độ KSTSR thấp. Đối với phương pháp xét nghiệm nhanh kháng nguyên bằng bộ kit Onsite Malaria Pf/Pv Ag Rapid Test của hãng CTK Biotech phát hiện được KSTSR ở mật độ khoảng 300 KSTSR/μl máu khá tương đồng với kết quả thẩm định bộ kit này của Tổ chức Y tế thế giới WHO năm 2018 với kết quả phát hiện được KSTSR ở mật độ 200 KSTSR/μl máu⁽⁷⁾.

Sử dụng giấy thấm Whatmann 3MM với lượng mẫu nhỏ thực hiện kỹ thuật realtime PCR phát hiện KSTSR cho thấy kết quả có độ nhạy cao với khả năng phát hiện được các mẫu có mật độ KSTSR thấp, chỉ 3 KSTSR/μl máu. Bên cạnh đó, ứng dụng sử dụng gene đích 18S rRNA giống hầu hết các nghiên cứu trước đây⁽³⁾. Ngoài ra, dùng giấy thấm Whatmann 3MM mang lại nhiều hiệu quả về chi phí lấy mẫu, đơn giản trong quá trình vận chuyển và bảo quản mẫu ở nơi có dịch lưu hành, ngoài ra ứng dụng giấy thấm trong thu thập mẫu góp phần để điều tra dịch tễ KSTSR và chủng KSTSR kháng thuốc tiềm ẩn, khoanh vùng khi có dịch bùng phát và phát hiện KST lạnh ở người khoẻ mạnh, điều này cũng đã được tác giả Abu Naser Mohon và các cộng sự năm

2019⁽⁸⁾ chứng minh qua nghiên cứu của mình.

So sánh với các kỹ thuật truyền thống như soi nhuộm, test nhanh chẩn đoán thì kỹ thuật realtime PCR có độ nhạy cao hơn hẳn. Thêm vào đó, khi bệnh nhân đang được điều trị bằng thuốc kháng KSTSR theo y lệnh làm hình thể của KSTSR biến dạng không còn điển hình gây khó khăn trong việc chẩn đoán bằng kỹ thuật soi nhuộm do phụ thuộc hoàn toàn vào kinh nghiệm của kỹ thuật viên, mật độ KSTSR giảm cũng ảnh hưởng đến kết quả của sắc ký miễn dịch test nhanh chẩn đoán.

5. KẾT LUẬN

Kỹ thuật realtime PCR sử dụng vùng gene đích 18S rRNA của loài Plasmodium spp. phát hiện KSTSR trên mẫu giấy thấm Whatmann 3MM cho kết quả có độ nhạy cao hơn các phương pháp truyền thống, tính ổn định của phương pháp cao với độ biến thiên tốt CV% < 3% và độ lệch chuẩn SD < 1,2.

Bằng kỹ thuật realtime PCR phát hiện được KSTSR ở mật độ thấp chỉ 3 KSTSR/μl máu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Singh B, Daneshvar C, Human infections and detection of Plasmodium knowlesi. Clin Microbiol Rev. Apr 2013;26(2):165-84. doi:10.1128/CMR.00079-12
- [2] World health Organization (WHO), World Malaria Report 2020 - 20 years of global progress and challenges. <https://www.who.int/>

- teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2020/, 2020.
- [3] Panda BB, Meher AS, Hazra RK, Comparison between different methods of DNA isolation from dried blood spots for determination of malaria to determine specificity and cost effectiveness. *Journal of Parasitic Diseases*. 2019;43(3):337-342.
- [4] Mahittikorn A, Masangkay FR, Kotepui KU et al., Comparative performance of PCR using DNA extracted from dried blood spots and whole blood samples for malaria diagnosis: a meta-analysis. *Scientific reports*. 2021;11(1):1-9.
- [5] Lê Thành Đồng, Trịnh Ngọc Hải, Kỹ thuật nuôi cấy và bảo quản *P. falciparum* dài ngày trong phòng thí nghiệm; *Tạp chí Y học thực hành* 2013;856:26 - 28.
- [6] Rougemont M, Van Saanen M, Sahli R et al., Detection of four Plasmodium species in blood from humans by 18S rRNA gene subunit-based and species-specific real-time PCR assays. *Journal of clinical microbiology*; 2004;42(12):5636-5643.
- [7] World health Organization (WHO), Malaria Rapid Diagnostic Test Performance - Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 8 (2016 - 2018), 2018.
- [8] Mohon AN, Getie S, Jahan N et al., Ultrasensitive loop mediated isothermal amplification (US-LAMP) to detect malaria for elimination. *Malaria journal*. 2019;18(1):1-10.

SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Aedes aegypti* IN LABORATORY CONDITION

Tran Thi Thuong^{1,*}, Ho Dinh Trung², Nguyen Van Tuan²,
Dao Minh Trang², Nguyen Van Dung²

¹Vietnam Academy of Traditional Medicine - 02 Tran Phu, Mo Lao, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

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

Received 30/12/2023

Revised 28/01/2023; Accepted 23/02/2023

ABSTRACT

Objective and method: Monitoring the growth of *Aedes aegypti* mosquitoes at a room temperature of $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$, and humidity of $80 \pm 10\%$ was carried out from May to October 2020.

Results: The mosquito cycle of *Aedes aegypti* averaged 9,59 days. The growth rate from eggs to larvae were 100%; from larvae to pupae were 98 - 100%; from pupa to adult were 98 - 100%; from eggs to adults were 98 - 100%. The reproductive capacity of the *Aedes aegypti* average lay 3.90 times with an average of 139.22 eggs. The average lifetime of the female mosquito *Aedes aegypti* was 27.9 days, of the male mosquito was 12.84.

Conclusion: The mosquito cycle of *Aedes aegypti* averaged 9,59 days; The reproductive capacity of the *Aedes aegypti* average lay 3.90 times with an average of 139.22 eggs.

Keywords: *Aedes aegypti*, biological characteristics.

*Corresponding author

Email address: tranthithuong210384@gmail.com

Phone number: (+84) 977 891 601



MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA MUỖI *Aedes aegypti* TẠI PHÒNG THÍ NGHIỆM

Trần Thị Thương^{1,*}, Hồ Đình Trung², Nguyễn Văn Tuấn²,
Đào Minh Trang², Nguyễn Văn Dũng²

¹Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam - 02 Trần Phú, P. Mộ Lao, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam
²Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Trung ương - 34 Trung Văn, Nam Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 30 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 28 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 23 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đề tài nghiên cứu đặc điểm sinh học của muỗi *Aedes aegypti* tại phòng thí nghiệm nhằm theo dõi sự phát triển của muỗi *Aedes aegypti* trong điều kiện phòng nuôi nhiệt độ 26-30°C, độ ẩm 75-80% được thực hiện từ tháng 5 đến tháng 10 năm 2021.

Phương pháp: Trứng, bọ gậy, quăng được thu thập tại Hà Nội và Thanh Hóa được nuôi trong phòng thí nghiệm ở nhiệt độ 28±2°C, độ ẩm 80±10% để xác định khả năng sinh sản và thời gian sống của muỗi *Aedes aegypti*.

Kết quả: Thời gian hoàn thành chu kỳ vòng đời của muỗi *Aedes aegypti* trung bình 9,59 ngày. Tỷ lệ phát triển từ trứng đến bọ gậy là 100%; tỷ lệ phát triển từ bọ gậy thành quăng là 98 - 100%; tỷ lệ phát triển từ quăng thành muỗi trưởng thành là 98 - 100%; tỷ lệ từ trứng phát triển thành muỗi từ 98 - 100%. Khả năng sinh sản của muỗi *Aedes aegypti* trung bình đẻ 3,90 lần với số lượng trứng trung bình 139,22 trứng. Thời gian sống trung bình của muỗi cái *Aedes aegypti* là 27,9 ngày, ngắn nhất là 04 ngày và dài nhất là 59 ngày. Thời gian sống trung bình của muỗi đực *Aedes aegypti* là 12,84 ngày, ngắn nhất là 02 ngày và dài nhất là 25 ngày.

Kết luận: Vòng đời trung bình của muỗi cái *Aedes aegypti* 9,59 ngày, với số lần đẻ 3,90, trung bình 139,22 trứng. Muỗi cái *Aedes aegypti* sống khoảng 27,9 ngày, muỗi đực là 12,84 ngày.

Từ khóa: *Aedes aegypti*, đặc điểm sinh học.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Muỗi *Aedes* là một trong những giống muỗi phổ biến ở vùng nhiệt đới và có nhiều loài được khẳng định là vật trung gian truyền bệnh nguy hiểm như: sốt vàng, Zika, sốt xuất huyết dengue... Chu kỳ phát triển của muỗi *Aedes* gồm bốn pha: trứng, quăng, bọ gậy và muỗi

trưởng thành, trong đó đáng chú ý là những đặc điểm của pha trứng và pha muỗi. Trứng có khả năng tồn tại lâu dài trong điều kiện khô hạn và muỗi hoạt động mạnh vào ban ngày đặc biệt là vào sáng sớm và chiều tối [1].

Loài muỗi *Aedes aegypti* đã được xác định là véc tơ sốt xuất huyết chính. Do đó việc nghiên cứu, cập nhật các

*Tác giả liên hệ

Email: tranthithuong210384@gmail.com

Điện thoại: (+84) 977 891 601

đặc điểm sinh học của muỗi *Aedes aegypti* theo thời gian là cần thiết, kịp thời nắm bắt những thay đổi về sinh thái có liên quan đến vai trò dịch tễ và đề xuất các biện pháp phòng chống véc tơ sốt xuất huyết dengue phù hợp.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trứng, bọ gậy, quăng, muỗi *Aedes aegypti* thu thập tại các điểm nghiên cứu Hà Nội và Thanh Hóa.

2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 5/2020 đến tháng 10/2020

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Tại labo Khoa Côn trùng, Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng Trung ương

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Tại thực địa

Bọ gậy *Aedes aegypti* thu được từ các hộ gia đình theo kỹ thuật giám sát thường quy sốt xuất huyết Dengue của Bộ Y tế [3].

2.4.2. Tại phòng thí nghiệm

Lấy trứng muỗi *Aedes aegypti* thế hệ F1 để nghiên cứu đặc điểm sinh học. Trong đó phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn An toàn sinh học cấp II, điều kiện phòng nuôi duy trì nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $80 \pm 10\%$.

2.4.3. Phương pháp xác định chu kỳ vòng đời muỗi *Aedes aegypti*

Thả 300 trứng mỗi loài Aedes vào 02 khay men kích thước 20cm x 30cm x 2,5cm, ở nhiệt độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $80 \pm 10\%$. Tiến hành theo dõi thời gian các giai đoạn: Từ trứng nở thành bọ gậy, từ bọ gậy nở thành quăng, quăng nở thành muỗi, từ khi nở thành muỗi đến lúc hút máu và từ khi hút máu đến thời điểm đẻ trứng.

Tỷ lệ phát triển của các giai đoạn được tính như sau:

$$\text{Tỷ lệ nở của trứng (\%)} = \frac{\text{Số lượng bọ gậy}}{\text{Số lượng trứng theo dõi}} \times 100.$$

$$\text{Tỷ lệ nở của bọ gậy (\%)} = \frac{\text{Số lượng quăng}}{\text{Số lượng bọ gậy theo dõi}} \times 100.$$

$$\text{Tỷ lệ nở của quăng (\%)} = \frac{\text{Số lượng muỗi}}{\text{Số lượng quăng theo dõi}} \times 100.$$

$$\text{Tỷ lệ phát triển từ trứng tới muỗi (\%)} = \frac{\text{Số lượng muỗi}}{\text{Tổng số trứng theo dõi}} \times 100.$$

- Xác định khả năng sinh sản của muỗi *Aedes aegypti*:

Thả 300 muỗi mới nở *Aedes aegypti* vào lồng kích thước 30cm x 30cm x 30cm (tỷ lệ đực/cái = 1:1). Sau 3 ngày cho muỗi đốt máu chuột bạch. Sau 5 ngày tiếp theo bắt 50 muỗi cái ngẫu nhiên trong lồng, nhốt riêng vào từng ống, theo dõi ghi lại số muỗi đẻ, số lần đẻ và số trứng đẻ của mỗi muỗi cái.

- Xác định thời gian sống của muỗi *Aedes aegypti*:

Thả mỗi loài 300 cá thể mới nở vào lồng 30cm x 30cm x 30cm (tỷ lệ đực/cái = 1:1) cho hút nước đường glucose 10%. Sau 3 ngày tuổi, cho muỗi đốt chuột nhắt trắng, đặt dụng cụ thu trứng vào lồng nuôi muỗi. Hàng ngày thu trứng, đếm số lượng trứng, cho muỗi đẻ tiếp và thu trứng cho tới khi số muỗi cái trong lồng nuôi chết hết.

Thời gian sống của muỗi được tính theo công thức của Lanciani (1987) [5].

$$e_o = \frac{\sum_{x=o}^n S_x}{S_o} - \frac{1}{2}$$

X: số ngày sau nở

So: tổng số muỗi theo dõi

Sx: số lượng muỗi sống ở ngày theo dõi

n: số ngày từ khi muỗi bắt đầu nở cho tới ngày cuối cùng

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Chu kỳ vòng đời của muỗi *Aedes aegypti*

Tiến hành thả 300 quả trứng vào 6 lô thử nghiệm, mỗi lô 50 quả trứng ở nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $80 \pm 10\%$, thức ăn của bọ gậy được lấy từ thức ăn của cá. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1: Thời gian hoàn thành chu kỳ phát triển của muỗi *Aedes aegypti* trong phòng thí nghiệm

Số lô	Số lượng trứng	Thời gian trung bình của từng giai đoạn phát triển (ngày)			Thời gian để từ trứng phát triển đến muỗi trưởng thành
		Trứng phát triển thành bọ gậy	Bọ gậy phát triển thành quăng	Quăng phát triển thành muỗi	
1	50	1,86 (1,7 - 2,03)	4,12 (3,94 - 4,30)	3,62 (3,37 - 3,87)	9,60
2	50	2,06 (1,87 - 2,24)	4,10 (3,90 - 4,23)	3,57 (3,32 - 3,83)	9,73
3	50	2,07 (1,91 - 2,24)	4,11 (3,91 - 4,31)	3,62 (3,36 - 3,88)	9,80
4	50	1,90 (1,76 - 2,04)	3,89 (3,74 - 4,04)	3,73 (3,48 - 3,99)	9,52
5	50	2,02 (1,86 - 2,18)	3,96 (3,80 - 4,12)	3,46 (3,32 - 3,69)	9,44
6	50	1,96 (1,80 - 2,13)	3,90 (3,73 - 4,07)	3,57 (3,36 - 3,79)	9,43
Thời gian trung bình chung		1,98 (1,89 - 2,07)	4,01 (3,89 - 4,13)	3,59 (3,50 - 3,69)	9,59 (9,43 - 9,75)

Kết quả bảng 6 cho thấy thời gian trung bình phát triển từ trứng đến bọ gậy loài *Ae. aegypti* 1,98 ngày; thời gian phát triển từ bọ gậy đến quăng 4,01 ngày; thời gian phát triển từ quăng đến muỗi là 3,59 ngày (3,50 - 3,69) ngày. Tổng thời gian trung bình để hoàn thành một chu kỳ phát triển từ trứng đến muỗi trưởng thành là 9,59 ngày (9,43 - 9,75) ngày.

3.2. Tỷ lệ nở từ trứng đến muỗi trưởng thành của *Aedes aegypti*

Tiến hành thả 300 quả trứng vào 6 lô thử nghiệm, mỗi lô 50 quả trứng với điều kiện trong phòng nuôi, thức ăn của bọ gậy được lấy từ thức ăn của cá. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ % phát triển từ trứng đến muỗi trưởng thành *Aedes aegypti* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Lô	Số lượng trứng	Số lượng trứng phát triển thành bọ gậy		Số lượng bọ gậy phát triển thành quăng		Số lượng quăng phát triển thành Muỗi		Số lượng trứng thành muỗi	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	50	50	100	50	100	49	98	49	98
2	50	50	100	49	98	49	100	49	98
3	50	50	100	50	100	50	100	50	100
4	50	50	100	50	100	50	100	50	100
5	50	50	100	50	100	50	100	50	100
6	50	50	100	49	98	49	100	49	98

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, tiến hành thử nghiệm với 06 lô muỗi *Aedes aegypti* kết quả cho thấy: tỷ lệ phát triển từ trứng đến bọ gậy là 100%; tỷ lệ phát triển từ bọ gậy thành quăng là 98 – 100%; tỷ lệ phát

triển từ quăng thành muỗi trưởng thành là 98 – 100%; tỷ lệ từ trứng phát triển thành muỗi từ 98 – 100%.

3.3. Khả năng sinh sản của muỗi *Aedes aegypti*

Bảng 3. Khả năng sinh sản của muỗi *Aedes aegypti* trong phòng thí nghiệm

Lô	Số lượng muỗi thử nghiệm	Số lần đẻ trung bình	Số lượng trứng trung bình
1	50	4,10 (3,57 - 4,63)	133,80 (116,24 - 151,36)
2	50	3,90 (3,49 - 4,51)	137,90 (118,04 - 157,76)
3	50	3,90 (3,19 - 4,61)	146,50 (117,32 - 175,68)
4	50	3,90 (3,19 - 4,61)	138,10 (110,33 - 165,87)
5	50	3,70 (3,22 - 4,18)	139,80 (117,23 - 162,37)
Trung bình chung	300	3,90 (3,72 - 4,08)	139,22 (133,47 - 144,97)

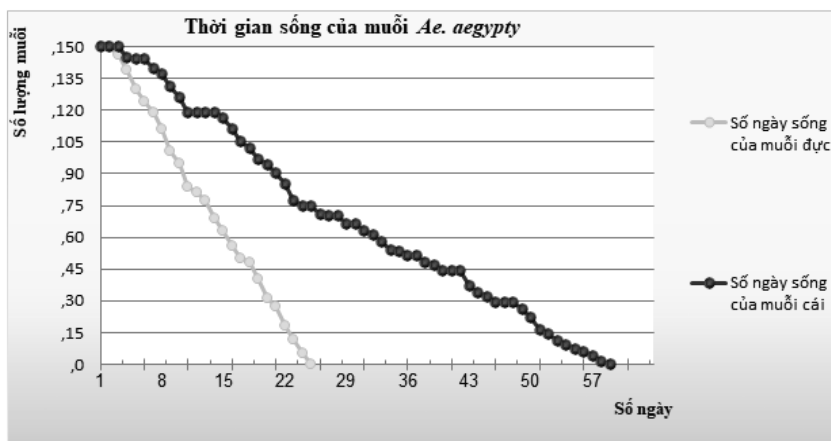
Tiến hành thả 250 cá thể muỗi cái *Aedes aegypti* vào 5 lô thử nghiệm mỗi lô 50 cá thể, kết quả thử nghiệm cho thấy số lần đẻ trung bình của các lô lần lượt là 4,1; 3,9; 3,9; 3,9 và 3,7 lần/ muỗi. Số lượng trứng trung bình lần lượt là 133,8; 137,9; 146,5; 138,1; 139,8 trứng/muỗi. Trong cuộc đời một con muỗi cái *Aedes aegypti* trung bình đẻ 3,9 lần, số lượng trứng trung bình 139,22 trứng

(133,47 - 144,97) trứng cho một lần đẻ.

3.4. Thời gian sống của muỗi *Aedes aegypti*

Thử nghiệm được tiến hành với 300 muỗi (tỷ lệ đực: cái = 1:1) trong lồng 30 x 30 x 30 cm, cho đốt chuột nhắt trắng 01 lần/ngày và hút đường glucose 10%. Kết quả được thể hiện trong hình 1.

Hình 1. Thời gian sống của muỗi *Aedes aegypti*



Kết quả thu được ở hình 1 cho thấy: thời gian sống trung bình của muỗi cái *Aedes aegypti* là 27,9 ngày, ngắn nhất là 04 ngày và dài nhất là 59 ngày. Thời gian sống trung bình của muỗi *Aedes aegypti* là 12,84 ngày, ngắn nhất là 02 ngày và dài nhất là 25 ngày.

Như vậy, các đặc điểm sinh học trong phòng thí nghiệm muỗi *Aedes aegypti* của chúng tôi so với các kết quả nghiên cứu của các tác giả đã công bố trước đây thì không khác nhau nhiều. Theo Vũ Sinh Nam (1995), thời gian trung bình từ giai đoạn trứng đến giai đoạn trưởng thành của muỗi *Aedes aegypti* trong điều kiện phòng thí nghiệm là $8,35 \pm 0,2$ ngày, số lượng trứng mỗi lần đẻ trung bình $78,6 \pm 10,6$ trứng, tuổi thọ trung bình là 34,2 ngày [2].

Theo Manorenjitha MS (2015) tỷ lệ nở của *Aedes aegypti* sau 1 tháng là 49,1%. Tỷ lệ phát triển từ giai đoạn trứng đến giai đoạn trưởng thành của *Aedes aegypti* ngắn hơn so với *Aedes albopictus* 1 ngày, cụ thể *Aedes aegypti* mất 6 ngày để hoàn thành chu kỳ phát triển còn *Aedes albopictus* mất 7 ngày để hoàn thành chu kỳ phát triển [4].

4. KẾT LUẬN

Trong điều kiện phòng thí nghiệm ở nhiệt độ $28 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $80 \pm 10\%$, quá trình phát triển của muỗi *Aedes aegypti* có những đặc điểm sau:

- Thời gian hoàn thành chu kỳ vòng đời trung bình 9,59 ngày ($9,43 - 9,75$) ngày.

- Tỷ lệ phát triển từ trứng đến bọ gậy là 100%; tỷ lệ phát triển từ bọ gậy thành quăng là 98 - 100%; tỷ lệ phát triển từ quăng thành muỗi trưởng thành là 98 - 100%; tỷ lệ từ trứng phát triển thành muỗi từ 98 - 100%.

- Khả năng sinh sản của muỗi *Aedes aegypti* trung bình đẻ 3,90 lần với số lượng trứng trung bình 139,22 trứng ($133,47 - 144,97$) trứng.

- Thời gian sống trung bình của muỗi cái *Aedes aegypti* là 27,9 ngày, ngắn nhất là 04 ngày và dài nhất là 59 ngày. Thời gian sống trung bình của muỗi đực *Aedes aegypti* là 12,84 ngày, ngắn nhất là 02 ngày và dài nhất là 25 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Đức Hương, “Muỗi *Aedes Meigen* (Culicidae, Diptera) ở miền Bắc Việt Nam: Thành phần loài, phân bố, sinh học, sinh thái học và vai trò truyền bệnh sốt xuất huyết”, luận án tiến sĩ, Trường Đại học Tổng hợp Hà Nội, Hà Nội, 1984.
- [2] Vũ Sinh Nam, “Một số đặc điểm sinh học, sinh thái và biện pháp phòng chống véc tơ truyền bệnh sốt xuất huyết Dengue ở một số địa phương miền Bắc Việt Nam”, Luận án PTS. Y Dược, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, Hà Nội, 1995, Tr. 3-47
- [3] Bộ Y tế, Hướng dẫn giám sát và phòng chống sốt xuất huyết dengue, Chương trình giám sát bệnh sốt xuất huyết quốc gia, 2014.
- [4] Manorenjitha MS, “The Adaptation of Field Collected *Aedes aegypti* (L.) and *Ae. albopictus* (Skuse) in Laboratory Condition”, International Journal of Life Science and Medical Research, Aug. 2015, Vol. 5 Iss. 4, PP. 25-30, 2015.
- [5] Lanciani CA, Teaching quantitative concepts of population ecology in general biology courses. Bull. Ecol. Soc. Am., 68: 492-495, 1987.

CLONING AND EXPRESSION OF TS24 RECOMBINANT PROTEIN OF *TAENIA* SPP

Nguyen Thi Van Anh*, Dang Trinh Minh Anh, Pham Nguyen Thuy Vy,
Ngo Thi Hong Phuong, Nguyen Thi Minh Chau, Tran Thi Khanh Quynh, Tran Minh Qui,
Nguyen Ho Quynh Ngan, Nguyen Thi My Duyen, Vo Huynh Minh Hien

*Institute of Malariology Parasitology and Entomology of HCMC - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district,
Ho Chi Minh City, Vietnam*

Received 08/12/2022
Revised 10/01/2023; Accepted 14/02/2023

ABSTRACT

Background: Cysticercosis is a parasitic tissue infection caused by larval cysts of the tapeworm *Taenia solium*. The patients often have few or no symptoms for many years. Currently, serological tests are being increasingly, and ELISA test is widely used for diagnosis. Nevertheless, ELISA using native antigens had the problem with cross reactions with other parasites. Moreover, the preparation of native antigens also had the limitation of source of antigen. Therefore, recombinant antigens have been described as an alternative to native antigens for diagnosis.

Objective: The purpose is to clone and express the TS24 recombinant protein of *Taenia* spp. to use it as an alternative source in order to overcome the problems in using native antigens.

Subject and method: TS24 gene (extracted from proglottid of *Taenia* spp. collected in Institute of Malariology - Parasitology - Entomology in HCM City) encoding TS24 protein was amplified and cloned into the vector pET28a. Then, the plasmid pET28a-TS24 was transformed into *E. coli* BL21 for expression.

Results: TS24 gene encoding TS24 recombinant protein had the size of 282 bp and had 92,5 % identical to TS24 of *T. solium* on GenBank (AY211879.1). TS24 gene was successfully subcloned to pET28a for expression. Finally, TS24 recombinant protein was expressed at 37°C in 6h and had the size of 12 kDa.

Conclusion: The TS24 recombinant protein will be used as an antigen for developing of ELISA test for cysticercosis.

Key word: TS24; cysticercosis; Recombinant protein; IMPEHCM.

*Corresponding author
Email address: vananh_061288@yahoo.com.vn
Phone number: (+84) 966 777 143



NGHIÊN CỨU TẠO DÒNG VÀ BIỂU HIỆN PROTEIN TÁI TỔ HỢP TS24 CỦA *TAENIA SPP*

Nguyễn Thị Vân Anh*, Đặng Trịnh Minh Anh, Phạm Nguyễn Thúy Vy,
Ngô Thị Hồng Phương, Nguyễn Thị Minh Châu, Trần Thị Khánh Quỳnh, Trần Minh Quý,
Nguyễn Hồ Quỳnh Ngân, Nguyễn Thị Mỹ Duyên, Võ Huỳnh Minh Hiền

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Tp.HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh,
Việt Nam

Ngày nhận bài: 08 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 10 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 14 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Cysticercosis là bệnh do ấu trùng của sán dây *Taenia solium* gây ra. Người nhiễm bệnh thường có rất ít hoặc không có triệu chứng trong nhiều năm. Hiện nay, các xét nghiệm huyết thanh học ngày càng được sử dụng nhiều hơn, trong đó thuật ngữ kỹ thuật ELISA được sử dụng rộng rãi. Tuy nhiên vấn đề chính của việc sử dụng kháng nguyên thô thường có phản ứng chéo với huyết thanh người nhiễm các ký sinh trùng khác. Ngoài ra, việc chuẩn bị các kháng nguyên thô cũng bị hạn chế nguồn cung. Do đó để chủ động trong việc tạo ra nguồn kháng nguyên ổn định, có độ đặc hiệu cao sử dụng cho kỹ thuật ELISA thì protein tái tổ hợp là một lựa chọn thay thế.

Mục tiêu: Nghiên cứu này chúng tôi đã tạo dòng và biểu hiện đoạn gene tái tổ hợp TS24 mã hóa protein TS24 của *Taenia spp.* để sử dụng như một nguồn kháng nguyên thay thế cho kháng nguyên thô.

Phương pháp nghiên cứu: Đoạn gene TS24 mã hóa protein TS24 (được phân lập từ đốt sán thu thập tại Viện Sốt rét- Ký sinh trùng- Côn trùng TP.HCM) được khuếch đại và nối vào vector pET28a. Plasmid pET28a-TS24 sau đó được biến nạp vào *E. coli* BL21 để biểu hiện.

Kết quả: Đoạn gene TS24 có kích thước 282bp được khuếch đại và có độ tương đồng 92,5% với TS24 của *T. solium* trên Genbank (AY21187.1). Sau đó được nối vào vector pET28a để biểu hiện protein. Protein tái tổ hợp TS24 được biểu hiện ở 37°C trong vòng 6h và có kích thước khoảng 12kDa.

Kết luận: Protein tái tổ hợp TS24 sẽ được sử dụng như là 1 nguồn kháng nguyên cho việc phát triển test ELISA chẩn đoán bệnh ấu trùng sán dải heo.

Từ khóa: TS24; Bệnh ấu trùng sán lợn; Protein tái tổ hợp; IMPEHCM.

*Tác giả liên hệ

Email: vananh_061288@yahoo.com.vn

Điện thoại: (+84) 966 777 143

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cysticercus cellulosae là bệnh nhiễm ấu trùng của *T.solium*, do người ăn phải trứng sán dây lợn nhiễm trong thức ăn hay nước uống, bệnh gây các khối u chủ yếu ký sinh ở cơ vân, cơ tim, trong não, trong mắt, dưới da, thường sẽ không có triệu chứng, trừ khi ấu trùng xâm nhập vào hệ thần kinh trung ương, gây chứng loạn thần kinh, có thể gây co giật hoặc các dấu hiệu khác ở giai đoạn muộn [1,2]. Tuy nhiên, việc chuẩn đoán bệnh do nhiễm ấu trùng sán lợn (*Cysticercus cellulosae*) ở giai đoạn sớm hiện nay gặp nhiều trở ngại do các triệu chứng lâm sàng bệnh không đặc trưng, ấu trùng có thể phân tán ở khắp nơi trong cơ thể. Trong chuẩn đoán huyết thanh học, có nhiều phương pháp xác định gián tiếp sự có mặt của ấu trùng sán lợn, tuy nhiên các phương pháp này độ đặc hiệu không cao. Những năm gần đây, kỹ thuật ELISA được ứng dụng và có độ đặc hiệu cao hơn tuy nhiên vẫn có nhiều trường hợp dương tính chéo với *Echinococcosis* và *Schistosomiasis*. Ở Việt Nam, việc chuẩn đoán xác định nhiễm ấu trùng sán lợn vẫn dựa trên các triệu chứng lâm sàng, tiền sử dịch tễ kết hợp với kết quả ELISA dương tính với kháng thể ấu trùng sán lợn là chủ yếu, vì vậy yêu cầu nguồn kháng nguyên lớn để sản xuất bộ sinh phẩm xét nghiệm. Việc sử dụng nguồn kháng nguyên thô thường không đặc hiệu, tốn thời gian không thể đáp ứng được lượng lớn kháng nguyên trong sản xuất, vì vậy trong nghiên cứu này áp dụng công nghệ tái tổ hợp và kỹ thuật tạo dòng [3] để tạo dòng gene tái tổ hợp có mang đoạn gene TS24 biến nạp vào vi khuẩn *E. coli*, biểu hiện và thu nhận kháng nguyên tái tổ hợp [4-7]. Đây sẽ là 1 kháng nguyên tiềm năng có chất lượng hơn, chủ động về số lượng trong sản xuất, và đồng thời cung cấp thêm thông tin cho việc nghiên cứu một số kháng nguyên tái tổ hợp hiệu quả phát triển bộ sinh phẩm chuẩn đoán bệnh ấu trùng sán lợn.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. *Đối tượng nghiên cứu*: Đoạn gene TS24 mã hóa protein TS24 được phân lập từ mẫu sán dải lợn được thu thập tại phòng khám chuyên khoa Ký sinh trùng, Viện Sốt rét- Ký sinh trùng- Côn trùng TP.HCM.

2.2.2. *Vật liệu, hóa chất*: vector nhân dòng pMiniT2.0

(NEB); vector biểu hiện pET 28a (Novagene), chủng vi khuẩn biểu hiện *Escherichia coli* chủng BL21, DH5 α Phenol (Merk); Chloroform(Merk);TRizol TM Reagent (Invitrogen); ProtoScript II Frist Strand cDNA Synthesis kit (NEB- Mỹ); Phusion Hight – Fidelity DNA Polymerase (NEB- Mỹ) ; enzyme cắt giới hạn *EcoRI*-HF, *XhoI* (NEB- Mỹ); môi trường nuôi cấy vi sinh vật LB broth, LB agar (Biobasic); enzyme T4 DNA ligase (Thermo); kit tinh sạch Gene JET Plasmid minipreokit (Thermo); Kit tinh sạch sản phẩm PCR (Thermo); PCR cloning kit: ligation for NEB PCR Cloning kit (NEB); Bộ hoá chất SDS - PAGE; kháng sinh: Kanamycin, Ampicillin (Biobasic);Chất cảm ứng: IPTG (Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside); thang DNA: 1kb, 100bp DNA ladder (Bioline), Thang protein 250kDa (Bio-rad).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập và tách chiết mRNA

Đốt sán được bảo quản trong dung dịch Trizol (tỷ lệ 100mg mẫu: 1ml Trizol), trữ lạnh ở -80°C đến khi tách chiết RNA.

Bổ sung 0,2 ml chloroform/1ml Trizol vào mỗi ống, lắc mạnh ống bằng tay 15-20 giây, ủ ở nhiệt độ phòng 5 phút; ly tâm 12000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Hút dịch ở pha trên chuyển sang ống eppendorf 1,5 ml mới. Bổ sung 0,5 ml isopropyl alcohol (2-propanol) ủ mẫu ở nhiệt độ phòng trong 10 phút; ly tâm 12000 v/p trong 10 phút ở 4°C; loại bỏ dịch và thu lấy tủa RNA. Bổ sung 1ml ethanol 70%; ly tâm 7500 v/p trong 10 phút ở 4°C và loại bỏ dịch. Làm khô tủa RNA ở nhiệt độ phòng không khí khoảng 15 phút. Hoàn nguyên RNA tổng số với 20-50 μ l nước free-RNase; ủ khô 55-60°C trong 10 phút. Đo nồng độ RNA thu được, chia thành nhiều tuýp để lưu trữ tránh rã đông nhiều lần, bảo quản dài hạn ở -70°C.

2.2.2. Phân lập và tạo dòng gene mã hóa protein TS24

Sản phẩm RNA sau tách chiết sẽ được thực hiện phản ứng RT-PCR (kit Kit Protoscript II frist strand cDNA synthesis kit) sử dụng môi Oligo dT để chuyển thành các đoạn cDNA do mRNA tổng hợp, các đoạn cDNA này sẽ được dùng làm khuôn cho phản ứng PCR có hiệu suất cao (kit Phusion Hight –Fidelity DNA Polymerase NEB- Mỹ) với mỗi đặc hiệu được thiết kế khuyếch đại đoạn gene mong muốn TS24-F:5'-CGGAATTCATGCACGATTCGTTTCG-3'/TS24-R:5'-CCCTCGAGTT ACAGAGCGGAATCCTTC -

3'); độ dài sản phẩm dự đoán khoảng 282bp.

Phản ứng PCR: cDNA khuôn (1ng/μl):1μl; dNTP mix (10Mm): 1μl; Primer TS24-F (10Mm):2.5μl; Primer TS24-R (10Mm):2.5 μl; 10x buffer:5 μl; Phusion DNA polymerase : 2 μl, nước khử ion vô trùng: đủ 50 μl. Chu trình nhiệt: 1 chu kì 98°C/5 phút,30 chu kì: 98°C/30 giây, 55°C/30 giây, 72°C/1 phút 30 giây, 1 chu kì: 72°C/10 phút; 4 °C/∞. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di trên agarose 1.5%, sản phẩm được cắt gel và tinh sạch bằng kit tinh sạch sản phẩm PCR (Thermo).

Gene TS24 được gắn vào vector tạo dòng pMiniT2.0 (kit ligation for NEB PCR Cloning kit -NEB), sau đó biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* (DH5α) bằng phương pháp shock nhiệt. Các khuẩn lạc mang plasmid tái tổ hợp pMiniT2.0 - TS24 được kiểm tra bằng kỹ thuật PCR khuẩn lạc với cặp mồi TS24F/TS24R, và cặp mồi của plasmid pMiniT2.0. Sau đó được nuôi và tách chiết ra khỏi tế bào vi khuẩn (kit Gene JET Plasmid miniprekit - Thermo) lưu trữ dùng làm nguyên liệu cho quá trình tạo dòng biểu hiện.

2.2.3. Tạo dòng *E. coli* BL21 mang vector tái tổ hợp pET 28a-TS24

Vector tái tổ hợp pMiniT2.0-TS24 và vector biểu hiện pET28a+ được cắt bằng 2 enzyme cắt giới hạn *EcoRI* và *XhoI*. Ủ hỗn hợp phản ứng ở 37°C trong 4 giờ. Sản phẩm sau cắt được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di

agarose 1,5% và cắt gel để tinh sạch.

Thực hiện phản ứng nối 2 vật liệu trên bằng enzyme nối T4 DNA ligase. Hỗn hợp phản ứng được ủ lạnh ở 4°C/16 giờ. Sản phẩm sau nối sẽ được biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* (DH5α) bằng phương pháp shock nhiệt. Các dòng plasmid tái tổ hợp pET28a-TS24 được kiểm tra bằng kỹ thuật PCR khuẩn lạc với cặp mồi đặc hiệu TS24F/TS24R, và cặp mồi plasmid pET28a+ (T7-F:5'-TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG-3'; T7-R: 5'-TAG TTA TTG CTC AGC GGT GG-3').

2.2.4 Cảm ứng biểu hiện TS24 tái tổ hợp

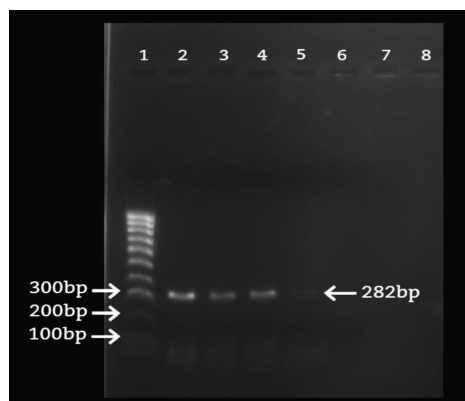
Để biểu hiện protein tái tổ hợp TS24, chủng vi khuẩn *E. coli* BL21 mang plasmid pET28a-TS24 được nuôi cấy ở 37°C trong 6 giờ, có bổ sung isopropyl-thio-β-D-galactoside (IPTG) nồng độ 1 mM và được điện di kiểm tra trên gel SDS – PAGE 12%.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Phân lập và tạo dòng gene mã hóa protein TS24

Kết quả khuếch đại gene TS24 bằng phương pháp PCR như mô tả trên phương pháp. Kiểm tra sản phẩm điện di trên gel agarose 1,5%, xuất hiện 1 băng duy nhất có kích thước khoảng 282bp (Hình 3.1) tương ứng với kích thước đoạn gene TS24 theo lý thuyết. Đây là kích thước đoạn mong muốn, cho thấy đã khuếch đại thành công đoạn gene này.

**Hình 3.1 : Điện di sản phẩm PCR khuếch đại đoạn gene TS24 trên gel agarose 1.5%
Giếng 1: thang chuẩn 100bp; Giếng 2,3,4,5: gene TS24 có kích thước 282bp**



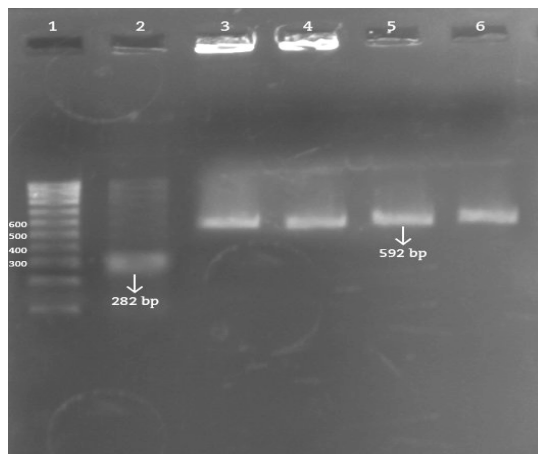
Sản phẩm PCR chứa gene mã hóa TS24 (tinh sạch) sau đó được nối vào vector pMiniT2.0 và biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* (DH5α), nuôi cấy trên môi trường

chọn lọc LB agar có bổ sung kháng sinh ampicillin. Chọn 4 dòng khuẩn lạc nuôi qua đêm để kiểm tra. Kết quả PCR khuẩn lạc cho 1 band có kích thước khoảng

282bp với môi TS24-F/TS24R (Hình 3.2 giếng 2) và kích thước khoảng 592bp với môi pMiniT2.0 (Hình 3.2 giếng 3-6). Như vậy, đã tách dòng thành công 4

chủng khuẩn lạc đều chứa vector tái tổ hợp có mang gene TS24, hoàn thành công đoạn tạo dòng cho đoạn gene mục tiêu TS24.

Hình 3.2: Điện di sản phẩm PCR kiểm tra khuẩn lạc bằng môi pMini2.0;
Giếng 1: thang chuẩn 100bp; Giếng 2: vector pMmini2.0/TS24, môi TS24F/TS24R 283bp;
Giếng 3-6: vector pMini2.0/TS24, môi plasmid 592bp

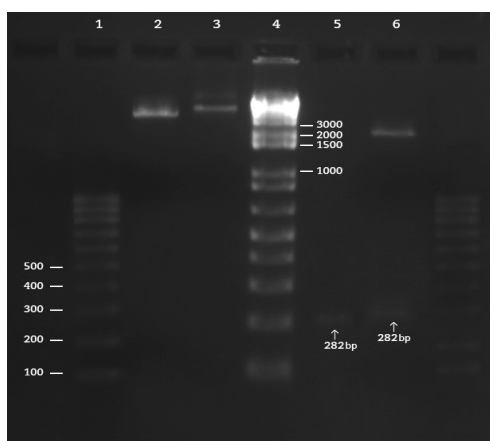


3.2 Tạo dòng *E. coli* BL21 mang vector tái tổ hợp pET 28a+-TS24

Plasmid tái tổ hợp pMini2.0/TS24 và vector biểu hiện plasmid pET 28a+ được thực hiện phản ứng cắt với 2 enzyme cắt đầu dính là *EcoRI* và *XhoI*. Sản phẩm sau cắt được điện di trên gel agarose 1,5% cho kết quả

plasmid pMiniT2.0-TS24 có 2 band (Hình 3.3 giếng 6) trong đó 1 band khoảng 2000bp (pMiniT2.0), và 1 band mong muốn của gene TS24 khoảng 282bp và plasmid pET28a+ sau cắt khoảng 5000bp (Hình 3.3 giếng 2) thấp hơn so với plasmid nguyên bản (Hình 3.3 giếng 3). Sản phẩm điện di của pET28a+ (Hình 3.3 giếng 2) và TS24 (Hình 3.3 giếng 6) được cắt gel và tinh sạch.

Hình 3.3 : Kết quả điện di sản phẩm cắt gene mục tiêu TS24 và vector pET28a+ bằng enzyme cắt giới hạn *EcoRI* và *XhoI* trên gel agarose 1.5%. Giếng 1, 4,7: thang 100bp, thang 1kb; Giếng 2: sản phẩm cắt plasmid pET28a+; Giếng 3: plasmid pET 28a+ (nguyên bản); Giếng 5: sản phẩm gene mục tiêu nguyên bản TS24 (282bp); Giếng 6: sản phẩm cắt plasmid pMini2.0/TS24



Sau khi tinh sạch pET28a+ và TS24 được nối bằng enzyme T4 DNA ligase sau đó biến nạp vào vi khuẩn

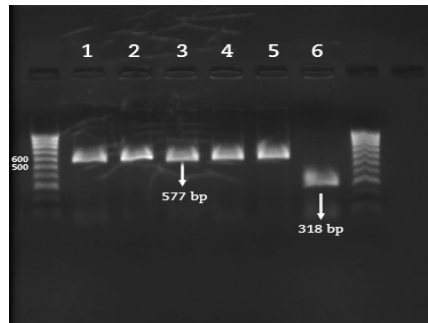
E. coli BL21 được trải trên môi trường thạch có chứa kháng sinh kanamycin để tạo ra khuẩn lạc riêng rẽ và



mang vector biểu hiện tái tổ hợp (trên vector này có gen kháng kháng sinh kanamycin), chọn 5 dòng khuẩn lạc nuôi qua đêm, tách chiết, tinh sạch, điện di kiểm tra sau biến nạp vào vi khuẩn trên gel agarose 1,5%. Kết quả cho sản phẩm PCR plasmid pET28a+/TS24 chứa duy nhất 1 band có kích thước khoảng 577bp với mỗi T7-F/

T7-R (Hình 3.4 giếng 1-5) và kích thước khoảng 318 bp với mỗi T7-F/T7-R (Hình 3.4 giếng 6). Như vậy, đã tách dòng thành công 5 chủng khuẩn lạc đều chứa vector tái tổ hợp có mang gen TS24, hoàn thành công đoạn tạo dòng *E. coli* BL21 mang vector tái tổ hợp pET28a+-TS24.

Hình 3.4: Điện di sản phẩm PCR kiểm tra khuẩn lạc bằng mỗi T7F/T7R; Thang chuẩn 100bp, Giếng 6: đối chứng dương (khuôn là vector pET28a+ nguyên bản) 318bp; Giếng 1-6: khuẩn lạc có mang vector tái tổ hợp pET28a+/TS24, mỗi T7-F/T7-R: 577bp



Chọn plasmid tái tổ hợp được tách khỏi tế bào vi khuẩn từ 1 dòng *E. coli* có chứa gen mục tiêu để thực hiện giải trình tự và so sánh với trình tự tham khảo trên GenBank.

Kết quả cho thấy trình tự thu được là đoạn gene TS24 trong nghiên cứu tương đồng 92,5% với trình tự TS24 của *T. solium* được công bố trên GenBank (Hình 3.5).

Hình 3.5: Kết quả giải trình tự đoạn gene TS24 được khuếch đại bằng cặp mỗi cặp mỗi TS24 – F/TS24 –R

<i>T. solium</i> TS24	1	ATGCACGATTTCGTTTCGCCTTGTGGAAAAGAAATGC	AAAGCGATTCAAG	TTACAAATCAAAC	STC	70
TS24-F	1	ATGCACGATTTCGTTTCGCCTTGTGGAAAAGAAATGC	AAAGCGATTCAAG	TTACAAATCAAAC	STC	70
<i>T. solium</i> TS24	71	TCTCGGGTTCGACCCCTACACTTAA	SCTCTGGAGGAACTGCAAGCAAAG	TAAATTCGTGTGGAGGTGT		140
TS24-F	71	TCTCGGGTTCGACCCCTACACTTAA	SCTCTGGAGGAACTGCAAGCAAAG	TAAATTCGTGTGGAGGTGT		140
<i>T. solium</i> TS24	141	TGGCCCCAAGTGATTGGAGAGTCGCTCCTCCATCATGCTG	SGCAAAGAAAAGGGAT	CCTGTGTAAGCCCT		210
TS24-F	141	TGGCCCCAAGTGATTGGAGAGTCGCTCCTCCATCATGCTG	SGCAAAGAAAAGGGAT	CCTGTGTAAGCCCT		210
<i>T. solium</i> TS24	211	TACCAAACCTGCTGCTGTAAGCCATGTATAACGAGAT	TAAGGATTCCGCTCTGTAA			267
TS24-F	211	TACCAAACCTGCTGCTGTAAGCCATGTATAACGAGAT	TAAGGATTCCGCTCTGTAA			267

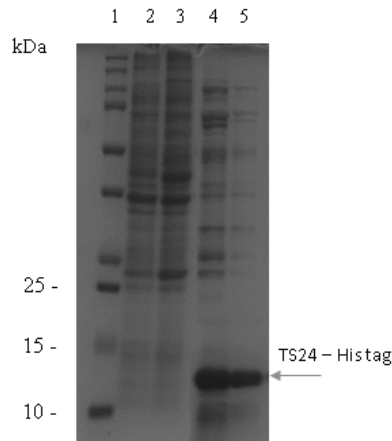
3.3. Biểu hiện protein tái tổ hợp TS24 trong vi khuẩn *E. coli*

Sau khi kết quả giải trình tự khẳng định đoạn gene TS24 được chèn theo đúng chiều vào pET28a và có thể biểu hiện, một khuẩn lạc dương được chọn nuôi và biểu hiện protein TS24 tái tổ hợp trong môi trường LB lỏng bổ sung kháng sinh kanamycin, cảm ứng bởi 1mM isopropyl-thio-β-D-galactoside (IPTG) ở điều kiện

37°C trong 6h. Dịch chiết tế bào được thu trước và sau khi sử dụng cảm ứng IPTG để kiểm tra bằng điện di protein SDS-PAGE.

Phân tích kết quả SDS – PAGE của protein tái tổ hợp TS24 cho thấy band mục tiêu có kích thước khoảng 12 kDa (Hình 3.6). Đây là kích thước của protein mục tiêu TS24 và đoạn his-tag.

Hình 3.6: Kết quả biểu hiện protein tái tổ hợp trong *E. coli* (BL21) trên gel SDS-polyacrylamide 12% nhuộm gel bằng Coomassie Blue trên gel SDS - polyacrylamide 12% nhuộm gel bằng Coomassie Blue; Giếng 1: thang chuẩn protein 250kDa; Giếng 2: dịch chiết vi khuẩn *E. coli* trước khi cho cảm ứng với IPTG; Giếng 3, 4, 5: dịch chiết vi khuẩn *E. coli* sau khi cho cảm ứng với IPTG 30 phút, 4 giờ và 6 giờ.



4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tạo dòng và biểu hiện thành công gene mã hóa TS24 trong tế bào vi khuẩn *E. coli* BL21. Kết quả phân lập gene TS24 của *Taenia solium* thu đoạn DNA có kích thước 282bp, có trình tự tương đồng 92,5% so với gene TS24 được công bố trên GenBank. Trình tự này được nối thành công vào vector pET28a+ và biểu hiện protein có trọng lượng phân tử khoảng 12kDa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Đề, Sán dây/ ấu trùng sán lợn và sinh học phân tử ứng dụng, Nxb Y học.
- [2] Nguyễn Văn Đề, Ký sinh trùng trong lâm sàng, Nxb Y học, tr.233, 2012.
- [3] Nguyễn Hoàng Lộc, Giáo trình công nghệ DNA tái tổ hợp, Nxb Đại học quốc gia Tp.HCM, tr.176-202, tr.2-22, tr.62-70, tr.72-84, tr.129-150, 2007
- [4] da Silva MR, Maia AA, Espíndola NM et al., Recombinant expression of *Taenia solium* TS14 antigen and its utilization for immunodiagnosis of neurocysticercosis; Acta Trop. 2006 Dec;100(3):192-8. doi: 10.1016/j.actatropica.2006.10.009. Epub 2006 Dec 1. PMID: 17141165
- [5] Hernández-González A, Noh J, Perteguer MJ et al., Comparison of T24H-his, GST-T24H and GST-Ts8B2 recombinant antigens in western blot, ELISA and multiplex bead-based assay for diagnosis of neurocysticercosis, Parasit Vectors. 2017 May 15;10(1):237. doi: 10.1186/s13071-017-2160-2.
- [6] Meichen LIU, Renhui OUYANG, Bo LUO, Biying ZHOU, Construction of prokaryotic expression system of *Taenia solium* 14-3-3.2 and its expression at the stages of *Taenia solium* adult and cysticercus, Chinese Journal of Endemiology ; (12): 435-440, 2021. Artigo em Chinês | WPRIM | ID: wpr-909028
- [7] Kathy H, Sowmya P, Fatima WW et al., Characterization and cloning of T24, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis, Molecular and Biochemical Parasitology, Volume 147, Issue 1, May 2006, Pages 109-117, org/10.1016/j.molbiopara.2006.02.004

COMPOSITION OF MEDICAL ARTHROPOD SPECIES IN BORDER OF VIET NAM-CAMPUCHIA, 2022

Le Tan Kiet*, Le Thanh Dong, Doan Binh Minh, Mai Dinh Thang, Phan Van Y, Pham Thi Nhung, Pham Thi Thu Giang, Nguyen Huu Phuc, Truong Van Thanh, Bui Viet Huyen

Institute of Malariology Parasitology and Entomology of HCMC - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 08/12/2022

Revised 09/01/2023; Accepted 14/02/2023

ABSTRACT

Object: Determine to composition of medical arthropod species in border of Viet Nam-Cambodia.

Subject and method: A cross sectional study, from Mar - Dec of 2022.

Results: There have 02 species of flea: *Ct. felis orientis*, *Ct. felis felis*; 02 species of tick: *Rh. haemaphysaloides*, *Rh. sanguineus*, *Rh. (B.) microplus*; 04 species of chigger: *As.indica*, *As. (sp)*, *Gahrlepiea (Walchia) neochinensis*, *Gahrlepiea (Walchia) sp*; 05 species of mite: *Lae. echdnimus*, *Lae. (Echinolaelap) sanguisugus*, *Lae. (Echinolaelap) sedlaceki*, *Ornithonyssus bursa*, *Lae. prognathus*; 17 species of Anopheles: *An. aconitus*, *An. anularis*, *An. barbirostris*, *An. barburostris*, *An. crawfordi*, *An. dirus*, *An. macultus*, *An. minimus*, *An. nimpe*, *An. nivipes*, *An. peditaeniatus*, *An. philippinnensis*, *An. epiroticus*, *An. karwari*, *An. kochi*, *An. sinensis*, *An. vagus*; 03 species of Aedes: *Ae. aegypti*, *Ae. Albopictus*, *Ae. vitatus*; 14 species of Culex : *Cx. annucus*, *Cx. bitaeniorhynchus*, *Cx. cinetellus*, *Cx. nigropunctatus*, *Cx. pseudovisnui*, *Cx. quiquefasciatus*, *Cx. infantulus*, *Cx. gelidus*, *Cx. fuscamus*, *Cx. vorax*, *Cx. raptor*, *Cx. tritaenorynchus*. *Cx. halifaxi*, *Cx. vishnui*.

Conclusion: There is the presence of medical arthropods that is epidemiological role. Some of species are distribution wide. Some of species are distribution in special area. The vectors of mosquitoes bite human more than animals.

Keywords: Medical arthropod, border post and border gate of Viet Nam-Cambodia.

*Corresponding author

Email address: letankiet@ymail.com

Phone number: (+84) 919 336 510

THÀNH PHẦN LOÀI CHÂN ĐỐT Y HỌC TẠI KHU VỰC BIÊN GIỚI VIỆT NAM - CAMPUCHIA, NĂM 2022

Lê Tấn Kiệt*, Lê Thành Đồng, Đoàn Bình Minh, Mai Đình Thắng, Phan Văn Ý, Phạm Thị Nhung, Phạm Thị Thu Giang, Nguyễn Hữu Phúc, Trương Văn Thành, Bùi Viết Huyện

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Tp.HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 08 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 09 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 14 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định thành phần loài chân đốt y học ở một số đồn biên phòng, cửa khẩu biên giới Việt Nam - Campuchia.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, từ tháng 03 đến tháng 12 năm 2022.

Kết quả: Có 02 loài bọ chét: *Ct. felis orientis*, *Ct. felis felis*; 03 loài ve: *Rh. haemaphysaloides*, *Rh. sanguineus*, *Rhipicephalus (B.) microplus*; 04 loài mò: *As. indica*, *Ascoschoengasti (sp)*, *Gahrliopia (Walchia) neochinensis*, *Gahrliopia (Walchia) sp*; 05 loài mạt: *Lae. echdnimus*, *Lae. (Echinolaelap) sanguisugus*, *Lae. (Echinolaelap) sedlaceki*, *Ornithonyssus bursa*, *Lae. prognathus*; 17 loài Anopheles: *An. aconitus*, *An. anularis*, *An. barbirostris*, *An. barbumrostris*, *An. crawfordi*, *An. dirus*, *An. minimus*, *An. macultus*, *An. nimpe*, *An. nivipes*, *An. peditaeniatus*, *An. philippinensis*, *An. epiroticus*, *An. karwari*, *An. kochi*, *An. sinensis*, *An. vagus*; 03 loài Aedes: *Ae. aegypti*, *Ae. Albopictus*, *Ae. vitatus*; 14 loài Culex: *Cx. annucus*, *Cx. bitaeniorhynchus*, *Cx. cinetellus*, *Cx. nigropunctatus*, *Cx. pseudovisnui*, *Cx. quiquefasciatus*, *Cx. infantulus*, *Cx. gelidus*, *Cx. fuscamus*, *Cx. vorax*, *Cx. raptor*, *Cx. tritaenorynchus*, *Cx. halifaxi*, *Cx. vishnui*.

Kết luận: Có sự hiện diện các loài chân đốt y học có vai trò dịch tễ. Một số loài có sự phân bố rộng. Một số loài phân bố vùng sinh cảnh đặc hữu. Các véc tơ muỗi có hoạt động đốt người cao hơn đốt gia súc.

Từ khóa: Chân đốt y học, cửa khẩu Việt Nam - Campuchia.

*Tác giả liên hệ

Email: letankiet@ymail.com

Điện thoại: (+84) 919 336 510



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Động vật chân đốt đóng vai trò quan trọng trong việc truyền bệnh từ động vật sang người như: bệnh Rickettsia, sốt rét, sốt xuất huyết, Zika, Chikungunja, viêm não Nhật Bản, dịch hạch, sốt phát ban, tả lỵ, lao ... Khu vực Nam Bộ có nhiều đồn biên phòng, cửa khẩu giữa Việt Nam và Campuchia có sự giao lưu du lịch, thương mại rất lớn; ngoài ra, có những nơi biên giới có sự giao lưu qua lại không kiểm soát được như đường rừng, sông... Các loài chân đốt y học có thể bay trên không gian, có loài có thể di chuyển bằng đường sông, suối, có loài di chuyển bằng đường bộ theo người, gia súc, phương tiện nên nguy cơ cao lan truyền các bệnh truyền nhiễm nguy hiểm qua biên giới.

2. MỤC TIÊU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mục tiêu: Xác định thành phần loài chân đốt y học ở một số đồn biên phòng, cửa khẩu biên giới Việt Nam - Campuchia.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang, thời gian từ 03/2022 đến 12/2022, địa điểm nghiên cứu là tại một số đồn biên phòng, cửa khẩu biên giới Việt Nam - Campuchia.

3. KẾT QUẢ

3.1. Thành phần loài nhóm ve, mò, mạt, bọ chét tại một số đồn biên phòng & cửa khẩu

Bảng 3.1. Thành phần loài các nhóm ngoại ký sinh tại một số đồn biên phòng & cửa khẩu

TT	Các nhóm ve, mò mạt, bọ chét	Đồn biên phòng		Cửa khẩu			
		Đak Bô	Tổng Lê Chân	Mỹ Quý Tây	Vĩnh Xương	Thường Phước	Gianh Thành
I	Liên họ ve Inxodoidea						
1	Rhipicephalus (B.) microplus Canestrini, 1887 *			x			x
2	Rh.haemaphysaloides Supino, 1897	x	x	x	x	x	x
3	Rhipicephalus (Rh.) sanguineus Latreille, 1804 *	x	x	x	x	x	x
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/ NB-LĐ/Toàn quốc		2/9/82	2/9/82	3/9/82	2/9/82	2/9/82	3/9/82
II	Họ mò Trombiculidae						
1	Ascoschoengastia(L.)indica *		x				
2	Ascoschoengastia		x				
3	Gahrliopia (Walchia) neochinensis Chen et Hsu, 1955			x			x
4	Gahrliopia (Walchia) sp.						x
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/ NB-LĐ/Toàn quốc		0/21/107	2/21/107	1/21/107	0/21/107	0/21/107	2/21/107
III	Liên họ Mạt Gamasoidea						
1	Laelaps echdnimus Berlese,1887*			x			
2	Laelaps (Echinolaelap) sanguisugus Vitzthun, 1926			x			x
3	Laelaps (Echinolaelap) sedlaceki			x			
4	Laelaps (L.) prognathus		x				

TT	Các nhóm ve, mò mạt, bọ chét	Đồn biên phòng		Cửa khẩu			
		Đak Bô	Tổng Lê Chân	Mỹ Quý Tây	Vĩnh Xương	Thường Phước	Giang Thành
5	Ornithonyssus bursa Berlese, 1888			x			x
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/ NB-LĐ/Toàn quốc		0/15/72	1/15/72	4/15/72	0/15/72	0/15/72	2/15/72
IV	Bộ Bọ Chết Siphonaptera						
	Họ Pulicidae Bielberg, 1820						
1	Ct. felis orientis Jodan	x	x	x	x	x	x
2	Ct. felis felis Bouche	x	x	x			x
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/ NB-LĐ/Toàn quốc		2/6/34	2/6/34	2/6/34	1/6/34	1/6/34	2/6/34

Ghi chú: * là những loài có vai trò truyền bệnh

Nhận xét: Tại đồn biên phòng Đak Bô phát hiện 02 loài ve, 02 loài bọ chét. Trong đó có 01 loài ve có vai trò truyền bệnh. Tại đồn biên phòng Tổng Lê Chân phát hiện 02 loài ve, 02 loài mò, 01 loài mạt, 02 loài bọ chét. Trong đó có 01 loài ve, 01 loài mò có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Mỹ Quý Tây phát hiện 03 loài ve, 01 loài mò, 02 loài mạt, 02 loài bọ chét. Trong đó có 02 loài ve, 02 loài mạt có vai trò truyền bệnh. Tại cửa

khẩu Vĩnh Xương phát hiện 02 loài ve, 01 loài bọ chét. Trong đó có 01 loài ve có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Thường Phước phát hiện 02 loài ve, 01 loài bọ chét. Trong đó có 01 loài ve có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Giang Thành phát hiện 03 loài ve, 02 loài mò, 02 loài mạt, 02 loài bọ chét. Trong đó có 02 loài ve có vai trò truyền bệnh.

3.2 Tỷ lệ nhiễm chân đốt y học (ve, mò, mạt, bọ chét) trên một số vật chủ

Bảng 3.2. Tỷ lệ nhiễm nhóm ve, mò, mạt, bọ chét trên một số vật chủ

TT	Vật chủ	Đồn biên phòng		Cửa khẩu			
		Đak Bô	Tổng Lê Chân	Mỹ Quý Tây	Vĩnh Xương	Thường Phước	Giang Thành
1	Bò(+)/Σ Bò (số lượng NKS)	0/2	0/4	1/2 (7 ve)	0/2	0/3	1/5 (3ve)
2	Chuột(+)/Σ Chuột (số lượng NKS)	0/0	1/6 (2 mò)	2/11 (9 mò, 23 mạt)	1/5 (2 bọ chét)	1/16 (1 bọ chét)	3/13 (27 mò, 36 mạt)
3	Chó(+)/Σ Chó (số lượng NKS)	8/17 (18 ve, 26 bọ chét)	6/18 (37 ve, 11bọ chét)	4/15 (31 ve, 16 bọ chét)	8/19 (49 ve, 10 bọ chét)	5/13 (12 ve, 4 bọ chét)	7/16 (19 ve, 13 bọ chét)
4	Mèo(+)/Σ Mèo (số lượng NKS)	0/3	0/1	0/0	0/0	0/0	1/9 (2 bọ chét)
5	Gà & rác*(+)/Σ Gà & rác* (số lượng NKS)	0/0	1/1 (9 mạt)	0/0	0/0	0/0	1/2 (2 mạt)
6	Trâu (+)/Σtrâu (số lượng NKS)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/10	0/0
	Vật chủ(+)/Σ Vật chủ	8/22	8/28	7/28	9/26	6/42	13/45



Nhận xét: Tại đồn biên phòng Đak Bô có tỷ lệ nhiễm nhóm ngoại ký sinh là 36,36%. Trong đó, nhóm chó nhiễm cao nhất (47,05%). Tại đồn biên phòng Tổng Lê Chân có tỷ lệ nhiễm ngoại ký sinh chung ở là 26,66%; Trong đó, nhóm gà, rác chuồng gà nhiễm cao nhất (100%), nhóm chó nhiễm 33,33%, nhóm chuột nhiễm 16,66%. Tại cửa khẩu Mỹ Quý Tây có tỷ lệ nhiễm chân đốt ngoại ký sinh chung là 25%. Trong đó, nhóm bò nhiễm cao nhất (50%), nhóm chó (26,66%); tiếp theo là nhóm chuột (18,18%). Tại cửa khẩu Vĩnh Xương có tỷ lệ nhiễm chân đốt ngoại ký sinh chung là 34,6%.

Trong đó, nhóm chó nhiễm cao nhất (42,1%); tiếp theo là nhóm chuột (20%). Tại cửa khẩu Thường Phước có tỷ lệ nhiễm chân đốt ngoại ký sinh chung là 14,28%. Trong đó, nhóm chó nhiễm cao nhất (38,46%); tiếp theo là nhóm chuột (6,25%). Tại cửa khẩu Giang Thành có tỷ lệ nhiễm chân đốt ngoại ký sinh chung là 28,88%. Trong đó, nhóm gà nhiễm cao nhất (50%), nhóm chó nhiễm (43,75%); nhóm chuột (23,07%), bò (20%), mèo (11,11%).

3.3. Thành phần loài các giống muỗi Culicidae

Bảng 3.3. Thành phần loài các giống muỗi Culicidae

TT	Thành phần loài muỗi Culicidae	Đồn biên phòng		Cửa khẩu			
		Đak Bô	Tổng Lê Chân	Mỹ Quý Tây	Vĩnh Xương	Thường Phước	Giang Thành
I	Giống Aedes						
1	Ae.aegypti *	x	x	x	x	x	x
2	Ae. albopictus*	x	x				
3	Ae. vitatus	x					
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/NB-LĐ/Toàn quốc		3/24/40	2/24/40	1/24/40	1/24/40	1/24/40	1/24/40
II	Giống Anopheles						
1	An. anularis	x					
2	An. aconitus*	x					
3	An. barbirostris	x	x				
4	An. barbumrostris	x	x				
5	An. crawfordi	x					
6	An. maculatus*	x					
7	An. minimus *	x					
8	An. nivipe	x	x				
9	An. dirus *	x					
10	An. kochi	x	x				
11	An. kawari	x	x				
12	An. peditaeniatus	x	x				
13	An. philippinensis	x	x				
14	An. vagus	x					x

TT	Thành phần loài muỗi Culicidae	Đồn biên phòng		Cửa khẩu			
		Đak Bô	Tổng Lê Chân	Mỹ Quý Tây	Vĩnh Xương	Thường Phước	Giang Thành
15	An. sinensis	x	x	x	x	x	x
16	An. epiroticus *						x
17	An. nimpe						x
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/NB-LĐ/Toàn quốc		15/42/62	8/42/62	1/42/62	1/42/62	1/42/62	4/42/62
III	Giống Culex						
1	Cx. anucus			x	x	x	
2	Cx. bitaeniorhynchus*		x	x	x	x	
3	Cx. pseudovisnui		x	x	x	x	
4	Cx. vorax	x	x				
5	Cx. raptor		x		x	x	
6	Cx. quinquefasciatus*		x			x	
7	Cx. tritaenorynchus *		x	x	x	x	x
8	Cx. cinetellus	x		x	x	x	
9	Cx. fuscamus	x				x	
10	Cx. infantulus			x	x	x	
11	Cx. halifaxi			x	x	x	
12	Cx. nigropunctatus				x	x	
13	Cx. gelidus					x	
14	Cx. vishnui						x
Tỷ lệ đa dạng loài: ĐNC/NB-LĐ/Toàn quốc		3/25/28	6/25/28	7/25/28	9/25/28	12/25/28	2/25/28

Ghi chú: * những loài có vai trò truyền bệnh

Nhận xét: Tại đồn biên phòng Đak Bô phát hiện 03 loài Aedes, 14 loài Anopheles, 03 loài Culex. Trong đó có 02 loài Aedes, 03 loài Anopheles có vai trò truyền bệnh. Tại đồn biên phòng Tổng Lê Chân phát hiện 02 loài Aedes, 08 loài Anopheles, 06 loài Culex. Trong đó có 02 loài Aedes, 03 loài Culex có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Mỹ Quý Tây phát hiện 01 loài Aedes, 01 loài Anopheles, 07 loài Culex. Trong đó có 01 loài Aedes, 02 loài Culex có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Vĩnh

Xương phát hiện 01 loài Aedes, 01 loài Anopheles, 09 loài Culex. Trong đó có 01 loài Aedes, 02 loài Culex có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Thường Phước phát hiện có 01 loài Aedes, 01 loài Anopheles, 12 loài Culex. Trong đó có 01 loài Aedes, 03 loài Culex có vai trò truyền bệnh. Tại cửa khẩu Giang Thành phát hiện 01 loài Aedes, 04 loài Anopheles, 02 loài Culex. Trong đó có 01 loài Aedes, 01, loài Anophles có vai trò truyền bệnh, 01 loài Culex có vai trò truyền bệnh.

3.4 Ái tính các loài véc tơ



Bảng 3.4. Ái tính các loài véc tơ

TT	Thành phần loài	Tỷ lệ % đốt người	Tỷ lệ % đốt gia súc
1	Ae. aegypti (Linnaeus,1757) *	100	0
2	Ae. albopictus (Skuse,1889)*	100	0
3	An.aconitus	47,6	52,38
4	An. maculatus	40	60
5	An. minimus	63	37
6	An. dirus	100	0
7	An. epiroticus	83	17
8	Cx. quinquefasciatus	50	50
9	Cx.tritaenorynchus	25	75
10	Cx. bitaeniorhynchus (Giles,1901)	77,77	22,22

Nhận xét: Các loài muỗi có vai trò truyền bệnh giống Aedes có Ae. aegypti, Ae.albopictus đốt người, không đốt gia súc. Các loài muỗi có vai trò truyền bệnh giống Anopheles có An. dirus đốt người, không đốt gia súc. An. aconitus, An. minimus, An. maculatus, An. epiroticus vừa đốt người vừa đốt gia súc. Các loài muỗi có vai trò truyền bệnh giống Culex có Cx. quinquefasciatus, Cx.tritaenorynchus, Cx. bitaeniorhynchus vừa đốt người vừa đốt gia súc.

4. BÀN LUẬN

Kết quả số lượng thành phần loài ve thấp (03 loài) so với những công bố thành phần loài ve tại khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng (9 loài) và tại Việt Nam (82 loài). Số lượng và thành phần loài vật chủ hoang dại như các loài bò sát và các loài động vật hoang dã, nhóm nghiên cứu chưa tiếp cận được nên kết quả thành phần loài ve phát hiện được trong nghiên cứu ít đa dạng. Loài ve có vai trò truyền bệnh có sự phân bố rộng như: Rh. sanguineus [1, 3].

Kết quả cho thấy số lượng thành phần loài mò, mặt thấp so với khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng và Việt Nam, Có thể số mẫu thu thập còn ít chưa đủ phản ánh hết tình hình thực tế địa phương, có sự hiện diện của loài mò, mặt có vai trò truyền bệnh [4].

Nhóm bọ chét ký sinh trên 03 loài vật chủ là chuột, chó và loài mèo. Thành phần loài bọ chét thấp (02 loài) so

với những công bố tại khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng (6 loài) và tại Việt Nam (34 loài). Trong đó, không phát hiện loài có vai trò truyền bệnh. Có thể số mẫu thu thập còn ít chưa đủ phản ánh hết tình hình thực tế các địa phương cũng như khu vực[3,4].

Kết quả cho thấy thành phần loài các giống muỗi Anopheles, Culex phong phú mặc dù chưa phản ánh hết thực trạng thành phần loài ở địa phương so với khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng (91 loài) và Việt Nam (128 loài). Tuy nhiên; có sự hiện diện các véc tơ truyền bệnh sốt rét, sốt xuất huyết, viêm não Nhật Bản, giun chỉ. Các kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [2].

Ae.aegypti phân bố ở tất cả các đồn biên phòng, cửa khẩu mà nhóm nghiên cứu đã điều tra. Ae.albopictus chỉ thấy phân bố ở đồn biên phòng của tỉnh Bình Phước và Tây Ninh. Các cửa khẩu của tỉnh Long An, Đồng Tháp, An Giang, Kiên Giang không phát hiện Ae. albopictus. Nghiên cứu năm 2020, cho thấy có sự hiện diện Ae. albopictus ở các tỉnh Trà Vinh, Vĩnh Long, Bà Rịa-Vũng Tàu, quần đảo Nam Du. Vì vậy chưa thể khẳng định sự hiện diện Ae. albopictus nên cần có những nghiên cứu tiếp theo [6, 7].

Muỗi An. dirus tìm thấy đốt môi ngoài nhà và ở khu vực bìa rừng ở đồn biên phòng Đak Bô của tỉnh Bình Phước. Khu vực rừng nguyên sinh ở đồn biên phòng Tổng Lê Chân của tỉnh Tây Ninh mặc dù sinh cảnh phù hợp cho muỗi An. dirus phát triển nhưng nhóm nghiên cứu chưa phát hiện thấy. Đây là véc tơ truyền bệnh sốt

rét nguy hiểm cho khu vực miền Đông Nam Bộ [5]. Việc phòng chống véc tơ này cho người đi rừng ngủ rẫy là khó khăn mặc dù chúng hiện diện với mật độ thấp.

5. KẾT LUẬN

- Thành phần loài chân đốt y học (ve, mò, mạt, bọ chét) ở các điểm điều tra chưa phát hiện được nhiều loài so với sự đa dạng loài đã được ghi nhận tại khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng. Tuy nhiên; có sự hiện diện các loài có vai trò truyền bệnh như: *Rhipicephalus (B.) microplus*, *Rh. sanguineus*, *Ascoschoengastia (L.)indica*, *Laelaps echdnimus*.

- Thành phần loài muỗi thuộc *Culex* phong phú, phân bố rộng, có sự hiện diện véc tơ truyền bệnh như: *Cx. tritaenorynchus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. bitaeniorhynchus*.

- Thành phần loài *Anopheles* phong phú. Có những loài phân bố rộng, có những loài có vai trò truyền bệnh phân bố ở vùng sinh cảnh đặc hữu như: *An. dirus*, *An. minimus*, *An. maculatus* phân bố khu vực rừng, núi miền Đông Nam Bộ. *An. epiroticus* phân bố khu vực nước lợ miền Tây Nam Bộ.

- Thành phần loài *Aedes* ở các điểm điều tra chưa phát hiện được nhiều so với sự đa dạng đã được ghi nhận tại khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng, có sự hiện diện véc tơ truyền bệnh sốt xuất huyết và phân bố rộng như: *Ae.aegypti*, *Ae.albopictus*.

- Các loài muỗi thuộc giống *Culicidae* có vai trò truyền bệnh có hoạt động đốt người cao hơn đốt gia súc.

6. KIẾN NGHỊ

- Cần tiếp tục điều tra, thu thập thêm các địa điểm, thời điểm, mẫu vật chủ khác nhau để có thể bổ sung thành phần loài chân đốt y học cho các địa phương và khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng, toàn quốc.

- Nghiên cứu thêm về đặc điểm sinh học một số loài chân đốt y học có vai trò truyền bệnh bằng các nghiên

cứu dọc.

- Các đồn biên phòng và cửa khẩu cần có biện pháp kiểm soát vấn đề y tế biên giới bao gồm: kiểm soát người qua lại, động vật nuôi, hoang dại, chân đốt y học như: thu bắt vật chủ, phun khử trùng, khử khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Châu và cs, Thành phần loài động vật chân đốt y học và độ nhạy cảm với hóa chất diệt côn trùng của véc tơ sốt xuất huyết tại đảo Phú Quốc – Kiên Giang. Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học. NXB Y học, 2011.
- [2] Nguyễn Văn Châu và cs, Thành phần loài ruồi và muỗi tại một số vườn quốc gia và khu bảo tồn thiên nhiên ở Nam Bộ. Tạp chí Y học TP. HCM. Tập 16 – số 3, 2012.
- [3] Nguyễn Văn Châu, Các loài động vật chân đốt ký sinh đã phát hiện ở Việt Nam. Báo cáo hội nghị côn trùng học quốc gia lần thứ 9, Nxb Nông nghiệp, 2017.
- [4] Lê Thành Đồng và cs, Nghiên cứu thành phần loài và phân bố một số nhóm ngoại ký sinh tại một số điểm. Tạp chí Y học Dự phòng. Tập XXV, số 8 (168) 2015, số đặc biệt.
- [5] Lê Thành Đồng và cs, Phân bố véc tơ sốt rét ở khu vực Nam Bộ – Lâm Đồng giai đoạn 2003 – 2013. Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học. NXB Y học, 2014.
- [6] Lê Thành Đồng, Phân bố véc tơ sốt rét, sốt xuất huyết tại các vùng sốt rét lưu hành tỉnh Bình Phước năm 2011, Báo cáo hội nghị côn trùng học quốc gia lần thứ 9, Nhà xuất bản Nông nghiệp, 835 – 843, 2017.
- [7] Lê Thành Đồng, Đặc điểm sinh thái hoạt động của véc tơ sốt xuất huyết tại một số tỉnh ở Nam Bộ - Lâm Đồng. Báo cáo hội nghị côn trùng học quốc gia lần thứ 9, Nxb Nông nghiệp, 814 – 821, 2017.



ANALYSIS OF 861 CASES OF EXTERNAL PARASITIC INFECTION SKIN AT INSTITUTE OF MALARIOLOGY, PARASITOLOGY AND ENTOMOLOGY HO CHI MINH CITY

Le Thanh Dong, Pham Thi Thien Ly*, Hoang Oanh, Pham Thi Thu Giang,
Tran Thi Thanh Thuy

Ho Chi Minh City Institute of malariology, Parasitology and Entomology - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 12/12/2022

Revised 11/01/2023; Accepted 14/02/2023

ABSTRACT

Objective: To provide important evidence for doctors to diagnose more accurately, classify diseases to exclude related diseases.

Methods: A cross-sectional descriptive study and longitudinal follow-up of case series.

Research results: In 1,574 patients showing signs of skin parasitic infection, there were 861 cases of infection: There were 827 cases of demodex infection, accounting for 65.1% (827/1270), 28 cases of dermatophytosis accounting for 10.1% (28/277), of which mainly filamentous fungi (26 cases), the rest are yeasts and mixed infections. Found 02 cases of pubic lice, accounting for 25.0% (2/8), 04 cases with scabies, accounting for 9.5% (4/42).

Conclusion: Dermatophytosis is a neglected disease and has recently gained the attention of clinicians due to the increasing incidence in humans. Clinicians need to be careful and thoughtful in their diagnosis to rule out diseases caused by dermatophytes.

Keyword: 861 Demodex, Dermatophytosis, Scabies, IMPE.

*Corresponding author

Email address: thienlypham.dhy@gmail.com

Phone number: (+84) 336 011 820

PHÂN TÍCH 861 TRƯỜNG HỢP NHIỄM KÝ SINH TRÙNG NGOÀI DA TẠI PHÒNG KHÁM VIỆN SỐT RÉT- KÝ SINH TRÙNG – CÔN TRÙNG THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Lê Thành Đồng, Phạm Thị Thiên Lý*, Hoàng Oanh, Phạm Thị Thu Giang,
Trần Thị Thanh Thủy

Viện Sốt rét- Ký sinh trùng- Côn trùng TP. Hồ Chí Minh - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 12 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 11 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 14 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nhằm cung cấp các bằng chứng quan trọng để các bác sĩ chẩn đoán chính xác hơn, phân loại bệnh để loại trừ các bệnh liên quan.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang và theo dõi dọc loạt ca bệnh.

Kết quả nghiên cứu: Trong 1.574 lượt bệnh nhân có biểu hiện nhiễm ký sinh trùng ngoài da có 861 trường hợp nhiễm bệnh: Có 827 trường hợp nhiễm demodex, chiếm tỷ lệ 65,1% (827/1270), 28 trường hợp nhiễm nấm da, chiếm tỷ lệ 10,1% (28/277), trong đó chủ yếu là nấm sợi (26 ca), số còn lại là nấm men và nhiễm hỗn hợp. Tìm thấy 02 trường hợp có rận mu, chiếm tỷ lệ 25,0% (2/8), 04 trường hợp có cái ghẻ, chiếm tỷ lệ 9,5% (4/42).

Kết luận: Nhiễm Ký sinh trùng ngoài da là căn bệnh bị lãng quên và gần đây được các bác sĩ lâm sàng chú ý do sự gia tăng tỷ lệ mắc bệnh ở người. Các bác sĩ lâm sàng cần lưu ý và có suy nghĩ cẩn trọng trong chẩn đoán để loại trừ bệnh do các tác nhân ký sinh trùng ngoài da.

Từ khóa: 861 demodex, nấm da, ghẻ IMPEHCM.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm ký sinh trùng là bệnh phổ biến ở Việt Nam, ký sinh trùng có thể xâm nhập và gây bệnh trên tất cả các cơ quan của cơ thể con người. Trong đó, đối với da, với diện tích lớn, phơi nhiễm nhiều và thường xuyên với các tác nhân gây bệnh, đặc biệt là các tác nhân ký sinh trùng thì rất phổ biến đối với mọi tầng lớp nhân dân, mọi lứa tuổi, nghề nghiệp, giới tính và địa bàn dân

cư khác nhau. Tuy nhiên, tùy thuộc vào khả năng tiếp xúc, vào tính chất lao động, sinh hoạt ... mà có mức độ nhiễm khác nhau.

Đối với các bệnh liên quan đến nhiễm ký sinh trùng và nấm, qua thời gian thu dung, khám và điều trị tại Phòng khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng, chúng tôi nhận thấy bệnh thường dễ bị bỏ sót hoặc đã điều trị nhiều nơi làm cho bệnh khó phát hiện.

*Tác giả liên hệ

Email: thienlypham.dhy@gmail.com

Điện thoại: (+84) 336 011 820



Để có cơ sở khoa học, bổ sung kinh nghiệm cho việc chẩn đoán và xét nghiệm ký sinh trùng ngoài da, phòng khám đã tổng hợp, phân tích các số liệu về bệnh nhân nhiễm ký sinh trùng ngoài da từ tháng 01/2022 đến tháng 9/2022. Kết quả cho thấy, trong 1.574 lượt bệnh nhân có biểu hiện nhiễm ký sinh trùng ngoài da, chỉ định xét nghiệm demodex 1.270 trường hợp, kết quả có 827 trường hợp nhiễm demodex, chiếm tỷ lệ 65,1% (827/1270); chỉ định xét nghiệm nấm da 277 trường hợp, kết quả có 28 trường hợp nhiễm nấm da, chiếm tỷ lệ 10,1% (28/277), trong đó chủ yếu là nấm sợi (26 ca), số còn lại là nấm men và nhiễm hỗn hợp; chỉ định xét nghiệm cái ghẻ 42 trường hợp, kết quả có 04 trường hợp nhiễm cái ghẻ, chiếm tỷ lệ 9,5% (4/42); chỉ định xét nghiệm rận mu 8 trường hợp, kết quả cho thấy có 02 trường hợp nhiễm, chiếm tỷ lệ 25,0%.

Từ những kết quả phân tích nêu trên, cung cấp các bằng chứng quan trọng để các bác sĩ chẩn đoán chính xác hơn, phân loại bệnh để loại trừ các bệnh liên quan, phân tích các ca lâm sàng đến khám tại khoa khám bệnh để có cái nhìn khách quan hơn về các bệnh ngoài da do ký sinh trùng và nấm da trong 9 tháng đầu năm 2022.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

1.574 lượt bệnh nhân được chỉ định xét nghiệm lấy mẫu bệnh phẩm.

Phương pháp nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 01/2022 đến tháng 9/2022.

Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại phòng soi da- Phòng khám bệnh

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu áp dụng thiết kế nghiên cứu mô tả cắt ngang và theo dõi dọc loạt ca bệnh.

Chọn mẫu và cỡ mẫu

Toàn bộ bệnh nhân được chỉ định xét nghiệm lấy mẫu bệnh phẩm.

Các kỹ thuật về lấy mẫu bệnh phẩm

Kỹ thuật lấy mẫu bệnh, soi phát hiện demodex thực

hiện theo quy trình của Viện Sốt rét – KST – CT TP. HCM (IMPEHCM): Sử dụng dao mổ tiết trùng cạo vẩy da trên nang lông, cạo sâu nhằm lấy được hầu hết bề mặt của lớp sừng và một phần nang lông. Tập trung bệnh phẩm trên lam kính, nhỏ dầu thực vật. Đợi 1-4 phút đọc kết quả với kính hiển vi độ phóng đại thấp (vật kính 4 hay 10) soi phát hiện demodex.

Kỹ thuật lấy mẫu bệnh, tìm nấm da, thực hiện theo quy trình của IMPEHCM: Cạo vẩy da ở rìa thương tổn, cạo ở nhiều vị trí, cạo từ trong thương tổn ra ngoài da lành để lấy vẩy ở ranh giới giữa da bệnh và da lành, cho các vẩy da rơi lên tiêu bản hoặc vào đĩa petri vô khuẩn, lấy vẩy da không phải vẩy tiết, không cạo bệnh phẩm trên thương tổn cấp tính: chàm cấp, bội nhiễm.

Phương pháp lấy mẫu bệnh phẩm để tìm cái ghẻ, thực hiện theo quy trình của IMPEHCM: cạo vẩy da bằng dao cùn, cạo sâu vào da để bắt được cái ghẻ. Lấy ở các vị trí: Kẽ tay, nếp lằn vú, vùng bẹn, mông, quy đầu.

Phương pháp lấy mẫu bệnh phẩm để tìm rận mu: kiểm tra lông mu để tìm trứng, nhộng hoặc con trưởng thành. Rận trứng có thể được gỡ bỏ hoặc với kẹp hoặc bằng cách cắt tóc bị nhiễm để định loại trên kính hiển vi.

Kỹ thuật thu thập thông tin của bệnh nhân: Ghi nhận các thông tin cá nhân trong phiếu chỉ định sau đó lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm soi tươi tìm ngoại ký sinh trùng và nấm da tại phòng xét nghiệm, khoa khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng từ tháng 01/2022 đến tháng 9/2022.

Xử lý số liệu

Toàn bộ số liệu được xử lý kiểm tra lại, làm sạch trước khi được nhập vào máy tính. Số liệu được nhập vào máy tính bằng Excel và xử lý. Các nội dung nghiên cứu bao gồm:

Thông tin chung về giới tính và nhóm tuổi của bệnh nhân đến khám bệnh.

Thống kê tỷ lệ phát hiện nhiễm ký sinh trùng và nấm da, rận mu, cái ghẻ.

Đối với demodex: tính tỷ lệ xét nghiệm phát hiện tìm ký sinh trùng: tỷ lệ có demodex, Tỷ lệ % không có demodex.

Sự phát hiện demodex trên một lam kính với diện tích của 1 lam kính. Ta chia ra các mức độ như sau: không phát hiện được ký sinh trùng Demodex, Demodex: 1-4 con/lam, 5-50 con/lam, 50-100 con/lam, > 100 con/lam.

Đối với nấm da: tổng hợp, thống kê tỷ lệ phát hiện nấm sợi, nấm men và hỗn hợp nấm sợi và nấm men.

3.1. Kết quả phát hiện nhiễm ký sinh trùng trên da ở bệnh nhân

- Thông tin về bệnh nhân

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm về giới tính và nhóm tuổi bệnh nhân (n = 1.574)

		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính	Nam	464	29,48
	Nữ	1110	70,52
Nhóm tuổi	< 15 tuổi	93	5,91
	15-59 tuổi	1233	78,34
	>=60 tuổi	248	15,76

Nữ giới chiếm tỷ lệ cao hơn nam giới, chiếm 70,52%, nhóm tuổi từ 15-59 tuổi chiếm tỷ lệ cao 78,34%, nhóm tuổi < 15 tuổi chiếm tỷ lệ thấp 5,91%.

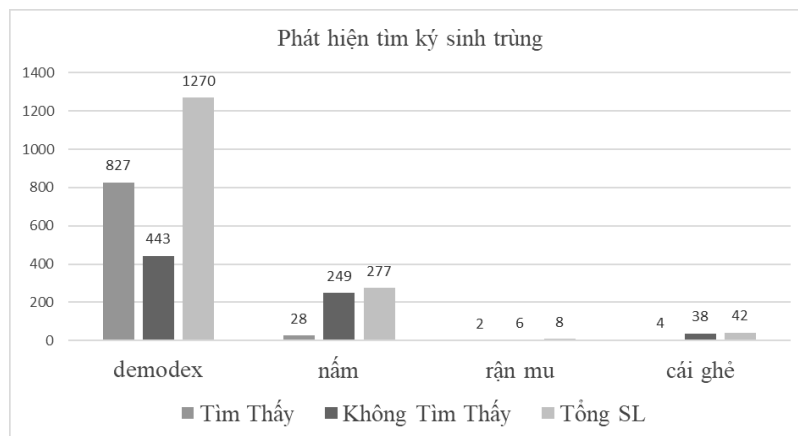
3.2. Kết quả phát hiện nhiễm ký sinh trùng trên da ở bệnh nhân

- a) Thành phần ký sinh trùng được phát hiện

Bảng 2. Thành phần ký sinh trùng được phát hiện

	Tìm thấy		Không tìm thấy	
	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Demodex (n= 1.270)	827	65,11	443	34,89
Nấm da (n=277)	28	10,10	249	89,90
Cái ghê (n= 42)	4	9,52	38	90,48
Rận mu (n= 8)	2	25,0	6	75,0

Biểu đồ 1. Thành phần ký sinh trùng được phát hiện



- Tổng số lượt soi da tìm Demodex spp. chiếm tỷ lệ cao trong số các xét nghiệm, kết quả xét nghiệm 1.270 lượt thì thấy có 827 trường hợp nhiễm demodex trên da mặt, chiếm tỷ lệ 65,1% (827/1270).

- Trong số 277 lượt người xét nghiệm nám có 28 lượt tìm thấy nám da, chiếm tỷ lệ 10,1%.

- Soi tìm rận mu, cái ghẻ thì ta thấy chiếm tỷ lệ thấp. Trong các ca soi da tìm rận mu, cái ghẻ ta thấy 2 người phát hiện rận mu, 4 ca phát hiện cái ghẻ.

b) Phân tích các loài ký sinh trùng phát hiện thấy

- Demodex spp. trên da mặt:

+ Tỷ lệ nhiễm demodex trên da mặt:

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm Demodex trên da mặt

Số lượt đến khám	Nhiễm Demodex spp.	
	Không	Có
n = 1270	443	827
	34,9%	65,1%

Kết quả xét nghiệm 1.270 lượt trường hợp có 825 trường hợp tìm thấy demodex, chiếm tỷ lệ cao 65,1%.

+ Số lượng nhiễm Demodex trên 1 lam kính

Bảng 4. Số lượng nhiễm Demodex trên 1 lam kính

Số lượng demodex/lam (n= 827)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
1-4 con Demodex/lam	409	32,20
5-50 Demodex/ lam	390	30,71
50-100 demodex/lam	23	1,81
>=100 demodex/lam	5	0,39

Trong những người tham gia xét nghiệm tìm ký sinh trùng Demodex spp. Ta thấy tìm thấy từ 1-4 con/lam chiếm 32,2 %, từ 5-50 con/lam chiếm tỷ lệ 30,7, từ 51-

100 con/lam chiếm tỷ lệ 1,81% và > 100 con/lam chiếm tỷ lệ nhỏ 0,39%.

+ Nhiễm demodex theo giới tính và nhóm tuổi

Bảng 5. Nhiễm Demodex theo giới tính và nhóm tuổi

Yếu tố liên quan n = 827		Nhiễm Demodex	
		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính	Nam	233	28,1
	Nữ	594	71,8
Nhóm tuổi	< 15 tuổi	8	1
	15-59 tuổi	666	80,5
	>=60 tuổi	153	18,5

Nữ giới nhiễm Demodex nhiều hơn nam giới chiếm tỷ lệ 71,8%, độ tuổi từ 15-59 tỷ lệ nhiễm demodex cao nhất 80,5%.

+ Triệu chứng lâm sàng

Lý do bệnh nhân đến khám chủ yếu là ngứa trên da mặt, ngứa châm chích như kiến bò trên da mặt, bác sĩ chẩn đoán nghi ngờ nhiễm ký sinh trùng Demodex và

được chỉ định lấy mẫu bệnh phẩm để tìm ký sinh trùng Demodex.

Có 3 thể lâm sàng điển hình:

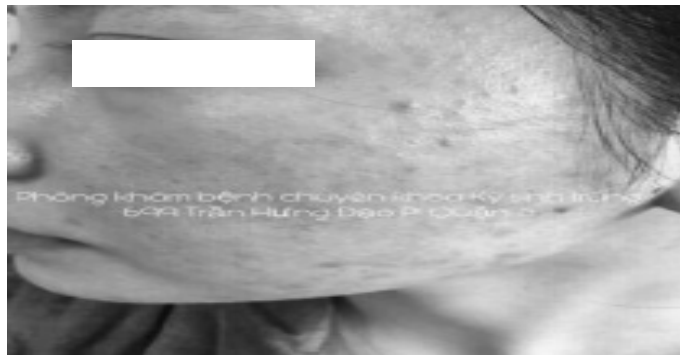
Viêm nang lông dạng vảy phấn (thể nhẹ nhất): tổn thương là đám đỏ da, bề mặt có vảy da, nút sừng ở nang lông, bệnh nhân có cảm giác kiến bò trên da

Hình 1. Thể lâm sàng viêm nang lông dạng vảy phấn



Viêm da dạng trứng cá: thể này thường bội nhiễm có thể viêm da do vi khuẩn

Hình 2. Thể lâm sàng viêm da dạng trứng cá



Trứng cá đỏ thể u hạt (thể này hiếm gặp)

- *Nấm da:*

Chẩn đoán bệnh nấm ở da trên lâm sàng thường không gặp nhiều khó khăn. Tuy nhiên, xét nghiệm soi trực tiếp tìm nấm đóng vai trò quan trọng giúp chẩn đoán xác

định và phân biệt các bệnh nấm da, nhất là các trường hợp không điển hình.

+ Các thông tin về những ca nhiễm nấm da.

- Đặc điểm về giới, nhóm tuổi và địa dư ở những bệnh nhân nhiễm nấm da



Bảng 6. Đặc điểm về giới, nhóm tuổi và địa dư ở bệnh nhân nhiễm nấm da

	n= 28	Số lượng (n)	Tỷ lệ(%)
Giới	Nam	11	39,2
	Nữ	17	60,8
Nhóm tuổi	<15 tuổi	1	3,6
	15-59 tuổi	18	64,3
	>= 60 tuổi	9	32,1
Địa dư	Thành thị	10	35,7
	Nông thôn	18	64,3

Nữ giới nhiễm nấm nhiều hơn nam giới chiếm 60,8%, độ tuổi từ 15-59 tuổi có số ca nhiễm nấm nhiều nhất chiếm 64,3%, Ở nông thôn nhiễm nấm da chiếm tỷ lệ cao 64,3%.
+ Sự phân bố tổn thương theo vị trí trên cơ thể

Bảng 7. Sự phân bố tổn thương theo vị trí trên cơ thể (n=28)

Vị trí	Số lượng (n)	Tỷ lệ(%)
Đầu mặt cổ	6	21,4
Thân mình	14	50,0
Cánh tay	5	17,9
Chân	2	7,1
Mông	1	3,6

Các phân bố tổn thương theo vị trí trên cơ thể nhiễm nấm da chủ yếu là thân mình chiếm 50% số ca xét nghiệm tìm thấy nấm da, đầu cổ chiếm vị trí 21,4%, cánh tay (17,9%). Vị trí tổn thương tương đương với nghiên cứu của bệnh viện Phong- Da liễu Quy Hòa Vị trí thân (77,55%).
- *Cái ghẻ*
Trong 28 ca soi tìm cái ghẻ có 4 ca được tìm thấy cái ghẻ bằng các hình ảnh trực diện nhìn thấy cái ghẻ hoặc trùng hoặc ấu trùng ghẻ.

Hình 3. Hình ảnh lâm sàng của cái ghẻ



+ Tổng hợp những thông tin phổ biến nhất trong 4 ca có ghê

Dịch tễ: Phát hiện một ca bệnh là trẻ em nhỏ hơn 12 tháng tuổi và 3 ca bệnh là người lớn.

Triệu chứng lâm sàng của bệnh ghê: thông thường bệnh nhân đến khám có triệu chứng ngứa, rất từ vài ngày đến vài tuần. Sau thời gian ủ bệnh trung bình, bệnh nhân sẽ xuất hiện ngứa nhiều, liên tục và ban đêm ngứa tăng lên. Trên da ở các vị trí như kẽ ngón tay, ngón chân, cổ tay, lòng bàn tay, nếp gấp vùng nách, bẹn, cơ quan sinh dục... thường xuất hiện các tổn thương đỏ, có vảy da.

Trên cơ thể người lớn hiếm gặp các tổn thương da ở vùng kẽ ngón tay, vùng mặt và da đầu trong khi trẻ nhỏ có thể bị ở những vị trí này. Vùng kẽ ngón tay của trẻ có thể thấy các sẩn cục ngứa, mụn nước. Ở trẻ nhỏ dễ dàng phát hiện được ghê, có thể thấy được luống ghê nhưng ở người lớn các tổn thương là sẩn cục ở các vị trí rải rác

trên cơ thể nên khó chẩn đoán.

Trên cơ thể của người lớn sẽ có những biến chứng của ghê như bội nhiễm da và chàm hóa do người bệnh ngứa ngãi tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn gây bệnh, trường hợp nặng có thể nhiễm trùng lan tỏa và toàn thân.

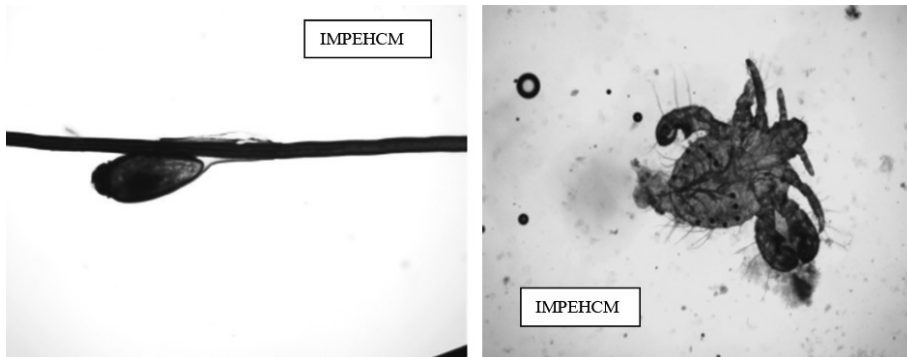
- Rận mu

Thông tin bệnh nhân tìm phát hiện thấy rận mu

Có 2 trường hợp tìm thấy rận mu nguyên nhân dẫn đến khi người đi công tác xa ở trong các nhà nghỉ điều kiện vệ sinh không đảm bảo hoặc quan hệ với người nhiễm bệnh sau đó ngứa vùng kín, đến khám tại Viện và phát hiện rận mu.

Rận mu được phát hiện tình cờ khi bệnh nhân có cảm giác ngứa ngáy ở vùng lông vùng kín, bệnh nhân bắt được con rận mu sau nhiều tuần thấy ngứa.

Hình 4. Hình ảnh rận mu dưới kính hiển vi quang học



4. BÀN LUẬN

Kết quả cho thấy có 861 trường hợp nhiễm bệnh: Có 827 trường hợp nhiễm demodex, chiếm tỷ lệ 65,1% (827/1270), 28 trường hợp nhiễm nấm da, chiếm tỷ lệ 10,1% (28/277), trong đó chủ yếu là nấm sợi (26 ca), số còn lại là nấm men và nhiễm hỗn hợp. Tìm thấy 02 trường hợp có rận mu, chiếm tỷ lệ 25,0% (2/8), 04 trường hợp có cái ghê, chiếm tỷ lệ 9,5% (4/42).

Trong những người tham gia xét nghiệm tìm ký sinh trùng Demodex ta thấy có nhiễm Demodex chiếm tỷ lệ cao 65,1%. Kết quả này cao hơn gấp 2 lần so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Trúc năm 2018, khi nghiên cứu trên 288 bệnh nhân đến khám da mặt tại bệnh viện da liễu Tp. Hồ Chí Minh nhận thấy tỷ lệ nhiễm demodex 29,2%.

Demodex được xét nghiệm trên một lam kính từ 1-4 con chiếm tỷ lệ 32,2%, từ 5-50 con/lam chiếm tỷ lệ 30,7%, từ 51-100 con/lam chiếm tỷ lệ 1,81% và > 100 con/lam chiếm tỷ lệ nhỏ 0,39%. Nữ giới nhiễm nhiều hơn nam giới chiếm tỷ lệ 71,8%, độ tuổi từ 15-59 tỷ lệ nhiễm demodex cao nhất 80,5%. Điều này phù hợp với các nghiên cứu khác.

Trong 277 bệnh nhân được chỉ định làm xét nghiệm soi tìm nấm da ta thấy tỷ lệ nhiễm nấm da chiếm 10,1%. Để chẩn đoán bệnh nấm da bác sĩ thường dựa vào triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm tìm nấm. Tuy nhiên trên thực tế có những trường hợp nhiễm nấm nhưng soi tìm nấm thấy âm tính nên đôi khi bác sĩ điều trị theo hướng nấm mà không dựa trên kết quả xét nghiệm soi da. Nguyên nhân một phần bệnh nhân đã điều trị nhiều nơi, tình trạng nhiễm nấm da không điển hình làm công



tác xét nghiệm gặp nhiều khó khăn.

Kết quả không tìm thấy nấm ở các tổn thương có thể do chẩn đoán lâm sàng chưa chính xác vì nhiều bệnh nhân mắc bệnh đã tự điều trị bằng các loại thuốc tại hiệu thuốc hoặc điều trị theo các phương pháp dân gian không khỏi, bệnh lan tỏa, thương tổn trên da không điển hình gặp khó khăn trong chẩn đoán bệnh.

Nữ giới nhiễm nấm nhiều hơn nam giới chiếm 60,8%, độ tuổi từ 15-59 tuổi có số ca nhiễm nấm nhiều nhất chiếm 64,3%, vì nữ giới đến xét nghiệm tìm nấm nhiều hơn nam nên tỷ lệ nhiễm nấm ở nữ cao hơn nam. Các phân bố tổn thương theo vị trí trên cơ thể chủ yếu là thân mình chiếm 50% số ca xét nghiệm tìm thấy nấm da, đầu cổ chiếm tỷ lệ 21,4%, cánh tay (17,9%). Vị trí tổn thương tương đương với nghiên cứu của bệnh viện Phong- Da liễu Quy Hòa vị trí thân (77,55%).

Trong tất cả các ca xét nghiệm soi tìm cái ghẻ ta tìm thấy cái ghẻ 4 trường hợp nhiễm ghẻ, trong đó có một trường hợp nhiễm ghẻ chỉ mới 11 tháng tuổi. Các bác sỹ sẽ ít nghĩ đến nhiễm cái ghẻ ở lứa tuổi này vì trong điều kiện sinh hoạt, được cải thiện các bé được chăm sóc trong điều kiện tốt nhất nhưng vẫn bị nhiễm cái ghẻ đó là điều bác sỹ dễ bỏ qua. Vì với lứa tuổi này, nhiễm giun sán cũng ít được quan tâm.

Trong 8 trường hợp tìm rận mu ta tìm thấy 2 trường hợp có rận mu, có bằng chứng là trứng, con trưởng thành. Người nhiễm rận mu thường có dịch tể công tác xa và ngủ nghỉ tại các nhà nghỉ không đảm bảo vệ sinh sạch sẽ hoặc bị bạn tình lây qua đường tình dục khi tiếp xúc với người nhiễm bệnh.

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Tuyên truyền rộng rãi về các triệu chứng lâm sàng, yếu

tố liên quan đến nhiễm Demodex trên da mặt kết hợp với viêm da mụn trứng cá do các tác nhân khác.

Nấm da nếu không điều trị triệt để sẽ dẫn đến tình trạng kháng thuốc, các bác sỹ cần thận trọng trong các vấn đề cho thuốc để điều trị tốt tránh tái nhiễm

Rận mu, cái ghẻ tuy chiếm tỷ lệ thấp nhưng luôn ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống, tinh thần của bệnh nhân. Chúng ta cần tuyên truyền rộng rãi việc vệ sinh cá nhân và vệ sinh tập thể tốt để tránh tình trạng lây nhiễm chéo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Đê, Ký sinh trùng trong lâm sàng, Nxb Y học, tr 165 – 166, 2013.
- [2] Trần Xuân Mai, Bộ chỉ rận, Nxb Y học, tr 387 – 390, 2010.
- [3] Trần Thị Kim Dung, Ký Sinh Trùng y học trang 326,327, 2010.
- [4] Lê Thành Đồng, “Các loài chân đốt y học ở khu vực Nam Bộ Lâm Đồng”, trang 192 – 200, 2018.
- [5] Phạm Thị Thu Giang, Kỹ thuật lấy bệnh phẩm và xét nghiệm soi tươi nấm da, <https://www.impehcm.org.vn/noi-dung/kham-benh-giun-san/ky-thuat-lay-benh-pham-va-xet-nghiem-soi-tuoi-nam-da.html>, 2017
- [6] Galiczynski EM, Jr., Elston DM. What's eating you? Pubic lice (Pthirus pubis). *Cutis* 2008;81:109-14.
- [7] https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/scabies/en/ truy cập ngày 09/09/2019.

RATE OF INFECTION WITH HELMINTH PARASITES IN ENVIRONMENT SAMPLES AT VEGETABLE GROWING AREAS IN LAM DONG PROVINCE

Nguyen Huynh To Nhu*, Le Thanh Dong, Do Thi Phuong Linh, Hoang Anh, Ngo Thi Tuyet Thanh

Ho Chi Minh City Institute of malariology, Parasitology and Entomology - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 12/12/2022

Revised 10/01/2023; Accepted 14/02/2023

ABSTRACT

Objectives: To determine the proportion of environment samples infected with helminth parasites at vegetable growing areas in Lam Dong province.

Subject and method: Cross-sectional study from 10/2022 to 12/2022 on environment samples collected at 401 household living in 2 vegetable growing areas (Don Duong and Duc Trong districts).

Results: Analysis results showed that: 52,6% household has atleast 1 sample of soil/water/raw vegetable/animals fecal infected with helminth parasites. The prevalence of helminth parasites vegetable samples 63,1% (193/306) and animals fecal samples 46,7% (77/165). No soil-samples and water-samples infected helminth parasites were found. The difference was statistically significant between helminth parasites infection rate and raise dogs/cats/buffalo/cows, using fertilizers, knowledge and practice in helminth prevention ($p < 0,05$).

Conclusion: The rate of household has environment samples contamination with helminth parasites was 52,6%. It is necessary to improve the practice of raising dogs/ cats/ buffalo/ cows, using vegetable fertilizers, improving knowledge and practice of helminth control among people.

Key words: Raw vegetable, food-borne parasitic infections, parasitic zoonoses, IMPEHCM.

*Corresponding author

Email address: nguyenhuynhtonhu492@gmail.com

Phone number: (+84) 973 814 563



TỶ LỆ NHIỄM MỘT SỐ LOÀI GIUN SÁN PHỔ BIẾN Ở NGOẠI CẢNH TẠI VÙNG TRỒNG RAU TỈNH LÂM ĐỒNG NĂM 2022

Nguyễn Huỳnh Tố Như*, Lê Thành Đồng, Đỗ Thị Phượng Linh, Hoàng Anh,
Ngô Thị Tuyết Thanh

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP.HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 12 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 10 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 14 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ nhiễm một số loài giun sán phổ biến ở ngoại cảnh tại vùng trồng rau tỉnh Lâm Đồng.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả, được thực hiện trên 401 hộ gia đình đang sinh sống tại 2 vùng trồng rau của Lâm Đồng là Đơn Dương và Đức Trọng từ tháng 10/2022 -12/2022

Kết quả nghiên cứu: Kết quả phân tích cho thấy, 52,6% hộ gia đình có ít nhất 1 mẫu đất/nước/rau ăn sống/phân động vật nhiễm giun sán. Tỷ lệ nhiễm giun, sán chung ở mẫu rau ăn sống là 63,1% (193/306), ở mẫu phân động vật là 46,7% (77/165). Chưa tìm thấy giun sán trên mẫu đất và nước. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ nhiễm giun sán ở ngoại cảnh với thực hành nuôi chó mèo, nuôi gia súc, sử dụng phân để bón rau, kiến thức và thực hành phòng chống giun sán với $p < 0,05$.

Kết luận: Tỷ lệ ngoại cảnh nhiễm một số loài giun sán phổ biến cao: 52,6%. Cần cải thiện thực hành nuôi chó mèo, nuôi gia súc, sử dụng phân bón rau, nâng cao kiến thức và thực hành phòng chống giun sán ở người dân.

Từ khóa: Rau sống, bệnh giun sán truyền qua thực phẩm, bệnh giun sán truyền từ động vật sang người, IMPEHCM.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, năm 2020 ước tính có hơn 1,5 tỉ người, tương đương 24% dân số thế giới, bị nhiễm giun, sán truyền qua đất, đặc biệt là các vùng Cận sa mạc Sahara, châu Mỹ, Trung Quốc và Đông Á. Phần lớn là do giun đũa, giun lươn, giun tóc và giun móc/mỏ.

Theo điều tra của các Viện Sốt rét - KST - CT và các tỉnh, thành năm 2013-2017, tỉ lệ nhiễm giun trên cả

nước ở mức cao. Tỷ lệ nhiễm chung các loại giun ở vùng Tây Nguyên khoảng 28%, Đông Nam Bộ 13% và Đồng bằng sông Cửu Long 10%.

Một trong những yếu tố làm lây nhiễm ký sinh trùng trên thực phẩm là tập quán, phương thức canh tác, mà đất và nước trồng rau là một trong những nhân tố quan trọng.

Nghiên cứu về tỉ lệ nhiễm giun, sán trên người đã được thực hiện rất nhiều, tuy nhiên các nghiên cứu trên môi

*Tác giả liên hệ

Email: nguyenhuyntonhu492@gmail.com

Điện thoại: (+84) 973 814 563

trường ngoại cảnh vẫn còn rất ít. Tại những vùng canh tác nông nghiệp, người làm nông thường xuyên phải tiếp xúc với đất, nước bẩn trong lúc canh tác. Nguy cơ nhiễm bệnh nếu môi trường ngoại cảnh bị ô nhiễm mầm bệnh giun sán là rất cao.

Nhờ điều kiện tự nhiên thuận lợi, từ lâu, tỉnh Lâm Đồng đã hình thành vùng chuyên canh rau nổi tiếng, là vựa rau lớn của cả nước, cung cấp rau đi khắp nơi. Người dân tại vùng chuyên canh rau màu của tỉnh đa số sinh sống bằng nghề trồng rau, hoa màu. Tuy nhiên tại đây vẫn chưa có nghiên cứu nào khảo sát tình hình nhiễm giun, sán trên môi trường.

Nhằm tìm hiểu tỉ lệ nhiễm các loài giun, sán phổ biến trên môi trường và các yếu tố liên quan, để có các biện pháp can thiệp phù hợp nhằm giảm nguy cơ lây bệnh giun, sán cho con người từ môi trường, nâng cao kiến thức và thực hành đúng cho người dân, đồng thời cung cấp thông tin cho địa phương đặc biệt là các nhà hoạch định chính sách y tế trong chiến lược vệ sinh môi trường phòng chống bệnh giun sán, nâng cao sức khỏe cộng đồng, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu: “Tỉ lệ nhiễm một số loài giun sán phổ biến ở ngoại cảnh và các yếu tố liên quan tại vùng trồng rau tỉnh Lâm Đồng năm 2022”.

Mục tiêu: Xác định tỉ lệ nhiễm một số loài giun sán phổ biến ở ngoại cảnh năm 2022 và các yếu tố liên quan ảnh hưởng đến tỉ lệ nhiễm giun sán ở ngoại cảnh tại vùng trồng rau tỉnh Lâm Đồng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian: Tháng 10/2022-12/2022

Địa điểm: Vùng trồng rau của tỉnh Lâm Đồng chủ yếu tập trung ở TP. Đà Lạt và các huyện Đơn Dương, Lạc Dương, Đức Trọng và Lâm Hà. Năm vùng trên có vị trí địa lý gần nhau, các điều kiện tự nhiên như nhiệt độ, khí hậu, đất đai cũng tương tự. Với các yếu tố đồng nhất của vùng trồng rau chúng tôi đã chọn 2 trong 5 vùng trên để tiến hành khảo sát. Hai vùng được chọn là Đơn Dương và Đức Trọng.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Môi trường ngoại cảnh (đất, nước, rau, phân chó/mèo/trâu/bò) tại vùng trồng rau tỉnh Lâm Đồng
- Người dân đang sinh sống tại vùng trồng rau tỉnh

Lâm Đồng

2.3. Chọn mẫu

Cỡ mẫu

Theo kinh nghiệm một số nghiên cứu trước đây và tham khảo Quyết định 1744/QĐ-BYT ngày 30/03/2021 của Bộ Y tế Hướng dẫn giám sát và phòng chống bệnh ký sinh trùng thường gặp tại Việt Nam, chúng tôi chủ động chọn 200 hộ gia đình/huyện để tiến hành phỏng vấn người trồng rau và thu thập mẫu đất, nước, rau ăn sống và phân chó/mèo/trâu/bò để xét nghiệm. Thực tế đã khảo sát trên tổng cộng 401 hộ gia đình trồng rau.

Tiêu chí đưa vào:

- Chủ hộ/người có tham gia trồng trọt, chăn nuôi, độ tuổi từ 18-75 tuổi, đang sinh sống tại địa điểm nghiên cứu. Đồng ý tham gia nghiên cứu.
- Đất: lối đi, quanh nhà vệ sinh, quanh chuồng gia súc, tại vườn rau.
- Nước: nước sinh hoạt, nước tưới tiêu.
- Rau: rau ăn sống.

- Phân chó/mèo/trâu/bò: thu thập trong khuôn viên nhà, sân vườn, ưu tiên mẫu phân mới. Nếu chưa lấy được ngay thì gửi lọ mẫu và hướng dẫn người dân thu thập.

Tiêu chí loại ra:

- Người tàn tật, mắc các bệnh lý khó khăn trong giao tiếp.
- Rau: rau còn nhỏ chưa hái được.
- Phân chó/mèo/trâu/bò: vẫn không thu được sau 2 ngày gửi lọ.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang mô tả: phỏng vấn đại diện hộ gia đình và thu thập mẫu đất, nước, rau, phân động vật.

Phân tích trong phòng thí nghiệm: Xét nghiệm đất, nước, rau, phân chó/mèo/trâu/bò tìm trứng, AT giun, sán.

2.5. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

- Kỹ thuật xét nghiệm:
 - XN đất: phương pháp Đặng Văn Ngữ.
 - XN nước: phương pháp ly tâm, lắng cặn.
 - XN rau: phương pháp Đặng Văn Ngữ.
 - XN phân động vật: phương pháp làm nổi Willis.



Mẫu được thu thập và xét nghiệm bởi nhân viên Khoa Ký sinh trùng, Viện Sốt rét - KST - CT TP.HCM.

- Kỹ thuật phỏng vấn: phỏng vấn trực tiếp bằng bộ câu hỏi soạn sẵn.

2.6. Xử lý số liệu

Số liệu sau khi làm sạch sẽ được mã hóa, nhập liệu và xử lý bằng phần mềm Stata 14.2.

Sử dụng kiểm định Chi bình phương để xác định mối liên quan giữa nhiễm giun sán trên ngoại cảnh và các yếu tố về kiến thức, thực hành phòng chống giun sán với mức ý nghĩa 5%. Nếu trên 20% các giá trị vọng trị <5 hoặc có giá trị vọng trị <1 thì sử dụng phép kiểm chính xác Fisher.

Tính tỉ số tỉ lệ hiện mắc PR với khoảng tin cậy 95% để lượng giá mối liên quan. Phép kiểm định được xem là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$ và khoảng tin cậy 95% không chứa giá trị 1.

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành khi các đối tượng tự nguyện đồng ý và đã được giải thích rõ về vấn đề đang nghiên

cứu. Đối tượng tham gia không chịu bất cứ tổn hại nào, dữ liệu thu thập được bảo mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

Nghiên cứu hoàn toàn tôn trọng các phong tục tập quán ở địa phương, nghiên cứu viên hoàn toàn tuân thủ các quy định tại địa phương.

Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin hữu ích để y tế địa phương có thể xây dựng các hoạt động vệ sinh môi trường phòng chống giun sán.

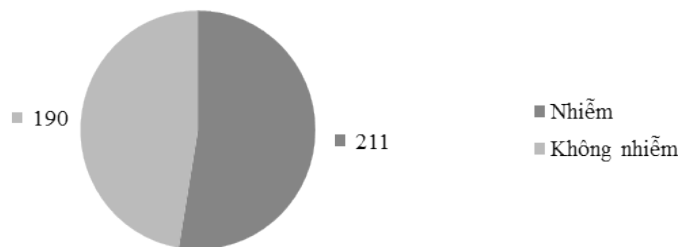
Nghiên cứu đã được chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Đại học Y Dược TP.HCM

3. KẾT QUẢ

Nghiên cứu đã tiến hành thu thập, xét nghiệm 401 mẫu đất, 401 mẫu nước, 306 mẫu rau ăn sống, 165 mẫu phân động vật, phỏng vấn 401 người sinh sống tại vùng trồng rau huyện Đơn Dương và huyện Đức Trọng. Kết quả như sau:

3.1. Tỷ lệ nhiễm một số loài giun sán phổ biến ở ngoại cảnh

Biểu đồ 1: Hộ gia đình có ngoại cảnh nhiễm giun, sán (n=401)



Hơn một nửa số hộ gia đình (52,6%) có ít nhất 1 mẫu đất/nước/rau ăn sống/phân động vật nhiễm giun sán.

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm một số loài giun, sán phổ biến ở ngoại cảnh

Các loại giun sán	Mẫu đất (n=401)	Mẫu nước (n=401)	Mẫu rau (n=306)	Mẫu phân chó (n=137)	Mẫu phân bò (n=28)
AT giun móc/mỏ			193 (63,1%)		
Trứng giun móc/mỏ				60 (43,8%)	14 (50,0%)
Trứng giun tóc				1 (0,7%)	
Trứng giun đũa chó mèo				1 (0,7%)	
Trứng sán lá					2 (7,1%)
Nhiễm chung	-	-	193 (63,1%)	62 (45,3%)	15 (53,6%)

Chưa ghi nhận mẫu đất, nước nhiễm trứng/AT giun sán. Có 193 mẫu rau ăn sống nhiễm AT giun móc/mỏ chiếm 63,1%.

Trong 137 mẫu phân chó, có 62 mẫu nhiễm trứng/AT giun chiếm 45,3%, cao nhất là trứng giun móc/mỏ (43,8%), trứng giun tóc và giun đũa chó mèo chiếm 0,7%. Tỷ lệ nhiễm giun sán trong mẫu phân trâu bò là

53,6% (trứng giun móc/mỏ 50,0%, trứng sán lá 7,1%).

3.2. Các yếu tố liên quan đến nhiễm giun, sán

Rau ăn sống trồng tại hộ gia đình có phân vật nuôi nhiễm giun sán có tỷ lệ nhiễm cao gấp 3,19 lần. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$, KTC 95% 1,61-6,27)

Bảng 2. Các yếu tố liên quan đến nhiễm giun, sán ở ngoại cảnh (n=401)

Nội dung		Ngoại cảnh nhiễm giun sán		P	PR (KTC 95%)
		Có n (%)	Không n (%)		
Kiến thức chung	Chưa đạt	189 (57,1)	142 (42,9)	<0,001	1,82 (1,27-2,60)
	Đạt	22 (31,4)	48 (68,6)		
Sử dụng phân bón để bón rau	Chưa đúng	46 (65,7)	24 (34,3)	0,016	1,32 (1,08-1,61)
	Đúng	165 (49,9)	166 (50,1)		
Nuôi chó mèo	Chưa đúng	99 (74,4)	34 (25,6)	<0,001	1,78 (1,50-2,12)
	Đúng	112 (41,8)	156 (58,2)		
Nuôi gia súc	Chưa đúng	24 (88,9)	3 (11,1)	<0,001	1,78 (1,50-2,10)
	Đúng	187 (50,0)	187 (50,0)		
Thực hành chung	Chưa đúng	29 (93,6)	2 (6,4)	<0,001	1,90 (1,66-2,19)
	Đúng	182 (49,2)	188 (50,8)		

Người dân có kiến thức chung chưa đạt thì môi trường ngoại cảnh có tỷ lệ nhiễm giun sán chung cao hơn với PR = 1,82 (KTC 95% = 1,27-2,60), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Tỷ lệ nhiễm giun sán ở ngoại cảnh ở người dân thực hành chung chưa đúng cao hơn 1,90 lần (KTC 95% = 1,66-2,19) so với nhóm còn lại, khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Các yếu tố thực hành chưa đúng như: nuôi chó mèo (PR=1,78), nuôi gia súc (PR=1,78), sử dụng phân để bón rau (PR=1,32) đều ghi nhận có liên quan đến tình trạng nhiễm giun, sán ở ngoại cảnh ($p < 0,05$)

4. BÀN LUẬN

Các mẫu đất tại hộ gia đình tham gia vào nghiên cứu đều chưa phát hiện nhiễm giun sán. Kết quả này không tương đồng với tác giả Nguyễn Văn Chương (2013), tỷ lệ nhiễm trứng giun đũa chó trên đất ở Bình Định

20%-25%, Đắk Lắk 36,7%-38,3%. So với các nghiên cứu trước đây của Viện Sốt rét – KST – CT TP.HCM nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với năm 2015 và không tương đồng với năm 2012, 2017. Năm 2012, các mẫu đất thu thập tại lối đi và gần nhà vệ sinh ở các tỉnh khu vực biên giới Việt Nam – Campuchia nhiễm giun móc với tỷ lệ 1,5%; lưu hành ở tỉnh An Giang, Tây Ninh, Đồng Tháp. Năm 2015, tại Cà Mau, Tây Ninh, Bà Rịa – Vũng Tàu chưa phát hiện trứng, AT giun sán trong đất. Năm 2017, nghiên cứu của Lê Thành Đồng và cộng sự ở khu vực Nam bộ - Lâm Đồng phát hiện giun đũa, giun móc, sán dây với tỷ lệ nhiễm chung là 4,76% tại các tỉnh Tiền Giang, Đồng Nai, Lâm Đồng. Trong đó Lâm Đồng có 4,76% mẫu đất nhiễm giun móc/mỏ.

Chưa tìm thấy giun sán trên mẫu nước sinh hoạt, nước tưới rau. Khi so sánh với các nghiên cứu của Viện Sốt rét – KST – CT TP. HCM năm 2015 và 2017, kết quả của chúng tôi có sự tương đồng. Tuy nhiên, có sự khác biệt khi so sánh với điều tra năm 2012 tại 6 tỉnh khu vực

biên giới Việt Nam – Campuchia, 600 mẫu nước được xét nghiệm đã phát hiện thấy giun móc với tỉ lệ là 1,3% ở An Giang.

Có thể thấy tình hình nhiễm giun, sán trên đất và nước giảm mạnh qua các năm và các kết quả điều tra gần đây tỉ lệ chỉ còn rất thấp hoặc không có.

Rau sống được coi là một phần quan trọng của chế độ ăn uống lành mạnh, nhưng chúng có thể là tác nhân lây truyền trứng/AT giun sán. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mẫu rau nhiễm giun sán với tỉ lệ đáng kể (63,1%). Tỉ lệ này tương đương với một số nghiên cứu ở vùng khác như Hà Nội và Buôn Ma Thuột năm 2010 từ 62,7% đến 64,7%. Ngoài ra cũng tương tự với một số nghiên cứu gần đây như: Nghiên cứu của Huỳnh Ngọc Thảo (2017) tại vườn rau xã Hiệp Thành TP. Bạc Liêu, tỉ lệ rau sống nhiễm giun sán là 57,8%. Bên cạnh đó, có sự không tương đồng khi so sánh với các nghiên cứu thời gian trước của Viện Sốt rét – KST – CT TP.HCM tại các tỉnh khác ở Nam Bộ - Lâm, điều tra năm 2012 (81,8%) có tỉ lệ nhiễm cao hơn, trong khi điều tra năm 2017 (32,81%) và năm 2015 (18,3%) lại thấp hơn.

Tỉ lệ nhiễm giun móc/mỏ trên mẫu phân chó trong nghiên cứu này là 43,8%, ngoài ra còn có 0,7% nhiễm giun tóc và 0,7% nhiễm giun đũa chó, mèo. Thấp hơn so với tỉ lệ nhiễm giun truyền qua đất chung ở các tỉnh Nam bộ - Lâm Đồng năm 2017 (3,75%), trong đó Lâm Đồng có tỉ lệ nhiễm lên đến 75%.

Một điều bất ngờ là tất cả các mẫu đất và nước đều chưa tìm thấy trứng/AT giun, sán mặc dù tỉ lệ nhiễm trên rau ăn sống và động vật khá cao. Có thể lý giải do: Một là đất, nước có nhiễm giun, sán nhưng cường độ nhiễm quá thấp nên phương pháp xét nghiệm hiện tại chưa phát hiện được; Hai là mầm bệnh giun sán phát tán từ phân động vật phần lớn bò lên rau trước khi bị phát hiện ở đất. Vì đa số các mầm bệnh giun sán phát hiện ở rau là AT giun móc/mỏ. Được biết, trứng giun móc/mỏ ở ngoại cảnh gặp nhiệt độ thích hợp (25°C-35°C) sau 1 ngày sẽ phát triển thành AT. Đặc điểm của AT giun móc/giun mỏ là rất hoạt động và có hướng động: hướng lên cao, hướng tới nơi có độ ẩm cao và hướng tới vật chủ.

Có thể thấy tình trạng ô nhiễm giun sán ở ngoại cảnh tại Lâm Đồng ngày càng được cải thiện. Mặt khác, do tình hình thực hiện xây dựng nông thôn mới, vệ sinh môi trường tốt làm giảm khả năng phát triển và phát tán mầm bệnh giun, sán vào ngoại cảnh.

5. KẾT LUẬN

Qua khảo sát 401 hộ gia đình, ghi nhận 52,6% hộ gia đình có ít nhất 1 mẫu đất/nước/rau ăn sống/phân động vật nhiễm giun sán. Chưa ghi nhận được trứng/AT giun, sán trong đất và nước. Riêng mẫu rau, có 193 mẫu nhiễm AT giun móc/mỏ (63,1%). Có 62 mẫu phân chó mèo nhiễm trứng/AT giun (45,3%). Tỉ lệ nhiễm giun, sán chung trong mẫu phân bò là 53,6. Đa số là đơn nhiễm 1 loại giun/sán.

Hộ gia đình có phân vật nuôi nhiễm giun sán thì rau ăn sống trồng tại đây có tỉ lệ nhiễm giun sán cao gấp 3,19 lần so với hộ gia đình không có phân vật nuôi nhiễm giun, sán. Người dân có kiến thức chung chưa đạt có tỉ lệ nhiễm giun, sán chung trên môi trường ngoại cảnh cao hơn so với nhóm đạt với PR =1,82.

Các yếu tố thực hành chưa đúng như: nuôi chó mèo, nuôi gia súc, sử dụng phân để bón rau chưa đúng đều ghi nhận có mối liên quan đến tình trạng nhiễm giun, sán ở ngoại cảnh. Tỉ lệ nhiễm giun, sán ở ngoại cảnh của nhóm người dân thực hành chung chưa đúng cao hơn 1,90 lần so với nhóm còn lại.

6. KIẾN NGHỊ

- Rửa kỹ rau ăn sống với nhiều nước hoặc rửa dưới vòi nước đang chảy trước khi ăn.
- Tẩy xổ giun định kỳ, có biện pháp xử lý phân, nước thải cho vật nuôi.
- Tăng cường truyền thông cho người dân trồng rau về tác hại của bệnh giun sán, các đường lây truyền và cách phòng chống.
- Các nghiên cứu tiếp theo nên sử dụng thêm các phương pháp xét nghiệm sinh học phân tử để phân biệt các loài giun, sán có hình thái tương tự nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế, Quyết định 6437/QĐ-BYT Hướng dẫn tẩy giun đường ruột tại cộng đồng (2018).
- [2] Nguyễn Văn Chương và cs, Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học bệnh AT giun đũa chó, mèo ở người tại Bình Định và Đắk Lắk 2013. Tạp chí Phòng chống sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, Viện sốt rét - KST- CT trung ương. 2014;2: tr. 83 - 90.

- [3] Lê Thành Đồng và cs, Tỷ lệ, cường độ nhiễm một số loài giun truyền qua đất ở khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng. Kỷ yếu Hội nghị Ký sinh trùng toàn quốc lần thứ 46. 2019:119-126. Nhà xuất bản Học viện Nông nghiệp.
- [4] Lê Thành Đồng và cs, Thực trạng nhiễm giun, sán ở một số cộng đồng dân cư khu vực biên giới Việt Nam - Campuchia năm 2012. Y học Thành phố Hồ Chí Minh, Chuyên đề Y tế Công cộng. 2014;(số 6)(phụ bản tập 18):tr. 315 - 320.
- [5] Nguyễn Khắc Lực và cs, Xác định tình trạng nhiễm mầm bệnh ký sinh trùng trên rau quả trồng ở ngoại thành Hà Nội. Tạp chí phòng chống sốt rét và các bệnh ký sinh trùng. 2010;(1):tr. 65 - 70. Viện Sốt rét – KST – CT trung ương.
- [6] Thân Trọng Quang, Thực trạng ký sinh trùng đường ruột trên rau ăn sống các chợ thành phố Buôn Ma Thuột. Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học Viện Sốt rét - KST - Côn Trùng TP Hồ Chí Minh 2012:tr. 335 - 342.
- [7] Huỳnh Ngọc Thảo, Tỷ lệ sản phẩm rau sống nhiễm ký sinh trùng ở người trồng rau tại vườn rau xã Hiệp Thành, thành phố Bạc Liêu năm 2017. Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh; 2017.
- [8] Hà Thị Thuận và cs, Đánh giá thực trạng nhiễm giun, sán tại các tỉnh Cà Mau, Tây Ninh và Bà Rịa - Vũng Tàu 2015.
- [9] Strunz EC et al., Water, sanitation, hygiene, and soil-transmitted helminth infection: a systematic review and meta-analysis. PLoS medicine. Mar 2014;11(3):e1001620. doi:10.1371/journal.pmed.1001620.



CLONING AND EXPRESSION OF A RECOMBINANT PROTEIN OF *TOXOCARA CANIS*

Dang Trinh Minh Anh*, Nguyen Thi Van Anh, Pham Nguyen Thuy Vy, Nguyen Thi Minh Chau, Tran Minh Qui, Tran Thi Khanh Quynh, Ngo Thi Hong Phuong, Nguyen Thi My Duyen, Nguyen Ho Quynh Ngan, Vo Huynh Minh Hien, Doan Binh Minh, Le Thanh Dong

Ho Chi Minh City Institute of malariology, Parasitology and Entomology - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 09/12/2022

Revised 13/01/2023; Accepted 10/02/2023

ABSTRACT

Background: Human toxocariasis is a worldwide disease and it is caused by zoonotic roundworm species *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. Diagnosis of human toxocariasis is based on the combination of clinical, epidemiological criteria, as well as serology tests that detect anti-*Toxocara* antibodies. Notwithstanding, serology is the key evidence to support a conclusive diagnosis. TES-ELISA is the most widely used serological test for diagnosis. However, insufficiency of sources and cross-reaction of TES antigens with antibodies produced to other helminth antigens are major drawbacks for its application. Therefore, *T. canis* recombinant antigens have been described as an alternative to native TES for diagnosis.

Objective: The aim is to clone and express the recombinant protein TES120 of *Toxocara canis* to produce an actively source of antigen and to apply to ELISA.

Results: *T. canis* TES120 gene was isolated from *T. canis* adult worms (collected in Institute of Malariology, Parasitology and Entomology in Ho Chi Minh City) and expressed in *E. coli* expression system. TES120 gene had the size of 501 bp and was successfully inserted to pET28a. Then, plasmid pET28a-TES120 was transformed into *E. coli* BL21. Finally, TES120 recombinant protein was expressed at 37°C in 6h and had the size of 21 kDa.

Conclusion: TES120 recombinant protein will be used as an antigen to develop ELISA test for toxocariasis.

Keywords: TES120; Toxocariasis; Recombinant protein; IMPEHCM.

*Corresponding author

Email address: dangminhanh2484@gmail.com

Phone number: (+84) 984 532 534

TẠO DÒNG VÀ SẢN XUẤT PROTEIN TÁI TỔ HỢP CỦA *TOXOCARA CANIS*

Đặng Trịnh Minh Anh*, Nguyễn Thị Vân Anh, Phạm Nguyễn Thúy Vy,
Nguyễn Thị Minh Châu, Trần Minh Quý, Trần Thị Khánh Quỳnh, Ngô Thị Hồng Phương,
Nguyễn Thị Mỹ Duyên, Nguyễn Hồ Quỳnh Ngân, Võ Huỳnh Minh Hiền, Đoàn Bình Minh,
Lê Thành Đồng

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 09 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 13 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 10 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh Toxocariasis là một bệnh giun sán phổ biến lây truyền từ động vật sang người do các loài giun tròn *Toxocara canis* and *Toxocara cati* gây ra. Để chẩn đoán bệnh Toxocariasis chủ yếu dựa vào triệu chứng lâm sàng, các yếu tố dịch tễ và huyết thanh học tìm kháng thể kháng *Toxocara*. Trong đó kết quả huyết thanh học của kỹ thuật ELISA được sử dụng chủ yếu để đưa ra kết luận chẩn đoán. Tuy nhiên kỹ thuật ELISA sử dụng nguồn kháng nguyên tiết mặc dù có độ nhạy cao nhưng bị hạn chế nguồn cung kháng nguyên và phản ứng chéo với kháng nguyên của các loài giun khác. Do đó để chủ động trong việc tạo ra nguồn kháng nguyên ổn định, có độ đặc hiệu cao sử dụng cho kỹ thuật ELISA thì protein tái tổ hợp là một lựa chọn thay thế.

Mục tiêu: Tạo dòng và biểu hiện protein tái tổ hợp TES120 của *Toxocara canis* để tạo nguồn kháng nguyên chủ động và ứng dụng vào kỹ thuật ELISA

Kết quả nghiên cứu: Đoạn gen mã hoá TES120 của *Toxocara canis* đã được phân lập từ mẫu *T. canis* trưởng thành thu thập tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. HCM và biểu hiện trên hệ thống vi khuẩn *E. coli*. Đoạn gen TES120 có kích thước 501 bp được khuếch đại sau đó ghép nối vào vector pET28a+ và được biến nạp vào tế bào vi khuẩn *E. coli* BL21 để biểu hiện protein. Protein tái tổ hợp TES120 được biểu hiện ở 37°C trong 6 tiếng, có kích thước khoảng 21 kDa.

Kết luận: Protein tái tổ hợp TES120 sẽ được sử dụng làm kháng nguyên cho việc phát triển test ELISA chẩn đoán bệnh giun đũa chó/mèo.

Từ khóa: TES120; Bệnh giun đũa chó/mèo; Protein tái tổ hợp; IMPEHCM.

*Tác giả liên hệ

Email: dangminhanh2484@gmail.com

Điện thoại: (+84) 984 532 534



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Toxocariasis là bệnh phổ biến lây truyền từ động vật sang người do *Toxocara canis* hoặc *Toxocara cati* gây ra (1). Tỷ lệ huyết thanh dương tính với *Toxocara* cao nhất ở các nước đang phát triển có điều kiện vệ sinh kém. Ở Châu Á và Nam Mỹ có đến 45-75% trẻ em ở vùng nông thôn có huyết thanh dương tính với *Toxocara* (2-6). Ở Châu Âu có tỷ lệ huyết thanh dương tính với *Toxocara* từ 2-5% ở thành thị, 15-20% ở vùng ngoại thành và 35-42% ở vùng nông thôn (7).

Người là ký chủ ngẫu nhiên, nhiễm do nuốt trứng có phôi của giun đũa chó/mèo. Ấu trùng thoát vỏ khỏi trứng, xâm nhập thành ruột và được chuyên chở theo đường máu đến gan, phổi và những cơ quan khác. Ở những cơ quan này, ấu trùng di chuyển hàng tuần hay hàng tháng hoặc nằm im, thành những vật lạ gây viêm và kích thích tạo ra u hạt thâm nhiễm bạch cầu ái toan. Sự tồn tại của ấu trùng và chất tiết của chúng trong cơ thể người sẽ gây tổn thương thành mạch, mô mềm, hoại tử và xuất huyết. thể người sẽ đáp ứng lại bằng cách tạo ra phản ứng miễn dịch học và các phản ứng bệnh lý. Mức độ bệnh không chỉ phụ thuộc vào số lượng ấu trùng nhiễm vào cơ thể mà còn phụ thuộc vào mức độ các phản ứng dị ứng. Kết quả các biểu hiện bệnh lý trên lâm sàng là từ sự viêm nhiễm gây ra bởi các phản ứng miễn dịch trực tiếp chống lại các kháng nguyên bài tiết của ấu trùng (9).

Chẩn đoán bệnh giun đũa chó dựa vào lấy sinh thiết nhưng phương pháp này khó thực hiện và tốn thời gian. Do đó việc chẩn đoán hiện nay chủ yếu dựa vào việc chẩn đoán huyết thanh và triệu trứng lâm sàng. Chẩn đoán huyết thanh sử dụng kháng nguyên tiết thô từ ấu trùng mặc dù có độ nhạy cao nhưng thường tốn thời gian, không thể sản xuất số lượng lớn kháng nguyên và độ đặc hiệu thường thấp do phản ứng chéo với các loại giun truyền qua đất khác (7, 10, 11).

Sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp trong việc phát triển các xét nghiệm sẽ làm tăng độ nhạy và độ đặc hiệu so với các kháng nguyên thô. Do đó trong nghiên cứu này chúng tôi “Tạo dòng và sản xuất protein tái tổ hợp của *Toxocara canis*” để bước đầu chủ động trong việc sản xuất kháng nguyên tái tổ hợp từ đó có thể ứng dụng trong chuẩn đoán huyết thanh học giúp tăng độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Toxocara canis trưởng thành, cDNA của *Toxocara canis*, chủng vi khuẩn *E. coli* (DH5 α) và (BL21)

Vector biểu hiện pET28a và hóa chất sử dụng từ các hãng Novagen, Bioline, Invitrogen...

Các cặp mồi sử dụng do Công ty Phù Sa (Việt Nam) tổng hợp.

Bảng 1. Trình tự primer sử dụng khuếch đại đoạn gen TES120

Primer	Trình tự (5'–3')	Chiều dài	Tm
TES120 - BamHI - F	cGGATCCATGATGTCCAGTTC	21	56.7°C
TES120 - XhoI - R	cgCTCGAGTTACAGAAGCCGC	21	58.3°C

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phân tích đặc điểm kháng nguyên của gen TES120

Đặc điểm kháng nguyên của protein TES120 được phân tích bằng phần mềm SignalP 6.0, DeepTMHMM.

2.2.2. Tách chiết RNA tổng số từ mẫu mô

Mẫu mô được thu từ giun trưởng thành *Toxocara canis* được bảo quản đông lạnh ở -80°C cho đến khi tiến hành tách chiết RNA. RNA tổng số được tách chiết sử dụng

Trizol/Chloroform.

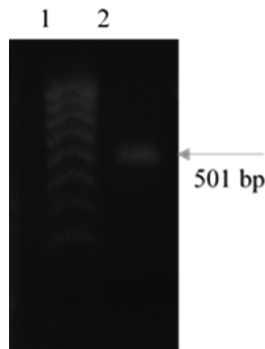
2.2.3. Tạo thư viện cDNA

Mẫu RNA tổng số được sử dụng để tạo thư viện cDNA bằng bộ kit ProtoScript® II First Strand cDNA Synthesis. Thư viện cDNA được bảo quản đông lạnh -80°C đến khi tiến hành thí nghiệm.

2.2.4. Khuếch đại đoạn gen TES120

Đoạn gen TES120 được khuếch đại từ thư viện cDNA của *Toxocara canis* với cặp mồi đặc hiệu với chu kỳ

Hình 2: Kết quả khuếch đại đoạn gen mục tiêu TES120



Giếng 1: Thang 100bp;

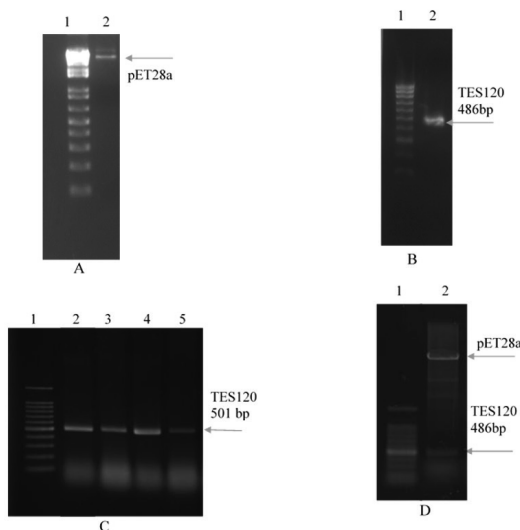
Giếng 2: Sản phẩm khuếch đại của TES120

3.3. Tạo plasmid tái tổ hợp pET28a-TES120

Tiến hành xử lý đồng thời đoạn gen mục tiêu TES120 và vector pET28a bằng 2 enzyme *Bam*HI và *Xho*I và sản phẩm là băng điện di của TES120 khoảng 486 bp (Hình 3 A) và của vector pET28a là khoảng 5,3 kb (Hình 3 B). Sản phẩm điện di được cắt gel và tinh sạch bằng bộ kit Qiaquick gel extraction, sản phẩm sau tinh sạch sẽ được sử dụng cho phản ứng nối. Phản ứng nối đoạn gen TES120 vào vector pET28a được tiến hành bằng enzyme T4 DNA ligase sau đó biến nạp vào tế bào khả nạp *E. coli* DH5 α , cấy trải trên đĩa thạch LB agar có bổ sung kháng sinh kanamycin (50 μ g/ml) và nuôi qua đêm ở 37 $^{\circ}$ C.

Các khuẩn lạc xuất hiện trên môi trường chọn lọc được sàng lọc lại bằng cặp môi TES120 – *Bam*HI – F và TES120 – *Xho*I – R. Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy các khuẩn lạc được chọn đều cho băng DNA có kích thước khoảng 501 bp (Hình 3 C), đúng với kích thước lý thuyết. Phản ứng cắt plasmide pET28a-TES120 bằng 2 enzyme *Bam*HI và *Xho*I thu được 2 băng DNA trong đó 1 băng có kích thước khoảng 5,3kb (vector pET28a) và 1 băng có kích thước khoảng 486 bp (TES120) (Hình 3 D). Kết quả thu được chứng tỏ đã nhân dòng thành công đoạn gen TES120 vào vector pET28a.

Hình 3. Kết quả cắt bằng enzyme cắt giới hạn *Bam*HI và *Xho*I của pET28a, TES120 trước khi nối và plasmid pET28a-TES120 sau khi nối thành công



A. Kết quả điện di sản phẩm của vector pET28a sau khi cắt bằng bằng 2 enzyme *Bam*HI và *Xho*I. Giếng 1: thang 1kb; Giếng 2: pET28a sau cắt bằng enzyme cắt giới hạn.

B. Kết quả điện di sản phẩm của TES120 sau khi cắt bằng bằng 2 enzyme *Bam*HI và *Xho*I. Giếng 1: thang 100bp; Giếng 2: TES120 sau cắt bằng enzyme cắt giới hạn.

C. Kết quả PCR chọn lọc khuẩn lạc mang plasmid pET28a-TES120 sau khi nối. Giếng 1: thang 100bp; Giếng 2,3,4,5: các khuẩn lạc mang plasmid pET28a-TES120.

D. Kết quả cắt plasmid pET28a-TES120 bằng 2 enzyme *Bam*HI và *Xho*I. Giếng 1: thang 100bp; Giếng 2: plasmid pET28a-TES120 sau khi cắt.

3.4. Kết quả biểu hiện protein

Vector pET28a mang đoạn gen TES120 (plasmid pET28a-TES120) được biến nạp lại vào tế bào vi khuẩn *E. coli* BL21 để biểu hiện protein. Các khuẩn

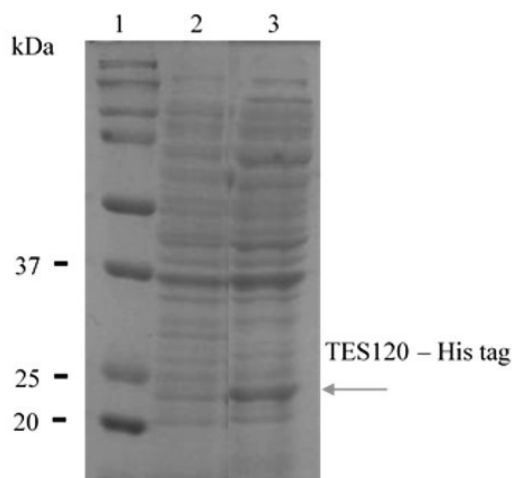
lạc mọc trên môi trường LB agar có bổ sung kháng sinh kanamycin được kiểm tra lại bằng phản ứng PCR khuẩn lạc với cặp môi TES120 – *Bam*HI – F và TES120 – *Xho*I – R. Chọn khuẩn lạc dương nuôi để

biểu hiện protein TES120 tái tổ hợp trong môi trường LB lỏng bổ sung kháng sinh kanamycin, cảm ứng bởi 1mM isopropyl-thio- β -D-galactoside (IPTG) ở điều kiện 37°C trong 6h. Dịch chiết tế bào được thu trước và sau khi sử dụng cảm ứng IPTG để kiểm tra bằng điện di

protein SDS-PAGE.

Phân tích kết quả SDS – PAGE của protein tái tổ hợp TES120 của *T. canis* cho thấy băng mục tiêu là khoảng 21 kDa (Hình 4). Kích thước băng mục tiêu là kích thước của protein mục tiêu TES120 và đoạn his-tag.

Hình 4. Kết quả SDS-PAGE biểu hiện protein tái tổ hợp TES120



Giếng 1: Thang;

Giếng 2: Dịch chiết tế bào trước khi cho cảm ứng IPTG;

Giếng 3: Sau khi cho cảm ứng IPTG 6h.

4. KẾT LUẬN

Đoạn gen TES120 chứa vùng mã hóa protein tái tổ hợp TES120 đã được khuếch đại thành công từ thư viện cDNA của *Toxocara canis* và tách dòng vào vector pET28a để biểu hiện trên hệ thống vi khuẩn.

Protein tái tổ hợp TES120 đã được biểu hiện thành công trong chủng vi khuẩn *E. coli* BL21 ở 37°C trong 6 tiếng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Rubinsky-Elefant G, Hirata CE, Yamamoto JH et al., Human toxocariasis: diagnosis, worldwide seroprevalences and clinical expression of the systemic and ocular forms. *Ann Trop Med Parasitol.* 2010;104:3–23.
- [2] Hayashi E, Tuda J, Imada M et al., High prevalence of asymptomatic *Toxocara* infection among school children in Manado, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2005;36:1399–1406.
- [3] FanCK, HungCC, DuWY et al., Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal school children living in contaminated districts in eastern Taiwan. *Trop Med Int Health.* 2004;9:1312–1318.
- [4] Baboolal S, Rawlins SC, Seroprevalence of toxocariasis in school children in Trinidad. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002;96:139–143.
- [5] Radman NE, Archelli SM, Fonrouge RD et al., Human toxocariasis. Its seroprevalence in the city of La Plata. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2000;95:281–285.
- [6] Roldan WH, Espinoza YA, Huapaya PE et al., Frequency of human toxocariasis in a rural population from Cajamarca, Peru determined by DOT ELISA test. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2009;51:67–71.
- [7] Magnaval JF, Glickman LT, Dorchie P et al., Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasitol.* 2001;39:1–11.
- [8] Kotłowski A, Kowalewska B, Rudzińska M, *Toxocara* eggs in children kindergartens in Tri-City area and evaluation of interdependence quantification of invasion with frequency of antibodies incidence among population under study. *Environ Med.* 2011;14:45–50.
- [9] Lassmann B, Tsigrelis C, Virk A, 33-year-old

- woman with marked Eosinophilia. *Mayo Clin Proc*, Vol. 82, No. 1, pp. 103-106, 2007.
- [10] Jacquier B, Gottstein Y, Eckert J, Immunodiagnosis of toxocariasis in humans: evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol*. 1991;29:1831–1835.
- [11] Romasanta A, Romero JL, Arias M et al., Diagnosis of parasitic zoonoses by immunoenzymatic assays – analysis of cross-reactivity among the excretory/secretory antigens of *Fasciola hepatica*, *Toxocara canis* and *Ascaris suum*. *Immunol Invest*. 2003;32:131–142.

DETERMINATION OF INFECTION RATE AND SPECIES COMPOSITION OF SKIN FUNGI CAUSING DISEASES IN HUMANS IN SOME POPULATIONS IN 2022

Phung Thi Thanh Thuy*, Le Thanh Dong, Do Thi Phuong Linh, Tran Kieu Thanh, Nguyen Duc Thang, Hoang Anh, Phan Thi Dien, Tran Thi Xuyen

Ho Chi Minh City Institute of malariology, Parasitology and Entomology - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 13/01/2023; Accepted 20/02/2023

ABSTRACT

Objective: The study aimed to assess the status of skin fungal infections and determine the composition of skin fungus species in some communities in the Southern region of Vietnam.

Subjects and method: The study was conducted on 1,645 people from a selected population groups in the Southern region - Lam Dong including the military, student and community groups and the parasitology clinic (under the Institute of Malariology – Parasitology – Entomology in Ho Chi Minh city) from April 2022 to December 2022 by microscopy and culture techniques to determine the infection rate and species composition of skin fungi.

Results: The overall fungal infection rate at the study sites was 1.76% (29/1,645). The group with the highest rate of fungal infections of the skin was the military group 5.45% (12/220), the group with the lower infection rate was the group of students with 1.18% (6/508). The group with the lowest rate of fungal skin infections is the community group with 0.56% (5/900). The filamentous fungi dominated with an infection rate of 51.72% (15/29). The highest age of skin fungal infection is from 16-25 years old, accounting for 72% (18/29). The rate of fungal skin infections in the intimate area, chest, groin and nails, hands accounted for the highest rate of 24.14%. Culture results of 189 patient samples including all suspected fungal infections and dermatophyte positive cases showed the prevalence of *Dermatophytes spp.* was 47.06% (8/17), *Candida spp.* was 41.18% (7/17), *Aspergillus spp.* was 11.77% (2/17). *Trichophyton rubrum* is dominated, accounting for 75% (6/8) of the total number of species discovered, while *Trichophyton mentagrophytes* only accounted for 25%. No other species of *Dermatophytes spp.* were detected.

Conclusion: The prevalence of fungal skin infections is different among population groups. The rate of fungal infection in the population with general living conditions is much higher than in the community. We need to take measures to control fungal skin infections in these population groups combined with limiting cross-infection. *Dermatophytes spp.* is a fungal pathogen that mainly affects the skin, in which *Trichophyton rubrum* predominates.

Key words: *Dermatophytes*, *Trichophyton. spp*

*Corresponding author

Email address: thuy.phung144@gmail.com

Phone number: (+84) 937 477 989



XÁC ĐỊNH TỶ LỆ NHIỄM VÀ THÀNH PHẦN LOÀI NẤM DA GÂY BỆNH TRÊN NGƯỜI Ở MỘT SỐ QUẦN THỂ DÂN CƯ NĂM 2022

Phùng Thị Thanh Thúy*, Lê Thành Đồng, Đỗ Thị Phượng Linh, Trần Kiều Thanh, Nguyễn Đức Thắng, Hoàng Anh, Phan Thị Điện, Trần Thị Xuyên

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. Hồ Chí Minh - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 13 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 20 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm đánh giá tình trạng nhiễm nấm da và xác định thành phần các loài nấm da tại một số cộng đồng dân cư khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành trên 1.645 người thuộc nhóm cộng đồng dân cư được chọn tại khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng bao gồm Nhóm quân đội, học sinh sinh viên, cộng đồng và phòng khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng (thuộc Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng TP.HCM) từ tháng 04/2022 đến tháng 12/2022 bằng kỹ thuật soi tươi và nuôi cấy để xác định tỷ lệ nhiễm và thành phần loài nấm da.

Kết quả: Tỷ lệ nhiễm nấm chung tại các điểm nghiên cứu là 1,76% (29/1.645). Nhóm có tỷ lệ nhiễm nấm da cao nhất là nhóm quân đội 5,45% (12/220), nhóm có tỷ lệ nhiễm thấp hơn là nhóm học sinh, sinh viên 1,18% (6/508). Nhóm có tỷ lệ nhiễm nấm da thấp nhất là nhóm cộng đồng 0,56% (5/900). Nhóm nấm sợi chiếm ưu thế với tỷ lệ nhiễm là 51,72% (15/29). Độ tuổi nhiễm nấm da cao nhất là từ 16-25 tuổi chiếm tỷ lệ 72% (18/29). Tỷ lệ nhiễm nấm da ở vùng kín, vùng ngực, bẹn và móng tay, tay chiếm tỷ lệ cao nhất là 24,14%. Kết quả nuôi cấy 189 mẫu bệnh phẩm bao gồm tất cả các trường hợp nghi ngờ nhiễm nấm và trường hợp dương tính với nấm da cho thấy tỷ lệ nhiễm nấm da *Dermatophytes spp.* là 47,06% (8/17), *Candida spp.* là 41,18% (7/17), *Aspergillus spp.*, là 11,77% (2/17). *Trichophyton rubrum* chiếm ưu thế, chiếm 75% (6/8) tổng số loài được phát hiện, trong khi đó loài *Trichophyton mentagrophytes* chỉ chiếm 25%. Không phát hiện các loài nấm da *Dermatophytes spp.* khác.

Kết luận: Tỷ lệ nhiễm nấm da có sự khác biệt giữa các nhóm quần thể dân cư. Nhóm quần thể dân cư có điều kiện sinh hoạt chung thì tỷ lệ nhiễm nấm cao hơn rất nhiều so với tỷ lệ nhiễm tại cộng đồng. Cần có những biện pháp kiểm soát tình trạng nhiễm nấm da tại các nhóm cộng đồng dân cư này đồng thời hạn chế lây nhiễm chéo. Chủng nấm da *Dermatophytes spp.* là chủng nấm gây bệnh chủ yếu trên da, trong đó loài *Trichophyton rubrum* chiếm ưu thế.

Từ khóa: *Dermatophytes*, *Trichophyton. spp.*

*Tác giả liên hệ

Email: thuy.phung144@gmail.com

Điện thoại: (+84) 937 477 989

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình trạng nhiễm nấm da là một vấn đề trên khắp thế giới, ảnh hưởng đến 20- 25% dân số. Bệnh nấm da là một bệnh lí ngoài da rất dễ gặp ở nước ta khiến người bệnh ngứa ngáy khó chịu, mất thẩm mỹ nên gây tâm lí thiếu tự tin, ảnh hưởng đến công việc và cuộc sống. Chẩn đoán xét nghiệm để xác định một trường hợp nhiễm vi nấm ngoài da cần phải được thực hiện trước khi điều trị cho bệnh nhân. Điều này rất quan trọng vì: i) Thời gian điều trị kéo dài; ii) Chi phí điều trị cao; iii) Các tác dụng phụ của thuốc khi dùng dài ngày. Do đó điều trị trong trường hợp không bệnh sẽ đem đến cho bệnh nhân nhiều tổn kém và phiền toái. Tuy nhiên một số nấm dễ dàng được nhận biết về mặt cơ bản khi soi trực tiếp trên kính hiển vi hoặc nuôi cấy ở những môi trường phân lập đầu tiên, một số khác lại đòi hỏi phải được phân lập trong một số môi trường chuyên biệt. Do vậy cần phải tiến hành nuôi cấy để xác định chính xác chủng gây bệnh nhằm hỗ trợ điều trị. Bên cạnh đó, hiện nay các nghiên cứu về thực trạng nhiễm nấm da trong cộng đồng còn hạn chế, đặc biệt là nghiên cứu ở khu vực Nam Bộ, do đó cần có những nghiên cứu về tình trạng nhiễm nấm da tại cộng đồng và các nhóm đối tượng nguy cơ cao, qua đó đề xuất các biện pháp kiểm soát, dự phòng hiệu quả bệnh do nấm da góp phần hạn chế các ảnh hưởng tới sức khỏe của cộng đồng. Mục tiêu nghiên cứu nhằm xác định được thành phần loài và tỷ lệ nhiễm nấm ngoài da trên người ở một số quần thể dân cư.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Các nhóm cộng đồng dân cư bao gồm Nhóm quân đội, học sinh sinh viên, cộng đồng và phòng khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng (thuộc Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng TP.HCM)

- Tác nhân gây bệnh: *Microsporum spp.*, *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*

2.2. Thời gian: Tháng 04/2022 đến tháng 12/2022.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

- Phòng khám bệnh chuyên khoa Ký sinh trùng (Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng TP.HCM).

- Doanh trại quân đội đóng trên địa bàn tỉnh Đồng Nai: 01 đơn vị

- Ký túc xá sinh viên đóng trên địa bàn tỉnh Tây Ninh: 01 đơn vị

- Cộng đồng dân cư tại 01 xã thuộc tỉnh Đồng Nai và Long An: 02 xã/ tỉnh.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả, phân tích trong phòng thí nghiệm.

2.4.2. Chọn mẫu và cỡ mẫu

Tiêu chuẩn chọn:

+ Bệnh nhân không được dùng thuốc kháng nấm trong vòng 7-10 ngày trước khi lấy bệnh phẩm xét nghiệm.

+ Thu thập bệnh phẩm từ nhiều tổn thương khác nhau và ở nhiều vị trí khác nhau trên cùng một sang thương vì vi nấm phân bố không đồng đều trên các tổn thương.

Tiêu chuẩn loại trừ:

+ Người không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Cỡ mẫu:

- Đối với mẫu tại thực địa:

Tiến hành nghiên cứu trên 4 nhóm đối tượng, mỗi nhóm điều tra ngẫu nhiên 250 người; Như vậy số mẫu cần thu thập là 1.000 mẫu.

Thu thập tất cả các mẫu bệnh phẩm có kết quả soi tươi dương tính với nấm da và tất cả các trường hợp có sang thương để tiến hành nuôi cấy tại labo.

- Đối với mẫu tại phòng khám:

Tiến hành chọn ngẫu nhiên tất cả các mẫu bệnh phẩm nghi ngờ nhiễm nấm da đến khám tại phòng khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng từ tháng 4 đến tháng 10 năm 2022 để tiến hành thu thập thông tin và thu mẫu bệnh phẩm.

2.4.3. Các chỉ số đánh giá

$$\text{Tỷ lệ nhiễm nấm da (\%)} = \frac{\text{số người xét nghiệm dương tính}}{\text{Số người điều tra}} \times 100\%$$



2.5. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu [1]

Khám lâm sàng xác định bệnh nấm da;

Kỹ thuật thu thập mẫu bệnh phẩm;

Kỹ thuật Quan sát trực tiếp bằng kính hiển vi;

Kỹ thuật cấy bệnh phẩm;

Kỹ thuật phân lập và định danh tham khảo theo Giáo trình thực tập Ký sinh trùng, Nhà xuất bản Hồng Đức.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học

Đề tài được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Viện Sốt rét – KST – CT TP. HCM duyệt về khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học.

Đối tượng nghiên cứu - Số liệu, thông tin được đảm

bảo bí mật.

Đối tượng nghiên cứu tham gia một cách tự nguyện, tự rút lui khi không muốn tham gia mà không bị một hình thức khiển trách nào. Được thông báo và giải thích về mục đích và lợi ích của nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm nấm da tại các cộng đồng dân cư khu vực Nam Bộ - Lâm Đồng

Tiến hành phân tích 1.645 mẫu da, tóc, móng trên người ở các điểm nghiên cứu để đánh giá tỷ lệ nhiễm nấm da tại cộng đồng và các nhóm nguy cơ cao, kết quả như bảng sau:

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm nấm da chung tại các điểm nghiên cứu

Nhóm đối tượng	Số mẫu	Ca nghi ngờ	Ca dương	Tỷ lệ nhiễm	Phân loại			KST khác
					Nấm sợi	Nấm men	Khác	
Quân đội	220	49	12	5,45	2	0	10	01 (Demodex)
HSSV	508	27	6	1,18	4	1	1	0
Cộng đồng	900	96	5	0,56	3	1	1	0
Phòng khám	17	17	6	35,29	6	0	0	0
Tổng cộng	1.645	189	29	1,76	15	2	12	1

Tỷ lệ nhiễm nấm chung tại các điểm nghiên cứu là 1,76% (29/1.645). Nhóm có tỷ lệ nhiễm nấm da cao nhất là phòng khám bệnh chuyên khoa Ký sinh trùng chiếm tỷ lệ 35,29% (6/17), tiếp theo là nhóm quân đội 5,45% (12/220), nhóm học sinh, sinh viên 1,18% (6/508). Nhóm có tỷ lệ nhiễm nấm da thấp nhất là nhóm cộng đồng 0,56% (5/900).

Theo nghiên cứu của Tăng Tuấn Hải (2021) tiến hành tại Bệnh viện da liễu TP. Hồ Chí Minh cho thấy tỷ lệ bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm nấm ngoài da là 47,2% [2]; Kết quả nghiên cứu của Trương Quang Ánh (2003) tại khoa Ký sinh trùng, bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế tỷ lệ bệnh nấm nông ở da là 47,18% [3]. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của chúng tôi là 35,29%.

Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Tất Thắng và cộng sự thực hiện tại trường Cao đẳng Quân sự quân đoàn 4 thì tỷ lệ bệnh nấm da Dermatophytes là 6,4%, xếp thứ 4 trong tổng số các bệnh da [4]. Kết quả này

cũng tương đồng với nghiên cứu chúng tôi là 5,45% (12/220).

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm nấm da ở nhóm có điều kiện sinh hoạt tập thể như nhóm quân đội, học sinh sinh viên có tỷ lệ nhiễm nấm cao hơn nhóm cộng đồng. Điều này có thể xuất phát từ sự lây nhiễm chéo trong quá trình sinh hoạt như sử dụng chung khăn, lược, quần áo. Tình trạng này khá phổ biến ở nhóm đối tượng có điều kiện sinh hoạt tập thể.

Trong các mẫu nấm da dương tính được xét nghiệm thì nhóm nấm sợi chiếm ưu thế với tỷ lệ nhiễm là 51,72% (15/29), tiếp đến là nhóm có triệu chứng điển hình bệnh nấm da tuy nhiên đã dùng thuốc kháng nấm nên không tìm thấy sợi tơ nấm chiếm tỷ lệ khá cao 41,38% (12/29). Nhóm có tỷ lệ nhiễm thấp nhất là nhóm nấm men, chiếm tỷ lệ 6,9% (2/29).

Từ kết quả xét nghiệm nấm da đánh giá tỷ lệ nhiễm theo độ tuổi và giới tính. Kết quả như bảng sau:

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm nấm da theo độ tuổi và giới tính

Số ca nhiễm/ nhóm	Nhóm tuổi														Tổng
	≤ 15		16-25		26-35		36-45		46-55		56-65		≥ 66		
	Nam	Nữ	Nam	Nữ	Nam	Nữ	Nam	Nữ	Nam	Nữ	Nam	Nữ	Nam	Nữ	
Quân đội			12												12
HSSV	1		4					1							6
Cộng đồng						1			1	2		1			5
Phòng khám				2						1	2	1			6
Tổng cộng	1	0	16	2	0	1	0	1	1	3	2	2	0	0	29

Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy đặc điểm về độ tuổi và giới tính của mỗi nhóm nghiên cứu có sự khác biệt rất lớn. Cụ thể nhóm quân đội, 100% đối tượng nghiên cứu đều là nam và có độ tuổi từ 16-25 tuổi. Trong khi đó nhóm học sinh, sinh viên cũng có tỷ lệ nam, nữ phân bố đồng đều, tuy nhiên độ tuổi hầu hết cũng ở nhóm tuổi 16-25 tuổi. Ngược lại nhóm cộng đồng và phòng khám có tỷ lệ nam, nữ phân bố đều, tuy nhiên độ tuổi thường nằm ở nhóm 26 đến 65 tuổi. Nhìn chung độ tuổi nhiễm nấm da cao nhất là từ 16-25 tuổi, tỷ lệ nhiễm nấm là 62,07%. Phân bố về giới tính của bệnh nhân nhiễm nấm da trong nghiên cứu này cho

thấy, tỷ lệ ca nhiễm nấm da ở giới nam chiếm 72,4% (21/29), trong khi đó tỷ lệ này ở nữ là 27,6% (8/29).

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Quỳnh tiến hành tại Bệnh viện quân y 103 tiến hành từ tháng 9/2021 đến tháng 6/2022 cho thấy độ tuổi mắc bệnh nấm da nhiều nhất là từ 20 - 29 tuổi, chiếm tỷ lệ 55%, tỷ lệ nam/nữ là 5,4/1 (83,6%) [5]. Như vậy độ tuổi nhiễm nấm da thường tập trung ở nhóm thanh niên và nhóm nam giới có tỷ lệ nhiễm nấm cao hơn nữ giới.

Từ kết quả xét nghiệm nấm da đánh giá tỷ lệ nhiễm theo vị trí trên cơ thể bệnh nhân. Kết quả như bảng sau:

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm nấm da theo vị trí trên cơ thể bệnh nhân

Vị trí nhiễm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Vùng kín, ngực, bẹn	7	24.14
Móng tay, tay	7	24.14
Đùi	1	3.45
Mông	2	6.90
Bẹn, nách	1	3.45
Cổ, da đầu	6	20.69
Bề mặt da	4	13,79
Chân	1	3.45
Tổng cộng	29	100



Kết quả xét nghiệm 29 mẫu dương tính với nấm da cho thấy tỷ lệ nhiễm nấm da ở vùng kín, vùng ngực, bẹn và móng tay, tay chiếm tỷ lệ cao nhất là 24,14%, nhóm có tỷ lệ nhiễm thấp hơn là cổ, da đầu 20,69%, kể đến là bề mặt da 13,79%. Nhóm có tỷ lệ nhiễm thấp nhất là vị trí

đùi, nách, chân 3,45%. Đánh giá về vị trí tổn thương cho thấy vị trí tổn thương hay gặp là ở bẹn. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Thị Quỳnh tiên hành tại Bệnh viện quân y 103 tiên hành từ tháng 9/2021 đến tháng 6/2022 [5].

Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm nấm da theo triệu chứng lâm sàng

Các triệu chứng	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Ngứa	7	24,14
Ranh giới rõ	6	20,69
Dát đỏ	6	20,69
Có vảy da	4	13,79
Mụn nước ở bờ tổn thương	0	0,00
Lành giữa tổn thương	6	20,69
Tổng cộng	29	100

Kết quả xét nghiệm 29 mẫu dương tính với nấm da cho thấy triệu chứng nhiễm nấm da phổ biến là ngứa (24,14%), sau đó là các triệu chứng như có ranh giới rõ, dát đỏ, lành giữa tổn thương (20,69%). Triệu chứng ít phổ biến nhất là có vảy da (13,79%).

3.2. Kết quả thu thập mẫu, nuôi cấy, phân lập, định danh một số chủng nấm da gây bệnh trên người

Trong 189 trường hợp nghi ngờ được thu thập mẫu bệnh phẩm, tiến hành phân lập và định danh loài nấm da, xác định được thành phần loài như sau:

Bảng 5. Kết quả định danh các vi nấm phân lập từ bệnh phẩm

Loài	Số lượng	Tỷ lệ	Ghi chú
<i>Trichophyton rubrum</i>	6	35,29	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	2	11,76	
<i>Candida Tropicalis</i>	1	5,88	
<i>Candida spp.</i>	6	35,29	
<i>Aspergillus subramanianii</i>	1	5,88	
<i>Aspergillus fumigatus/niger</i>	1	5,88	
Tổng	17	100	

Tỷ lệ nhiễm nấm da *Dermatophytes spp.* là 47,06% (8/17), *Candida spp.* là 41,18% (7/17), *Aspergillus spp.*, là 11,77% (2/17).

Trong các loài nấm da *Dermatophytes spp.* được phát hiện, chủng nấm da *Trichophyton rubrum* chiếm ưu thế, chiếm 75% (6/8) tổng số loài được phát hiện, trong

khi đó loài *Trichophyton mentagrophytes* chỉ chiếm 25%. Không phát hiện các loài nấm da *Dermatophytes spp.* khác.

Năm 2016, kết quả nghiên cứu của Lê Trần Anh và cộng sự xác định thành phần nấm da phổ biến nhất là *T. rubrum* (67,2%) tiếp theo là các loài *Trichophyton* khác

và *Microsporium sp* [6]. Nghiên cứu của Tăng Tuấn Hải tiến hành tại Bệnh viện da liễu TP. Hồ Chí Minh năm 2021 tiến hành trên 107 mẫu bệnh phẩm nuôi cấy phân lập được vi nấm ngoài da, *T. rubrum* chiếm tỉ lệ cao nhất là 63,55% [2]. Một nghiên cứu tại bệnh viện trường đại học Bari (Italia) từ 2005 - 2010 đã khảo sát 6133 bệnh nhân cho thấy tỷ lệ nhiễm *T. rubrum* là 64%, *T. mentagrophytes* là 10% [7]. Như vậy, loài *T. rubrum* vẫn đang chiếm ưu thế. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm nấm chung tại các điểm nghiên cứu là 1,76% (29/1.645). Nhóm có tỷ lệ nhiễm nấm da cao nhất là nhóm quân đội 5,45% (12/220), nhóm có tỷ lệ nhiễm thấp hơn là nhóm học sinh, sinh viên 1,18% (6/508). Nhóm có tỷ lệ nhiễm nấm da thấp nhất là nhóm cộng đồng 0,56% (5/900). Nhóm nấm sợi chiếm ưu thế với tỷ lệ nhiễm là 51,72% (15/29). Độ tuổi nhiễm nấm da cao nhất là từ 16-25 tuổi chiếm tỷ lệ 72% (18/29). Tỷ lệ nhiễm nấm da ở vùng kín, vùng ngực, bẹn và móng tay, tay chiếm tỷ lệ cao nhất là 24,14%. Kết quả nuôi cấy 189 mẫu bệnh phẩm bao gồm tất cả các trường hợp nghi ngờ nhiễm nấm và trường hợp dương tính với nấm da cho thấy tỷ lệ nhiễm nấm da *Dermatophytes spp.* là 47,06% (8/17), *Candida spp.* là 41,18% (7/17), *Aspergillus spp.*, là 11,77% (2/17). *Trichophyton rubrum* chiếm ưu thế, chiếm 75% (6/8) tổng số loài được phát hiện, trong khi đó loài *Trichophyton mentagrophytes* chỉ chiếm 25%. Không phát hiện các loài nấm da *Dermatophytes spp.* khác.

Tỷ lệ nhiễm nấm da có sự khác biệt giữa các nhóm quần thể dân cư. Nhóm quần thể dân cư có điều kiện sinh hoạt chung thì tỷ lệ nhiễm nấm cao hơn rất nhiều so với tỷ lệ nhiễm tại cộng đồng. Cần có những biện pháp kiểm soát tình trạng nhiễm nấm da tại các nhóm cộng đồng dân cư này đồng thời hạn chế lây nhiễm chéo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Quyết định số 26/QĐ-BYT ngày 03 tháng 01 năm 2014 về việc ban hành tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Vi sinh Y học”.
- [2] Tăng Tuấn Hải, Các chủng vi nấm ngoài da phân lập được và độ nhạy cảm với các thuốc kháng nấm hiện nay trên bệnh nhân đến khám tại bệnh viện da liễu thành phố Hồ Chí Minh năm 2021. Tạp chí Y học Việt Nam, tập 508, tháng 11, số 2, 2021.
- [3] Trương Quang Ánh và Tôn Nữ Phương Anh, “Bước đầu khảo sát tình hình nhiễm nấm da và nấm ngoại biên ở bệnh nhân được xét nghiệm nấm tại khoa Ký sinh trùng - Bệnh viện Trường Đại học Y khoa Huế”. Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, (6), tr.80-85, 2003.
- [4] Nguyễn Tất Thắng, Nguyễn Thị Đào, “Tỉ lệ bệnh da và những yếu tố liên quan trên các học viên trường cao đẳng quân sự quân đoàn 4”. Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh, (13), tr.316-323, 2009.
- [5] Nguyễn Thị Quỳnh, Một số yếu tố liên quan và đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân nấm da điều trị tại bệnh viện quân y 103 từ tháng 9/2021 đến tháng 6/2022. Tạp chí Y dược học quân sự, số 7, 2022.
- [6] Le Tran Anh, Nguyen Thai Dung, Nguyen Khac Luc, Efficacy and safety of terbinafine in the treatment of dermatophytosis at Nghean provincial leprosy, dermatology centre (2015–2016). Tạp chí Y dược học quân sự, 41(7), pp. 53–58, 2016.
- [7] Gino A. Vena, Paolo Chieco, Filomena Posa, Annarita Garofalo, Anna Bosco, Nicoletta Cassano, “Epidemiology of dermatophytoses: retrospective analysis from 2005 to 2010 and comparison with previous date from 1975”, New Microbiologica, 35, pp. 207–213, 2012.



STUDY ON IDENTIFICATION OF SKIN FUNGUS SPECIES CAUSING DISEASE IN ANIMALS IN VIETNAM BY MOLECULAR MARKERS USING NUCLEAR GENES

Nguyen Duc Tan¹, Nguyen Van Thoai^{1,*}, Huynh Vu Vy¹, Tran Huong Quynh²

¹Institute of Veterinary Research and Development of Central Vietnam - 227, road 2/4, Nha Trang, Khanh Hoa, Vietnam

²Institute of Vaccines and Biological Medical - 9 Pasteur, Nha Trang, Khanh Hoa, Vietnam

Received 29/11/2022

Revised 04/01/2023; Accepted 05/02/2023

ABSTRACT

Objectives: Identification of skin fungus species causing disease in animals in Vietnam by molecular markers using nuclear genes.

Subject and Methods: A total of 226 goats, 645 rabbits and 473 dogs infected with skin fungus disease in the wild were identified and classified by morphological and molecular biology techniques.

Results: The results showed that, goats and rabbits were infected with 6 species of skin fungus species, namely *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum*, *Candida tropicalis*, *Penicillium aculeatum* and *Mucor plumbeus*. Meanwhile, dogs infected with 6 species of the above skin fungus species and 2 species of *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*. The fungal samples were positive for PCR reaction, the sample sizes were about 490 bp (*P. aculeatum*), 550 bp (*C. tropicalis*; *M. plumbeus*), 650 (*P. citrinum*; *T. mentagrophytes*), 680 bp (*A. niger*), 700 bp (*A. flavus*) and 750 bp (*M. gypseum*). Comparing the nucleotide sequence of the ITS1 gene showed that the fungal species originated and on the subjects were different, but they had a very high degree of genetic similarity; Fungus species have different origins but are all on the same branch on the family tree.

Conclusions: Goats and rabbits were infected with 6 species, dogs infected with 8 species of skin fungus species. The fungal species originated and on the subjects were different, but they had a very high degree of genetic similarity; Fungus species have different origins but are all on the same branch on the family tree.

Keywords: Skin fungus, PCR, animals, Vietnam.

*Corresponding author

Email address: nthoaipty@gmail.com

Phone number: (+84) 905 331 447

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH LOÀI NẤM DA GÂY BỆNH Ở ĐỘNG VẬT TẠI VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ SỬ DỤNG GEN NHÂN

Nguyễn Đức Tân¹, Nguyễn Văn Thoai^{1,*}, Huỳnh Vũ Vỹ¹, Trần Hương Quỳnh²

¹Phân viện Thú y Miền Trung - 227 đường 2/4, Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam

²Viện vắc xin và sinh phẩm y tế - 9 Pasteur, Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam

Ngày nhận bài: 29 tháng 11 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 04 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 05 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định được loài nấm da gây bệnh ở động vật tại Việt Nam bằng chỉ thị phân tử sử dụng gen nhân.

Phương pháp nghiên cứu: Tổng số 226 dê, 645 thỏ và 473 chó bị bệnh nấm da trong tự nhiên được định danh, phân loại bằng hình thái học và kỹ thuật sinh học phân tử (PCR).

Kết quả nghiên cứu: Kết quả cho thấy, dê và thỏ nhiễm 6 loài nấm da là *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, *Candida tropicalis*, *Penicillium aculeatum* và *Mucor plumbeus*. Trong khi đó, chó nhiễm 6 loài nấm da này và 2 loài *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*. Các mẫu nấm dương tính với phản ứng PCR, kích thước sản phẩm khoảng 490 bp (*P. aculeatum*), 550 bp (*C. tropicalis*; *M. plumbeus*), 650 (*P. citrinum*; *T. mentagrophytes*), 680 bp (*A. niger*), 700 bp (*A. flavus*) và 750 bp (*M. gypseum*). So sánh trình tự nucleotit gen ITS1 cho thấy, các loài nấm có nguồn gốc và trên các đối tượng là khác nhau, nhưng chúng có mức độ tương đồng rất cao.

Kết luận: Dê và thỏ nhiễm 6 loài, chó nhiễm 8 loài nấm nấm da. Các loài nấm có nguồn gốc và trên các đối tượng là khác nhau, nhưng chúng có mức độ tương đồng rất cao về tính di truyền; các loài nấm có nguồn gốc khác nhau nhưng đều nằm cùng 1 nhánh trên cây phả hệ.

Từ khóa: Nấm da, PCR, động vật, Việt Nam.

*Tác giả liên hệ

Email: nthoaipty@gmail.com

Điện thoại: (+84) 905 331 447



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh nấm da là một bệnh gây tổn thương bề mặt biểu bì ở da do nhiều giống nấm gây ra, chẳng hạn như: *Microsporium*, *Trichophyton*, *Aspergillus* và *Epidermophyton*,... Đây là bệnh lưu hành ở nhiều quốc gia trên thế giới, ảnh hưởng đến nhiều loài động vật (chó, mèo, thỏ, bò, bê, dê, cừu,...), cũng như ở người. Động vật khỏe mạnh thường mang mầm bệnh trên cơ thể. Khi vật chủ bị suy yếu, thiếu dinh dưỡng, nhiệt độ môi trường cao, độ ẩm độ cao hoặc khi da bị tổn thương, nấm sẽ xâm nhập vào vùng da bị tổn thương và gây bệnh (Weitzman và Summerbell, 1995). Ở Việt Nam, mặc dù bệnh nấm da trên dê, thỏ và chó là một bệnh khá phổ biến, xảy ra ở tất cả các nhóm tuổi, các mùa vụ, mọi hình thức chăn nuôi, từ hộ chăn nuôi nhỏ lẻ đến các trang trại quy mô lớn. Tuy nhiên, các công trình nghiên cứu về bệnh này vẫn còn khá ít, đặc biệt trên lĩnh vực xác định loài nấm gây bệnh. Xuất phát từ những vấn đề đó, tiến hành “Nghiên cứu xác định loài nấm da gây bệnh ở động vật tại Việt Nam bằng chỉ thị phân tử sử dụng gen nhân” là cần thiết. Mục đích của nghiên cứu là nhằm xác định thành phần loài nấm da bằng kỹ thuật sinh học phân tử sử dụng gen ITS1 và ITS4.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên, vật liệu nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 226 dê, 645 thỏ và 473 chó bị bệnh nấm da trong tự nhiên.

Thời gian nghiên cứu: 1/2020-5/2022

Địa điểm thu mẫu bệnh phẩm: Hà Nội, Cần Thơ, Thái Nguyên, Ninh Thuận, Khánh Hòa, Kon Tum, Lâm Đồng, Đắk Lắk, Thừa Thiên Huế, Thái Bình và Hà Tĩnh.

Địa điểm xét nghiệm mẫu: Phân viện Thú y miền Trung

Vật liệu nghiên cứu: Môi trường Sabouraud, KOH 20%, glycerin 20%, cồn; bộ kit chiết tách DNA tổng số; bộ kit tinh sạch sản phẩm PCR; PCR Master Mix; DNA ladder; Máy PCR, máy soi và chụp gel, bộ điện di kiểm tra sản phẩm PCR và một số dụng cụ, hóa chất cần thiết khác để nghiên cứu nấm và sinh học phân tử.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp lấy mẫu: Mẫu được thu thập trên những

động vật (dê, thỏ, chó) bị bệnh bằng cách dùng dao vô trùng cạo ở vùng da có bệnh tích đến khi rớm máu, hoặc dùng dao vô trùng cạo những mảng nhỏ ở kẽ móng, ở tai, ở bụng,...

Phương pháp quan sát trực tiếp: Cho một lượng mẫu bệnh phẩm lên lam kính sạch (khoảng bằng hạt gạo), nhỏ 1 - 2 giọt dung dịch KOH 20% phủ đều lên mẫu, đặt lamén và tiến hành soi mẫu, tìm sợi nấm hoặc bào tử nấm dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 - 400 lần.

Phương pháp nuôi cấy: Các mẫu sau khi thu thập từ thực địa, tiến hành nuôi cấy trên môi trường thạch Sabouraud (SAB) ở nhiệt độ 25°C-37°C. Sau thời gian 7 - 10 ngày, quan sát khuẩn lạc. Phân loại nấm dựa theo tài liệu của Sabouraud (1910); Murray (1995) và Watanabe (2010).

Các khuẩn lạc được chiết tách DNA tổng số, quy trình thực hiện theo hướng dẫn của hãng sản xuất (QIAGEN). DNA sau khi chiết tách được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng. Trình tự cặp mỗi gen nhân ITS của rDNA: ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')/ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Thành phần phản ứng PCR (50 µl): Master mix (25 µl), mỗi xuôi (2 µl), mỗi ngược (2 µl), DNA khuôn (10 µl) và nước tinh khiết (11 µl). Các bước của phản ứng PCR: 1 chu kỳ 95°C (5 phút), tiếp theo là 35 chu kỳ 95°C (1 phút), 60°C (1 phút), 72°C (2 phút), cuối cùng là 1 chu kỳ 72°C (10 phút), giữ mẫu 4°C. Kết thúc phản ứng, sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% (Mırhendı et al., 2006). Tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự gen được thực hiện tại công ty Nam Khoa (TPHCM). So sánh trình tự nucleotit bằng phần mềm BioEdit 2000. Các chuỗi trình tự tương đồng được tìm kiếm trong Genbank để xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm Mega 6.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả định danh, xác định loài nấm da ở dê, thỏ và chó bằng hình thái học

Tổng số 226 dê, 645 thỏ và 473 chó bị bệnh nấm da được định danh, phân loại bằng hình thái học. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, dê và thỏ nhiễm 6 loài nấm da là *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum*, *Candida tropicalis*, *Penicillium aculeatum* và *Mucor plumbeus*. Chó nhiễm 8 loài nấm

da, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger* và 6 loài nấm như ở dê, thỏ nhiễm. Tuy nhiên, sự phân bố về tỷ lệ nhiễm giữa các loài nấm ở dê, thỏ và chó là có sự khác nhau, cụ thể như sau:

Đối với dê: Tỷ lệ nhiễm các loài *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *A. flavus*, *C. tropicalis*; *P. aculeatum* và *M. plumbeus* lần lượt là 99,1%; 96,9%; 86,2%; 7,9%; 9,2% và 5,7%.

Đối với thỏ: Tỷ lệ nhiễm các loài *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *A. flavus*, *C. tropicalis*; *P. aculeatum* và *M. plumbeus* lần lượt là 89,6%; 91,6%; 74,1%; 11,0%; 12,8% và 3,2%.

Đối với chó: Tỷ lệ nhiễm các loài *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *A. flavus*, *A. niger*, *C. tropicalis*; *P. aculeatum*, *P. citrinum* và *M. plumbeus* lần lượt là 72,9%; 74,8%; 91,1%; 1,2%; 54,1%; 49,4%; 1,0% và 41,6%.

Bảng 1. Kết quả xác định thành phần các loài nấm da ở dê, thỏ và chó

Loài nấm da	Dê (n=226)		Thỏ (n=645)		Chó (n=473)	
	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
<i>A. flavus</i>	195	86,2	478	74,1	432	91,3
<i>A. niger</i>	0	0,0	0	0,0	6	1,2
<i>T. mentagrophytes</i>	224	99,1	578	89,6	345	72,9
<i>M. gypseum</i>	219	96,9	591	91,6	354	74,8
<i>C. tropicalis</i>	18	7,9	71	11,0	256	54,1
<i>P. aculeatum</i>	21	9,2	83	12,8	234	49,4
<i>P. citrinum</i>	0	0	0	0	5	1,0
<i>M. plumbeus</i>	13	5,7	21	3,2	197	41,6

3.2. Kết quả giám định loài nấm da ở dê, thỏ và chó bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Bảng 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR nhân đoạn gen ITS1 và ITS4

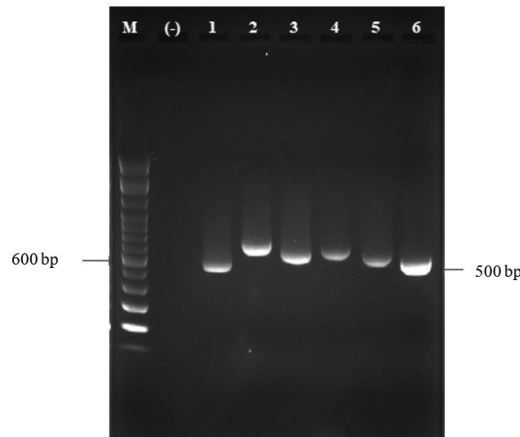
Loài nấm	Kích thước sản phẩm (bp)	Dê		Thỏ		Chó	
		n	+ (%)	n	+ (%)	n	+ (%)
<i>A. flavus</i>	700	12	12 (100)	12	12 (100)	12	12 (100)
<i>A. niger</i>	680	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	5	5 (100)
<i>T. mentagrophytes</i>	650	12	12 (100)	12	12 (100)	12	12 (100)
<i>M. gypseum</i>	750	12	12 (100)	12	12 (100)	12	12 (100)
<i>C. tropicalis</i>	550	12	12 (100)	12	12 (100)	12	12 (100)
<i>P. aculeatum</i>	490	12	12 (100)	12	12 (100)	12	12 (100)
<i>P. citrinum</i>	650	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	5	5 (100)
<i>M. plumbeus</i>	550	12	12 (100)	12	12 (100)	12	12 (100)
Tổng cộng		72	72 (100)	72	72 (100)	82	82 (100)



Ghi chú: n là số mẫu kiểm tra; + là số mẫu dương tính
Các mẫu nấm da ở dê, thỏ và chó sau khi xác định hình thái học, các khuẩn lạc được lựa chọn để tách chiết DNA tổng số, thực hiện phản ứng PCR, sản phẩm được điện di trên thạch agarose 1,2%. Kết quả ở Bảng 2, Hình 1 và Hình 2 cho thấy, tất cả 226 mẫu nấm da đều dương tính với phản ứng PCR, với tỷ lệ dương

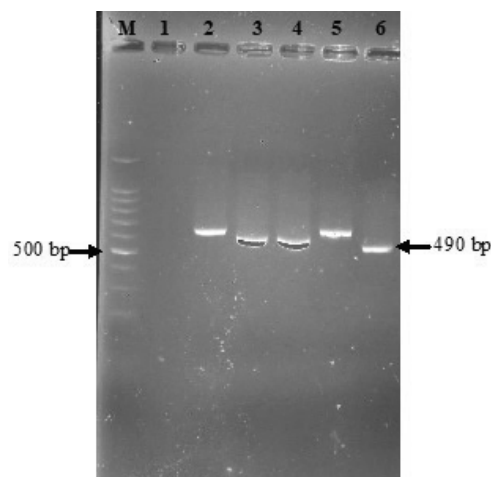
tính 100%, kích thước sản phẩm khoảng 490 bp (*P. aculeatum*), 550 bp (*C.tropicalis*; *M. plumbeus*), 650 bp (*P. citrinum*; *T. mentagrophytes*), 680 bp (*A. niger*), 700 bp (*A. flavus*) và 750 bp (*M. gypseum*), các vạch dương tính trên thạch điện di rõ ràng, đậm và duy nhất. Trong khi đó, các mẫu sử dụng làm đối chứng âm đều cho kết quả âm tính.

Hình 1: Ảnh đại diện kết quả phản ứng PCR



M: maker, 100 bp; (-): đối chứng âm; Giếng 1: *C. tropicalis* - 550 bp; Giếng 2: *M. gypseum* - 750 bp; Giếng 3: *A. niger* - 680 bp; Giếng 4: *A. flavus* - 700 bp; Giếng 5: *P. citrinum* - 650 bp; Giếng 6: *M. plumbeus* - 550 bp

Hình 2: Ảnh đại diện kết quả phản ứng PCR



M: Maker, 100 bp; Giếng 1: đối chứng âm; Giếng 2: *P. citrinum* - 650 bp; Giếng 3: *M. plumbeus*- 550 bp;

Giếng 4: *C. tropicalis* - 550 bp; Giếng 5: *T. mentagrophytes* - 650 bp; Giếng 6: *P. aculeatum* - 490 bp

Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự nucleotit

đoạn gen *ITS1*. Sử dụng phần mềm BioEdit để so sánh trình tự nucleotit đoạn gen được khuếch đại của các mẫu nấm da trên dê, thỏ, chó ở Việt Nam và các loài tương đồng đã được đăng ký trên ngân hàng gen. Các chủng nấm được xây dựng cây phả hệ ở Hình 3. Cây phả hệ ở Hình 3 cho thấy các mẫu nấm da trên dê, thỏ

và chó ở Việt Nam và các mã số trên ngân hàng gen được phân làm 8 nhóm:

Nhóm thứ nhất là các loài *Aspergillus flavus* trên dê, thỏ và chó ở Việt Nam (AsperD1, AsperT2, AsperCh3) và các mã số trên ngân hàng gen MH758698.1, MF767617.1.

Nhóm thứ hai là các loài *Aspergillus niger* trên chó ở Việt Nam (AsperCh5) và các mã số trên ngân hàng gen KU171053.1, KY318469.1.

Nhóm thứ ba là các loài *Penicillium citrinum* trên chó ở Việt Nam (PeniCh4) và các mã số trên ngân hàng gen GU566273.1, MT529463.1.

Nhóm thứ tư là các loài *Penicillium aculeatum* trên dê, thỏ, chó ở Việt Nam (AsperD1, AsperT1, AsperCh2) và các mã số trên ngân hàng gen FJ537125.1, HQ392465.1.

Nhóm thứ năm là các loài *Microsporum gypseum* trên dê, thỏ, chó ở Việt Nam (MicroD2, MicroT3, MicroCh2) và các mã số trên ngân hàng gen EU151494.1,

MK918486.1.

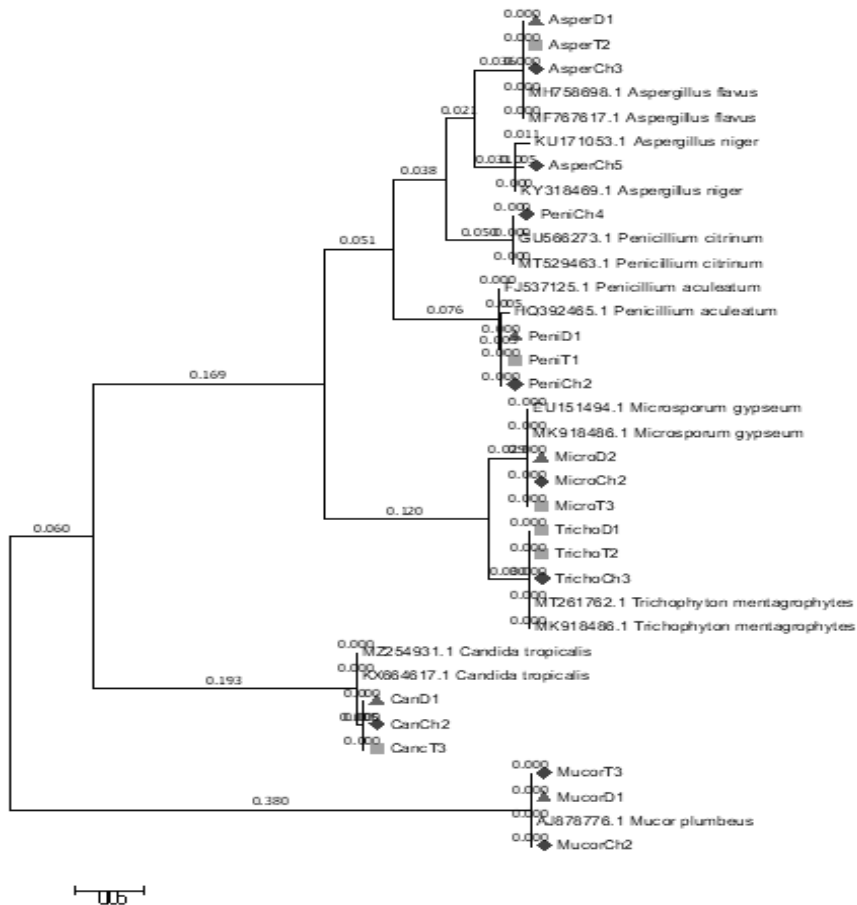
Nhóm thứ sáu là các loài *Trichophyton mentagrophytes* trên dê, thỏ, chó ở Việt Nam (TrichoD1, TrichoT2, TrichoCh3) và các mã số trên ngân hàng gen MT261762.1, MK918486.1.

Nhóm thứ bảy là các loài *Candida tropicalis* trên dê, thỏ, chó ở Việt Nam (CanD1, CanT3, CanCh2) và các mã số trên ngân hàng gen MZ254931.1, KX664617.1.

Nhóm thứ tám là các loài *Mucor plumbeus* trên dê, thỏ, chó ở Việt Nam (MucorD1, MucorT2, MucorCh2) và mã số trên ngân hàng gen AJ878776.1.

Như vậy, mặc dù các loài nấm có nguồn gốc và trên các đối tượng là khác nhau, nhưng chúng có mức độ tương đồng rất cao về tính di truyền; các loài nấm có nguồn gốc khác nhau nhưng đều nằm cùng 1 nhánh trên cây phả hệ (Các loài nấm da ở Việt Nam được chúng tôi gửi lên Genbank với các mã số OP890623; OP890624; OP905578; OP905579; OP804125; OP804126; OQ102931).

Hình 3: Cây phả hệ các loài nấm da



Các ký hiệu của mẫu nấm da ở Việt Nam (▲ ở dê; ◆ ở thỏ ■ ở chó)

Từ kết quả nghiên cứu cũng cho thấy xác định loài nấm da bằng nuôi cấy trên môi trường đặc hiệu có kết quả phân loại cao do đặc trưng của khuẩn lạc và cấu trúc, hình dạng, màu sắc, cách sinh chồi, các dạng bào tử,... Tuy nhiên, để phân loại đòi hỏi thời gian nuôi cấy cũng rất lâu (khoảng 1-2 tuần) và dễ chẩn đoán sai khi các loài nấm cùng giống. Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp nuôi cấy nấm trên môi trường Sabouraud và sử dụng thêm phương pháp sinh học phân tử dựa trên sự khác biệt về trình tự nucleotit để giám định loài. Vùng gen ITS-rDNA của nấm có tính ổn định cao, được bảo tồn cao trong các chủng khác nhau trong một loài, nhưng khác nhau đáng kể giữa các loài khác nhau trong cùng một giống. Gen ITS được ứng dụng trong kỹ thuật PCR để phát hiện các loài nấm, sử dụng cặp mồi ITS1 và ITS4, sản phẩm PCR các loài thay đổi từ 490-750 bp. Sự khác biệt về chiều dài vùng gen ITS giữa các loài nấm đã được chứng minh bởi các tác giả Ahmadi và cs (2015). Trong nghiên cứu này, kỹ thuật PCR và giải trình tự gen ITS-rDNA cho kết quả chẩn đoán đồng nhất rất cao so với phương pháp nuôi cấy trên môi trường Sabouraud. Tuy nhiên, kỹ thuật PCR cho kết quả nhanh, chỉ sau 3-4 giờ và có độ chính xác rất cao ở cấp độ loài.

Nghiên cứu trước đây cho thấy có 20 loài nấm da gây bệnh trên chó đã được phát hiện, tuy nhiên các loài phổ biến nhất là *Microsporium canis*, *M. gypseum* và *Trichophyton mentagrophytes* (Bernardo và cs, 2005), tỷ lệ nhiễm *Microsporium canis*, *M. gypseum* và *T. mentagrophytes* lần lượt là 70%; 20%; 10% (Wisal, 2018). Tuy nhiên cũng có tài liệu cho thấy sự phổ biến của các loài *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. và *Mucor* spp (Bernardo và cs, 2005). Như vậy, trong nghiên cứu này chưa phát hiện loài *Microsporium canis*, *Alternaria* spp. ở chó tại Việt Nam, nhưng phát hiện 8 loài, với tỷ lệ nhiễm *T. mentagrophytes*, *A. flavus*, *A. niger*, *M. gypseum*, *C. tropicalis*, *P. aculeatum*, *P. citrinum* và *M. plumbeus* lần lượt là 91,1%; 72,9%; 74,8%; 1,2%; 54,1%; 49,4%; 1,0% và 41,6%.

Đến nay, các nghiên cứu về thành phần loài nấm da ở chó vẫn còn khá ít, sự phổ biến các loài nấm trên chó ở mỗi nước cũng không giống nhau. Ở Tây Ban Nha, loài gây bệnh chính ở chó là *M.canis*, sau đó *T.mentagrophytes*. Ở Ấn Độ, loài gây bệnh chính ở chó là *T. rubrum*, sau đó là *T.mentagrophytes*, *M. gypseum* (Hayette và Sachli, 2015). Ở Indonesia, 3 loài gây bệnh

chính ở chó là *Microsporium canis*, *M. gypseum* và *T. mentagrophytes* (Faisal và cs, 2020). Ở Bangladesh chỉ phát hiện loài *T. Mentagrophytes* (Jagannath và cs, 2016). Trong nghiên cứu này, chưa phát hiện loài *M. canis* và *T. rubrum* ở chó, nhưng phát hiện 6 loài, với tỷ lệ nhiễm *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *A. flavus*, *C. tropicalis*; *P. aculeatum* và *M. plumbeus* lần lượt là 91,6%; 89,6%; 74,1%; 11,0%; 12,8% và 3,2%.

Đối với dê, sự phân bố thành phần loài ở mỗi nước cũng có sự khác nhau. Ở khu vực phía Tây Bengal (Ấn Độ), phát hiện 4 loài nấm da ở dê là *M. gypseum*, *T. verucossum*, *T. mentagrophytes* và *T. rubrum* (Biswas và cs, 2015). Trong khi đó, ở Ai Cập phát hiện dê nhiễm 4 loài là *M. canis*, *M. gypseum*, *T. verucossum* và *T. ferrugineum* (Abd-Elmegeed và cs, 2020). Một nghiên cứu khác ở LiBy (Ấn Độ) đã phát hiện dê nhiễm khá nhiều loài: *Aspergillus* spp. (9 loài), *Penicillium* spp. (7 loài), *Mucor circinelloides*, *Mucor hiemalis*... (El-Said và cs, 2009). Ở bang Enugu (Nigeria) chỉ phát hiện dê nhiễm loài *T. schoenleini* (Chah và cs, 2012). Như vậy, có nhiều loài nấm chưa phát hiện trên dê ở nước ta như các nghiên cứu trước đây đã công bố (*M. canis*, *T. verucossum*, *T. rubrum*, *T. schoenleini*, *T. verucossum*, *T. ferrugineum*, *M. circinelloides*, *M. hiemalis*), nhưng phát hiện thêm nhiều loài khác, với tỷ lệ nhiễm *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *A. flavus*, *C. tropicalis*; *P. aculeatum* và *M. plumbeus* lần lượt là 99,1%; 96,9%; 86,2%; 7,9%; 9,2% và 5,7%.

Như vậy, dê, chó và chó ở Việt Nam không những nhiễm nấm da với tỷ lệ cao, mà thành phần loài nấm cũng rất đa dạng. Đặc biệt có những loài đã được công bố có khả năng gây bệnh ở người như: *T. mentagrophytes*, *M. gypsum*, *A. flavus*, *C. tropicalis*; *P. aculeatum* và *M. plumbeus*,.... (Ardeshir và cs, 2016).

4. KẾT LUẬN

Dê và chó nhiễm 6 loài nấm da là *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum*, *Candida tropicalis*, *Penicillium aculeatum* và *Mucor plumbeus*. Trong khi đó, chó nhiễm 6 loài nấm da này và 2 loài *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*.

Các loài nấm có nguồn gốc và trên các đối tượng là khác nhau, nhưng chúng có mức độ tương đồng rất cao về tính di truyền; các loài nấm có nguồn gốc khác nhau nhưng đều nằm cùng 1 nhánh trên cây phả hệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Abdel-Rahman SM, Sugita T, González GM et al., Divergence among an international population of *Trichophyton tonsurans* isolates. *Mycopathologia*, 169:1-13, 2010.
- [2] Ahmadi B, Mirhendi H, Shidfar MR et al., A comparative study on morphological versus molecular identification of dermatophyte isolates. *J Mycol Med*, 25 (1), 29-35, 2015.
- [3] Ardeshir Ziaee, Mohammadali Zia, Mansour Bayat et al., Molecular Identification of *Mucor* and *Lichtheimia* Species in Pure Cultures of *Zygomycetes*. *Jundishapur J Microbiol*. 9(4):e35237, 2016.
- [4] Biswas M, Debnath C, Mitra T et al., Studies on dermatophytoses in sheep and goat in West Bengal, India. *Indian Journal of Animal Health* 54, 109-114, 2015.
- [5] Bernardo F, Lanca A, Guerra MM et al., Dermatophytes isolated from pet, dogs and cats, in Lisbon, Portugal (2000-2004). *Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias*. 100: 85-88, 2005.
- [6] Faisal J, Sri E, Eko S et al., Dermatophyte infection pathogenesis on New Zealand White rabbit skin, Bogor, West Java, Indonesia. *Plant Archives*, 20 (2): 7657-7662, 2020.
- [7] Hayette M.P., R. Sacheli, Dermatophytosis, trends in epidemiology and diagnostic approach. *Current Fungal Infection Reports*, 9(3): 164-179, 2015.
- [8] Jagannath Chandra Dey, Md. Kaisar Rahman, Md. Aftabuddin Rumi et al., Prevalence of dermatophytosis in rabbits at Saqtvh, Chittagong, Bangladesh. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. 3 (6): 201-205, 2016.
- [9] Mirhendi H, Makimura K, Khoramizadeh M et al., A one-enzyme PCR-RFLP assay for identification of six medically important *Candida* species. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi* 47 (3), 225-229, 2006.
- [10] Murray PR, *Manual of clinical Microbiology*, 6th, ASM PRESS, Washington, D.C., pp. 698-731, 1995.
- [11] Sabouraud R, *Maladies du cuir chevelu*. III. Les cryptogamiques. Les teignes. Paris: Masson, 1910.
- [12] Watanabe T, *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species*. 3rd Edition, CRC Press, 426 pp. (DOI org/10.1201/EBK1439804193), 2010.
- [13] Weitzman I, Summerbell RC, *The Dermatophytes*. *Clin Microbiol Reviews*, 8 (2): 240-259, 1995



DEMODEX INFECTED RATE OF PATIENTS VISITED THE PARASITOLOGY CLINIC OF INSTITUTE OF MALARIOLOGY-PARASITOLOGY-ENTOMOLOGY HO CHI MINH CITY

Pham Thi Thu Giang*, Pham Thi Thien Ly, Tran Thi Thanh Thuy, Ngo Thi Thuy, Nguyen Thi Mong Sieng, Le Thanh Dong, Doan Binh Minh

Institute of Malarialogy-Parasitology-Entomology Ho Chi Minh City - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 01/12/2022

Revised 04/01/2023; Accepted 15/02/2023

ABSTRACT

The study was carried out on patients who visited the Parasitology clinic (Institute of Malarialogy-Parasitology-Entomology Ho Chi Minh City) from January 2018 to November 2022. **Research method:** A cross-sectional study conducted on 848 patients with symptoms suspected of being infected with *Demodex spp.* Patients were clinically examined by a doctor and ordered to do a test to find *Demodex spp.* Patients were interviewed through questionnaire to collect information and then shaved face above fresh hair follicles to find *Demodex spp.* **Objective:** This study aimed to determine the infection rate of *Demodex spp.* and some factors related to people infected with *Demodex spp.*

Results: The results determined the infection rate of 53.4% (453/848), the intensity of infection with less than 5 *Demodex*/slide of 35.5% (161/848) and with greater than 5 *Demodex*/slide of 64.5% (292/453). About species of *Demodex* infected on humans, there were *Demodex folliculorum*, *Demodex brevis*. At the same time, the study also preliminarily evaluated some clinical characteristics and factors related to *Demodex spp.* infection.

Keywords: *Demodex*, *Demodex* infection.

*Corresponding author

Email address: tien_giang2109@yahoo.com.vn

Phone number: (+84) 387 573 598

TÌNH TRẠNG NHIỄM *DEMODEX* CỦA CÁC BỆNH NHÂN ĐẾN KHÁM TẠI PHÒNG KHÁM CHUYÊN KHOA KÝ SINH TRÙNG THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Phạm Thị Thu Giang*, Phạm Thị Thiên Lý, Trần Thị Thanh Thủy, Ngô Thị Thúy, Nguyễn Thị Mộng Siêng, Lê Thành Đồng, Đoàn Bình Minh

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 01 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 04 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 15 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trên bệnh nhân đến khám tại Phòng khám bệnh chuyên khoa Ký sinh trùng (Viện Sốt Rét-KST-CT TP.Hồ Chí Minh) từ tháng 01/2018 - 11/2022. **Phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang tiến hành ở 848 người đến khám bệnh về ký sinh trùng hoặc với các triệu chứng nghi nhiễm *Demodex spp.* được bác sĩ thăm khám lâm sàng, chỉ định làm xét nghiệm tìm *Demodex spp.* Nhân viên thu thập thông tin qua bảng câu hỏi đã thiết kế sẵn và tiến hành cạo vảy da trên nang lông soi tươi trực tiếp trên kính hiển vi quang học tìm *Demodex spp.* **Mục tiêu:** Nghiên cứu này nhằm xác định tình trạng nhiễm *Demodex spp.* và một số yếu tố liên quan đến người bị nhiễm *Demodex spp.*

Kết quả: Kết quả đã xác định được tỷ lệ nhiễm 53,4% (453/848), cường độ nhiễm [< 5 con/ tiêu bản 35,5% (161/848) và > 5 con/ tiêu bản 64,5% (292/453)], thành phần loài *Demodex* ký sinh ở người (*Demodex folliculorum*, *Demodex brevis*); đồng thời nghiên cứu cũng đánh giá sơ bộ được một số đặc điểm lâm sàng và các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex spp.*

Từ khóa: *Demodex*, nhiễm *Demodex*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Demodex spp. là một loại ngoại ký sinh, sống ký sinh ở nang lông, gần nang lông, tuyến bã, trên vảy da ở người và súc vật. Chúng thuộc ngành chân khớp (Arthropoda), lớp hình nhện (Arachnida), bộ Ve (Acarina), giống *Demodex*. Có khoảng 65 loài. Trong đó, có hai loài thường gặp nhất trên da người là *Demodex folliculorum* thường ký sinh ở nang lông, tóc, được Berger mô tả đầu tiên vào năm 1841 và *Demodex brevis* thường ký sinh ở

tuyến bã nhờn, được Akbulatova tìm thấy trên da người năm 1963 [2, 5]. *Demodex spp.* gây viêm da thường gặp ở da mặt, ở lứa tuổi trung niên, khi hệ thống miễn dịch suy yếu thì chúng nhanh chóng tăng sinh số lượng gây nên tình trạng viêm. Có tình trạng nhiễm *Demodex spp.* mà không có biểu hiện lâm sàng, chỉ khi sức đề kháng của cơ thể giảm xuống và số lượng *Demodex spp.* nhiều mới có biểu hiện lâm sàng, có thể nhiễm ký sinh trùng nhiều tháng, nhiều năm mới biểu hiện bệnh [2, 7]. Bệnh không khó để phát hiện và điều trị, tuy nhiên dễ nhầm

*Tác giả liên hệ

Email: tien_giang2109@yahoo.com.vn

Điện thoại: (+84) 387 573 598



lẫn với bệnh viêm da tiếp xúc, trứng cá đỏ hoặc viêm da quanh miệng dẫn đến tình trạng viêm da kéo dài để lại di chứng trên da như sẹo, rỗ... Tình trạng viêm da do *Demodex* spp. làm cho người bệnh phiền muộn và thiếu tự tin trong giao tiếp ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống. Tại Viện Sốt rét-KST-CT TP.HCM, những năm gần đây số lượng người đến khám bị nhiễm *Demodex* spp. ngày càng nhiều để góp phần chẩn đoán và điều trị, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm xác định tình trạng nhiễm *Demodex* spp. và một số yếu tố liên quan đến người bị nhiễm *Demodex* spp. tại Viện Sốt rét-KST-CT TP.HCM.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Những người đến khám bệnh tại Khoa khám bệnh chuyên khoa Ký sinh trùng (Viện Sốt rét-KST-CT TP.HCM)

Tiêu chuẩn chọn vào: Tất cả bệnh nhân lần đầu đến khám ký sinh trùng được chỉ định soi da tìm *Demodex* spp. tại Viện Sốt rét -KST-CT TP.HCM

Tiêu chuẩn loại trừ: Người bệnh có rối loạn tâm thần, các bệnh lý về da đang có tổn thương nặng, đang chảy máu

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian: Tháng 01/2018-11/2022.

Địa điểm: Khoa khám bệnh chuyên khoa Ký sinh trùng (Viện Sốt rét-KST-CT TP. HCM)

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang
- Cách chọn cỡ mẫu: Chọn mẫu thuận tiện

- Cỡ mẫu: Tổng số 848 bệnh nhân.

2.4. Các kỹ thuật sử dụng

- Phỏng vấn trực tiếp
 - Kỹ thuật soi tươi trực tiếp tìm *Demodex* spp. trên da mặt
- Người bệnh đến khám bệnh về ký sinh trùng hoặc với các triệu chứng nghi nhiễm *Demodex* spp. được bác sỹ khám lâm sàng, chỉ định làm xét nghiệm soi tìm *Demodex* spp. Nhân viên tiến hành phỏng vấn trực tiếp, lấy thông tin qua bảng câu hỏi đã thiết kế sẵn và tiến hành cạo vẩy da trên nang lông soi tươi trực tiếp trên kính hiển vi quang học tìm *Demodex* spp.

2.5. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

- Nhập số liệu trong Excel
- Phần mềm xử lý thống kê sinh học SPSS 16.0

2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Viện Sốt rét-KST-CT TP.HCM phê duyệt.

Đối tượng nghiên cứu tự nguyện tham gia được cung cấp thông tin rõ ràng về nghiên cứu và các thông tin liên quan đến đối tượng tham gia được đảm bảo giữ bí mật.

Số liệu chỉ sử dụng cho mục tiêu nghiên cứu, không sử dụng cho mục đích khác.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả xét nghiệm 848 người đến khám tại Khoa khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng (Viện Sốt rét-KST-CT TP.HCM) từ tháng 01/2018-11/2022 theo tiêu chuẩn chọn mẫu, với kết quả như sau:

3.1. Tình trạng nhiễm *Demodex* spp.

Bảng 1. Tỷ lệ người nhiễm và cường độ nhiễm *Demodex* spp

Số người đến khám (n = 848)	Nhiễm <i>Demodex</i> spp.				Cường độ nhiễm			
	Không		Có		< 5 con/ tiêu bản		> 5 con/ tiêu bản	
	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
	395	46,6	453	53,4	161	35,5	292	64,5

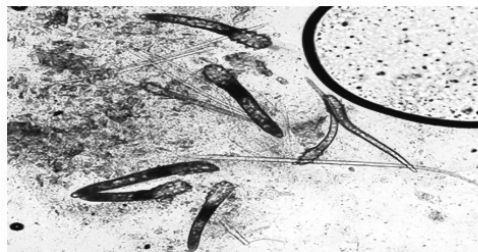
Thực hiện lấy mẫu dùng ngón tay cái và ngón thứ hai bóp vùng da bệnh nhân với một lực đủ mạnh để nặn chất bã tiết ra ngoài. Sử dụng dao mổ cạo

nhẹ lấy chất bã cho giọt dầu và trộn đều để chất bã hòa tan trong dầu và phóng thích *Demodex* spp. vào trong giọt dầu nếu chúng có trong bệnh phẩm. Đặt

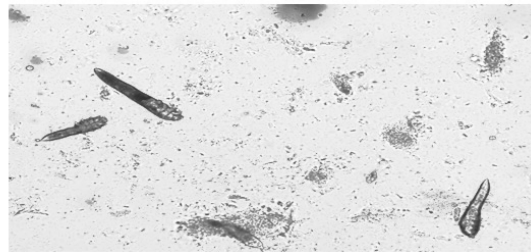
lamen lên mỗi giọt dầu để 2-3 phút đọc kết quả với kính hiển vi độ phóng đại thấp (vật kính x4 hay x10) soi thấy (hình 1). Xét nghiệm 848 trường hợp có 453 trường hợp tìm thấy *Demodex* spp., chiếm tỷ lệ 53,4%(453/848).

Dựa trên nghiên cứu của Parvaiz và Iffat (2014) [8]. Nếu ≥ 5 con /vi trường (*Demodex* là căn nguyên gây bệnh). Soi kính hiển vi cho thấy ≥ 5 con/vi trường chiếm 64,5%(292/453) và < 5 con /vi trường chiếm 35,5%(161/453).

Hình 1. Hình hai loài *Demodex* spp. tìm thấy trên người nhiễm



Demodex folliculorum



Demodex brevis

Bảng 2. Thành phần loài *Demodex* spp.

Số người nhiễm <i>Demodex</i> spp. (n = 453)	Số loài <i>Demodex</i> spp.					
	<i>D. folliculorum</i>		<i>D. brevis</i>		Phối hợp (<i>D. folliculorum</i> + <i>D. brevis</i>)	
	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)
	184	40,6	154	34,0	115	25,4

Trong số 453 trường hợp nhiễm *Demodex*, xác định được nhiễm *D. folliculorum* 40,6% (184/453), nhiễm *D. brevis* 34,0%(154/453) và nhiễm đồng thời hai loài

25.4%(115/453)

3.2. Các yếu tố liên quan đến nhiễm *Demodex* spp.

Bảng 3. Các yếu tố liên quan đến nhiễm *Demodex* spp.

Số người đến khám (n=848)			Nhiễm <i>Demodex</i> spp.				P
			Không		Có		
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
1	Giới tính	Nam (n= 238)	65	44,2	82	55,8	> 0,05
		Nữ (n = 610)	174	49,3	179	50,7	
2	Nhóm tuổi	< 15 tuổi (n = 15)	13	86,7	2	13,3	< 0,01
		15-40 tuổi (n = 461)	246	53,4	215	46,6	
		>40 tuổi (n = 372)	134	36,0	238	64	

Số người đến khám (n=848)			Nhiễm Demodex spp.				P
			Không		Có		
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
3	Nghề nghiệp	Buôn bán (n=147)	65	44,2	82	55,8	> 0,05
		Văn phòng (n =93)	48	51,6	45	48,4	
		Nông dân (n =60)	28	46,7	32	53,3	
		Công nhân (n =74)	36	48,6	38	51,4	
		Khác (n = 474)	219	46,2	255	53,8	
4	Sử dụng mỹ phẩm	Có (n = 167)	73	43,7	94	56,3	> 0,05
		Không (n = 681)	322	47,3	359	52,7	
5	Môi trường tiếp xúc	Bụi bẩn (n = 436)	196	45,0	240	55,0	> 0,05
		Hóa chất (n = 20)	9	45,0	11	55,0	
		Máy lạnh (n = 265)	128	48,3	137	51,7	
		khác (n = 127)	63	49,6	64	50,4	
6	Cơ địa da	Da nhờn (n = 318)	100	31,4	218	68,6	< 0,01
		Da khô (n = 257)	156	60,7	102	39,3	
		Da hỗn hợp (n = 273)	139	51,3	133	48,7	

Độ tuổi > 40 nhiễm cao lên đến 64%(238/372), tiếp theo tuổi 15-40 nhiễm 46,6% (215/461), dưới 15 tuổi 13,3%(2/15) (P<0,01). Cơ địa da nhờn nhiễm cao 68,6%(218/318), da hỗn hợp nhiễm 4,8%(133/273) và da khô nhiễm 39,3%(102/257) (P<0,01).

Bảng 4. Triệu chứng lâm sàng của người nhiễm Demodex spp.

Số người đến khám (n=848)			Nhiễm Demodex spp.				P
			Không		Có		
			Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
1	Triệu chứng ngứa trên da mặt	Ngứa nhiều trên da mặt (n= 305)	105	34,4	200	65,6	<0,01
		Ngứa châm chích như kiến bò trên da mặt (n= 440)	237	53,9	203	46,1	
		Không ngứa trên da mặt (n= 103)	53	51,5	50	48,5	
2	Tình trạng nổi mụn	Thường xuyên (n= 87)	44	50,6	43	49,4	> 0,05
		Đôi khi (n= 437)	198	45,3	239	54,7	
		Không nổi mụn (n= 324)	153	47,2	171	52,8	

Ngứa nhiều trên da mặt nhiễm cao 65,6%(200/305), (50/103) (P <0,01)
 ngứa châm chích như kiến bò trên da mặt nhiễm 46,1%(203/440), không ngứa trên da nhiễm 48,5%

3.3. Thành phần loài với giới tính, tình trạng da của bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp.

Bảng 5. Thành phần loài với giới tính của bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp.

Thành phần loài	Giới tính				P
	Nam (n,%)		Nữ (n,%)		
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<i>D. folliculorum</i>	21	15,9	164	51,1	< 0,01
<i>D. brevis</i>	91	68,9	63	19,6	
Phối hợp	20	15,2	94	29,3	
Tổng	132		321		

D. brevis ký sinh ở nam giới chiếm 68,9%(91/132) cao hơn so với nữ giới, nữ giới nhiễm *D. folliculorum* cao hơn chiếm 51,1%(164/321). (P <0,01).

Bảng 6. Thành phần loài với tình trạng da bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp.

Thành phần loài	Da nhờn		Da khô		Da hỗn hợp		P
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
<i>D. folliculorum</i> (184)	71	38,6	43	23,4	70	38,0	> 0.05
<i>D. brevis</i> (154)	85	55,2	32	20,8	37	24,0	< 0.001
Phối hợp (115)	62	53,5	27	23,7	26	20,2	< 0.001

Da nhờn nhiễm *D. brevis* 55,2%(85/154) và nhiễm phối hợp 53,5%(62/115) (P <0,01).

do phần lớn người đến khám đã có những biểu hiện, dấu hiệu nhiễm và các yếu tố khác như kỹ thuật lấy mẫu, soi mẫu...

4. BÀN LUẬN

4.1. Tình trạng nhiễm

Trong số bệnh nhân tới khám được chỉ định soi da tìm *Demodex* spp. ở (bảng 1) cho thấy nhiễm *Demodex* spp. chiếm tỷ lệ cao 53,4%(453/848) và cường độ nhiễm *Demodex* spp. ở (bảng 2) cho thấy cường độ ≥ 5 con /vi trường chiếm 64,5%(292/453) và < 5 con /vi trường chiếm 35,5% (161/453). Nghiên cứu của Hà Nguyễn Phương Anh (2009) [1], Cao Ys và cộng sự (năm 2009) [6], Ya-e-Zhao (năm 2011) [9], Huỳnh Hồng Quang và cộng sự năm 2013 [3]. Sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. của các nghiên cứu có lẽ do quá trình chọn mẫu, cỡ mẫu, nghiên cứu này có tỷ lệ nhiễm cao

Về thành phần loài *Demodex*, nghiên cứu đã tìm thấy hai loài ở 453 trường hợp nhiễm *Demodex* spp., trong đó nhiễm *D. folliculorum* chiếm 40,6%(184/848), nhiễm *D. brevis* chiếm 34,0%(154/453) và nhiễm đồng thời hai loài chiếm 25,4%(115/453). Cả hai loài này được tìm thấy ở mặt, 2 cánh mũi, gần lông mi, lông mày và một số nơi khác trên cơ thể. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như ghi nhận của Lê Thành Đồng và cộng sự (2018) trong sách các loài chân đốt y học ở khu vực Nam bộ - Lâm Đồng [2]

4.2. Các yếu tố liên quan đến nhiễm *Demodex* spp

Phân tích các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở 848 trường hợp đến khám tại Khoa khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng (Viện Sốt rét-



Ký sinh trùng-Côn trùng TP.HCM): Về giới tính, nam nhiễm 55,5%(132/238), nữ nhiễm 52,6%(321/610); (bảng 3), độ tuổi và cơ địa da thì có mối liên quan chặt đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ($P < 0,001$), cụ thể: Độ tuổi > 40 nhiễm cao 64%(238/372), tiếp theo là 15-40 tuổi 46,6%(215/461) và dưới 15 tuổi 13,3%(2/15) có thể là do trẻ em hệ thống tuyến nhờn chưa hoàn thiện nên sản xuất bã nhờn ít hơn so với người lớn tuổi và chân lông của trẻ em khít hơn làm cản trở sự xâm nhập của *Demodex* spp.. Cơ địa da nhờn tỷ lệ nhiễm cao 68,6%(218/318), da hỗn hợp nhiễm 48,7%(133/273) và da khô nhiễm 39,3%(102/257) ($P < 0,01$). Kết quả nghiên cứu này tương tự như nghiên cứu “Tỷ lệ nhiễm *Demodex* ở người đến khám da mặt tại bệnh viện Đà Nẵng” của Lê Xuân Vinh, Nguyễn Văn Minh, Phan Cẩm Ly [4]

Hai triệu chứng lâm sàng nghiên cứu quan tâm (bảng 4) ngứa trên da mặt và tình trạng nổi mụn, thấy triệu chứng ngứa trên da mặt có liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ($P < 0,01$): Ngứa nhiều trên da mặt nhiễm cao 65,6%(200/305), ngứa châm chích như kiến bò trên da mặt nhiễm 46,1%(203/440), không ngứa trên da nhiễm là 48,5%(50/103).

4.3. Thành phần loài với giới tính, tình trạng da của bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp.

Phân tích số liệu (bảng 5) kết quả cho thấy *D. brevis* ký sinh ở nam giới tỷ lệ nhiễm 68,9%(91/132) cao hơn so với nữ giới, ở nữ giới nhiễm *D. folliculorum* cao hơn nam giới chiếm 51,1%(164/321). Thành phần loài với giới tính của bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. có mối liên quan ($P < 0,01$). Điều này có thể là lỗ chân lông ở làn da nam giới thường to hơn nữ giới khá nhiều. Lỗ chân lông to, hormone androgen tăng tiết khiến tuyến dầu tăng mạnh nên lượng bã nhờn (dầu) tiết ra ở nam giới cũng nhiều hơn so với nữ giới tạo điều kiện cho *D. brevis* phát triển. Ở (bảng 6) tỷ lệ nhiễm trên cơ địa da nhờn *D. brevis* 55,2%(85/154), nhiễm phối hợp 53,5%(62/115). Khảo sát thành phần loài với tình trạng da cho thấy: bệnh nhân da nhờn nhiễm *D. brevis* và nhiễm phối hợp 2 loài có mối liên quan với nhau ($P < 0,01$)

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được tỷ lệ nhiễm, cường độ

nhiễm, thành phần loài, cường độ nhiễm *Demodex* spp. và một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. của những người đến khám tại Khoa khám bệnh chuyên khoa ký sinh trùng (Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. HCM).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hà Nguyên Phương Anh, Tình hình mắc bệnh và đặc điểm lâm sàng bệnh nhân bị viêm da *Demodex* spp., 2009.
- [2] Lê Thành Đồng và cộng sự, Các loài chân đốt y học ở khu vực Nam bộ - Lâm Đồng. Nhà xuất bản Y học, 2018.
- [3] Huỳnh Hồng Quang và cộng sự, “Một số đặc điểm dịch tễ và lâm sàng trên bệnh nhân có tổn thương da do ký sinh trùng chân khớp *Demodex* spp”. Tạp chí PCSR và các bệnh KST, số 3 năm 2013, trang 50-63, 2013.
- [4] Triệu Nguyên Trung, Nguyễn Văn Chương, Huỳnh Hồng Quang, Viêm da gây ngứa và dị ứng do một loài ký sinh trùng nhỏ thuộc nhóm chân khớp *Demodex* spp. lây truyền từ động vật sang người, Chuyên đề Viện SR-KST-CT Quy Nhơn, 2013.
- [5] Anthonie Cornelis Oudemans, 1936 “*Demodex folliculorum* (Simon VI. 1842)”. Kritisch Historisch Overzicht der Acarologie. Band C. Brill. pp. 1146–1179.
- [6] Cao Ys, You QX, Wang L et al., Facial *Demodex* infectin among college student in Tangshan. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2009.
- [7] Forton F, Sey B, Density of *Demodex folliculorum* in rosacea: a case-control study using standardized skin-surface biopsy. Br J Dermatol. 1993;128(6):650-659
- [8] Parvaiz Anwar Rather and Iffat Hassan, Human *Demodex* Mite: The Versatile mite of Dermatological importance. Indian J Dermatol, 2014.
- [9] Ya-e Zhao, “Facial dermatosis associated with *Demodex*: a case control study”. Journal of Zhejiang University- SCENCE B 12(8), 2011.

DETERMINATION THE PRESENCE OF *TOXOCARA SPP* BY MOLECULAR BIOLOGY TECHNIQUES IN SOUTHERN VIET NAM

Le Thanh Dong, Do Thi Phuong Linh, Pham Nguyen Thuy Vy*, Hoang Anh, Nguyen Thi Van Anh, Dang Trinh Minh Anh, Nguyen Huynh To Nhu

Institute of Malarialogy-Parasitology-Entomology Ho Chi Minh City - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 16/12/2022

Revised 12/01/2023; Accepted 10/02/2023

ABSTRACT

Objective: Toxocariasis is a zoonotic disease transmitted from animals to humans, usually caused by two main species, *Toxocara canis* from dogs and *Toxocara cati* from cats. The following recent studies provide that *Toxocara malaysiensis* species parasitize on cats and capable of causing disease in humans to be studied and clarified.

Methods: In this study, molecular biology techniques were applied through amplification of the atp6 gene, sequencing and constructing a phylogenetic tree to identify *Toxocara* spp.

Results: The results showed the sample collected in Dong Thap have sequence *Toxocara canis* homology with *Toxocara canis* Srilanka (JN593098); *Toxocara canis* China (AM411106) with distance identify 98,4% -99,6% and initial detection the presence of *Toxocara malaysiensis* similarity 100% with *Toxocara malaysiensis* China (AM412316) that in cats collected in Ho Chi Minh City.

Conclusion: This result is similar to the study that spotted *T.malaysiensis* species in Hanoi, not yet discovered *T.cati* in Vietnam. The question of whether the strain *T.malaysiensis* is the dominant species in Vietnam.

Key word: *T.malaysiensis*, *Toxocara canis* , Toxocariasis, Cats, Dogs, Ho Chi Minh City.

*Corresponding author

Email address: thuyvy83.pntv@gmail.com

Phone number: (+84) 983 092 900



XÁC ĐỊNH CÁC LOÀI *TOXOCARA SPP.* BẰNG KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ Ở MIỀN NAM VIỆT NAM

Lê Thành Đồng, Đỗ Thị Phượng Linh, Phạm Nguyễn Thúy Vy*, Hoàng Anh, Nguyễn Thị Vân Anh, Đặng Trịnh Minh Anh, Nguyễn Huỳnh Tố Như

Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 16 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 12 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 10 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Bệnh Toxocariasis là bệnh động vật truyền sang người, thường do 02 loài chính gây ra là *Toxocara canis* (ký sinh trên chó) và *Toxocara cati* (ký sinh trên mèo). Tuy nhiên theo một số nghiên cứu hiện nay, loài *Toxocara malaysiensis* còn được ghi nhận ký sinh trên mèo và khả năng gây bệnh của loài này trên người hiện là vấn đề cần được nghiên cứu làm rõ.

Phương pháp nghiên cứu: Trong nghiên cứu này đã áp dụng kỹ thuật sinh học phân tử thông qua khuếch đại đoạn gen atp6, giải trình tự và xây dựng cây phân loại để định danh loài *Toxocara spp* thu thập được tại một số tỉnh miền Nam Việt Nam.

Kết quả: Ghi nhận các mẫu thu thập ở Đồng Tháp có chủng *T.canis* tương đồng với chủng *Toxocara canis* Srilanka (mã JN593098); *Toxocara canis* Trung Quốc (mã AM411106) với khoảng cách di truyền cho thấy mức độ tương đồng từ 98,4% -99,6% và bước đầu ghi nhận có sự hiện diện của *Toxocara malaysiensis* mức độ tương đồng 100% với loài *Toxocara malaysiensis* Trung Quốc (mã AM412316) trên mèo thu thập tại thành phố Hồ Chí Minh.

Kết luận: Kết quả này tương đồng với nghiên cứu phát hiện loài *T.malaysiensis* tại Hà Nội, chưa phát hiện loài *T.cati* tại Việt Nam. Câu hỏi đặt ra liệu chủng *T.malaysiensis* có phải là loài chiếm ưu thế tại Việt Nam hay không.

Từ khóa: *T.malaysiensis*, *Toxocara canis*, *Toxocariasis*, mèo, chó, Hồ Chí Minh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Toxocariasis là bệnh động vật truyền sang người, thường do 02 loài chính gây ra là *Toxocara canis* được ghi nhận ký sinh trên chó và *Toxocara cati* được ghi nhận ký sinh trên mèo, thuộc họ Toxocaridae, lớp Nematoda. Ở Việt Nam, dịch tễ học của bệnh toxocariasis ở chó, mèo và người còn chưa được biết một cách chi tiết, đặc

biệt thành phân loài *Toxocara spp.* lưu hành, ký sinh và gây bệnh hầu như chưa được xác định một cách có hệ thống, hầu hết được xét nghiệm bằng huyết thanh học sử dụng ELISA với độ chính xác không cao. Hiện nay, một quan điểm mặc định được cho là *T. canis* chiếm ưu thế ở chó và *T. cati* ở mèo, nhưng rất ít nghiên cứu được tiến hành ở động vật nuôi để xác định chính xác phân loại *Toxocara* trên chó và mèo ở Việt Nam [1].

*Tác giả liên hệ

Email: thuyvy83.pntv@gmail.com

Điện thoại: (+84) 983 092 900

Năm 1998, theo nghiên cứu Zhu và cộng sự đã sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử chứng minh loài giun đũa được phát hiện trong mèo tại Malaysia đại diện cho một loài riêng biệt với *T. canis* và *T. cati* với đặc điểm bên ngoài được cho là *Toxocara sp. cf. canis*, tuy nhiên loài này khác với *T. canis* một số điểm như ở hình dạng của các alae cổ tử cung ở mặt cắt ngang, chiều dài ống và cấu trúc môi. Nó cũng khác biệt với các loài khác được gán cho *Toxocara* và được đặt tên là *Toxocara malaysiensis*. Năm 2006, tại Trung Quốc cũng ghi nhận có loài giun đũa trên mèo có hình thái học giống *Toxocara malaysiensis* có đặc tính di truyền giống loài ở Malaysia. Đây là báo cáo đầu tiên phát hiện loài *T. malaysiensis* trên mèo ở Trung Quốc. Tại Việt Nam, tác giả Lê Thanh Hòa và cộng sự (2016) công bố nghiên cứu 15 chủng *Toxocara spp* trên mèo của ở miền Bắc Việt Nam có mức độ đồng nhất đạt 99,3-100% với loài *Toxocara malaysiensis*. Tuy nhiên, khả năng gây bệnh của các loài này trên người hiện là vấn đề cần được nghiên cứu làm rõ hiện nay. Trước tình hình thực tế như trên, chúng tôi thực hiện xác định các loài *Toxocara spp.* từ mẫu giun đũa trưởng thành bằng sinh học phân tử thu thập tại Miền Nam Việt Nam

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn mẫu chọn: những mẫu giun trưởng thành thu được từ chó, mèo.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu:

Nghiên cứu được thực hiện tại các khu vực miền Nam Việt Nam.

Thời gian: từ tháng 05/2020 đến tháng 05/2022

2.3. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu ngang mô tả

2.4. Phương pháp thu thập mẫu

Thu thập mẫu giun trưởng thành thông qua hoạt động “Xét nghiệm và xổ giun miễn phí cho chó, mèo khu vực miền Nam Việt Nam” tại Viện Sốt rét - KST - CT TP. HCM. Các trường hợp chó, mèo có kết quả xét nghiệm mẫu phân dương tính với *Toxocara spp* sẽ được tiến hành tẩy, xổ để thu thập giun trưởng thành và thu thập có chủ đích từ trại chó mèo tại các tỉnh Nam Bộ.

Mẫu giun trưởng thành sau khi tiến hành định danh bằng hình thái học tại Labo Ký sinh trùng; được bảo quản trong dung dịch ethanol ở -20°C và phân tích gen

học tại Labo Sinh học phân tử của Viện Sốt rét - KST - CT TP. Hồ Chí Minh.

2.5. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.5.1. Kỹ thuật định danh bằng hình thái học

Mẫu giun trưởng thành thu thập được định danh hình thái học bằng kính hiển vi quang học để xác định loài *Toxocara spp.*

2.5.2. Kỹ thuật định danh bằng gen học

Kỹ thuật tách chiết: Mẫu được nghiền nát, sau đó được ngâm trong 180 µl lysis buffer và 25 µl Proteinkinase trước khi thực hiện tách chiết theo yêu cầu của nhà sản xuất

Kỹ thuật phân tích mẫu: Áp dụng quy trình được công bố của tác giả Lê Thanh Hòa và cộng sự khuếch đại đoạn gen *atp6*; sản phẩm khuếch đại được giải trình tự để phân tích đa chuỗi. Sử dụng chương trình Blast của Ngân hàng gen bank (NCBI) để so sánh trình tự nucleotide, từ đó định danh loài *Toxocara spp* thu được.

2.5.3. Phân tích chuỗi gen và xử lý số liệu

Trình tự Nucleotide được xử lý bằng phần mềm Bioedit; sau đó sử dụng trình tự *atp6* của *Toxocara cati* Ấn Độ (KJ777175); *Toxocara cati* Trung Quốc (AM411622); *Toxocara canis* Srilanka (JN593098); *Toxocara canis* Trung Quốc (AM411106); *Toxocara vitulorum* Ấn Độ (KJ777178); *Toxocara leonina* Trung Quốc (KC902750) và *Toxocara malaysiensis* Trung Quốc (AM412316) trong cơ sở dữ liệu GenBank, xây dựng cây phả hệ trên phần mềm MEGA11, thể hiện mối quan hệ về loài. Cây phả hệ này được xây dựng dựa vào phương pháp Maximum Likelihood được lặp lại bootstrap 1000 lần, khoảng cách di truyền sử dụng phương pháp Kimura 2-parameter.

2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu y sinh học

Đề tài được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Viện Sốt rét - KST - CT TP. HCM phê duyệt về khía cạnh đạo đức vì chỉ tẩy xổ giun cho mèo, không can thiệp về vấn đề khác.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả thu thập mẫu giun đũa chó mèo

Các loài chó, mèo được xét nghiệm thông qua hoạt động “Xét nghiệm và xổ giun miễn phí cho mèo tại khu vực miền Nam Việt Nam” tại Viện Sốt rét - KST -

87,22 %- 87,48 % với *Toxocara vitulorum* ; 04 chủng *Toxocara* spp được tẩy xổ từ chó được xác định tương đồng 99-100% *T. canis*, khoảng 89,65% là *T.cati*; 87,7% là *T.malaysiensis*; 89,2 % *T.vitulorum*.

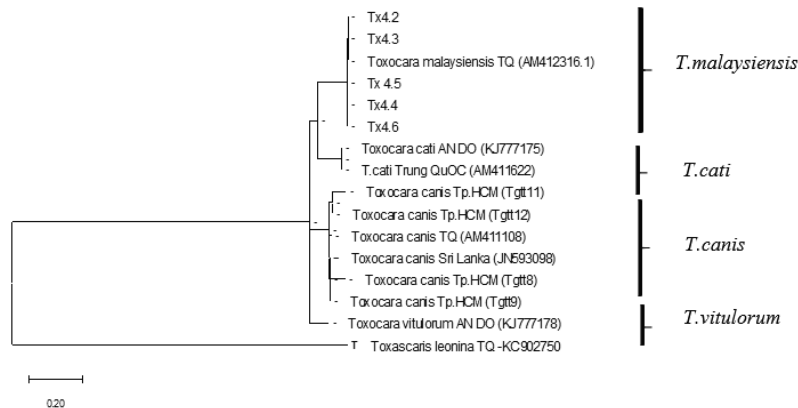
Mối quan hệ phả hệ về loài giữa các loài *Toxocara* tìm được ở Miền Nam Việt Nam và thế giới

Phân tích chuỗi gen theo cây phả hệ đoạn gen atp6 trên phần mềm MEGA11, thể hiện mối quan hệ về loài của 16 chủng *Toxocara* spp bao gồm 07 loài tham chiếu đại diện cho các loài trên thế giới bao gồm loài *Toxocara cati* Ấn Độ (KJ777175); *Toxocara cati* Trung Quốc (AM411622); *Toxocara canis* Srilanka (JN593098); *Toxocara canis* Trung Quốc (AM411106); *Toxocara vitulorum* Ấn Độ (KJ777178); *Toxocara leonina* Trung Quốc (KC902750) và *Toxocara malaysiensis* Trung

Quốc (AM412316), 05 chuỗi trình tự atp6 thu thập từ mèo tại Tp. Hồ Chí Minh (mã Tx4.2, Tx4.3, Tx 4.4, Tx 4.5, Tx 4.6), 04 chuỗi trình tự atp6 thu thập từ chó ở Đồng Tháp (mã Tggt08; Tggt09; Tggt11; Tggt12)

Dựa vào cây phả hệ trên chuỗi gen atp6 cho thấy các chủng phân thành 05 nhóm riêng biệt, trong đó: các mẫu giun đũa mã Tggt8, Tggt9 thu thập ở Đồng Tháp cùng nhánh với loài *T.canis* ở Srilanka (mã JN593098) và mẫu giun đũa mã Tggt11,Tggt12 cùng nhánh với loài *T.canis* ở Trung Quốc(AM411106); 05 mẫu giun trưởng thành thu thập trên mèo ở Tp. Hồ Chí Minh tập hợp cùng nhóm với loài *Toxocara malaysiensis* Trung Quốc (AM412316). Điều này khẳng định 04 mẫu thu thập trên chó tại Đồng Tháp thuộc loài *Toxocara canis* và 05 mẫu thu thập trên mèo tại Tp. Hồ Chí Minh thuộc loài *Toxocara malaysiensis*. (hình 3).

Hình 3: Cây phân loại được xây dựng dựa vào đoạn gen atp6



4. BÀN LUẬN

Theo báo cáo của Lê Thanh Hòa và cộng sự [1] cho thấy đã phát hiện loài *T.malaysiensis* từ giun đũa trưởng thành thu thập từ mèo tại Hà Nội dựa trên đoạn gen atp6 và theo công bố của tác giả Lê Thanh Hòa và cộng sự, cũng như trong công bố của nghiên cứu này, chưa phát hiện loài *T.cati* tại Việt Nam. Câu hỏi đặt ra liệu loài *T.malaysiensis* có phải là loài chiếm ưu thế trên mèo tại Việt Nam hay không?

Hiện nay trên thế giới đã định danh nhiều loài *Toxocara* như *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Toxocara malaysiensis* và *Toxascaris leonina*, là những loài giun đũa lây qua đường tiêu hóa từ động vật có vú sang người thuộc họ Canidae và Felidae. Rất nhiều nghiên cứu khác nhau cho thấy đoạn ITS cung cấp

những bằng chứng đáng tin cậy về chỉ thị di truyền để xác định *T. canis*, *T. cati* và *T. leonina* (Jacobs et al., 1997; Zhu et al., 2000; Li et al., 2007). Các trình tự này khác nhau từ ~26 – 50 % giữa các loài. Bằng chứng phân tử cũng chỉ ra rằng *Toxocara sp. cf. canis* từ mèo ở Malaysian phân biệt với các loài *Toxocara* khác và được đặt tên là *T. malaysiensis* có trình tự di truyền tương tự *T. cati* hơn *T. canis* (Gibbons et al., 2001). Việc phát hiện *T. malaysiensis* đã làm dấy lên nghi ngờ về việc định danh cụ thể của loài giun tròn *T. canis* từ mèo ở các vùng địa lý khác (Gasser và cộng sự, 2006) và cung cấp một thông tin về đặc điểm di truyền của các loài *Toxocara* từ động vật với các nguồn gốc địa lý khác nhau trên thế giới (Li et al., 2006).

Từ những kết quả nghiên cứu có thể thấy định danh bằng các chỉ thị phân tử sẽ cung cấp dữ liệu chính xác

hơn trong việc định danh loài *Toxocara* so với việc định danh dựa trên vật chủ.

5. KẾT LUẬN

Dựa vào kết quả phân tích trình tự atp6 của 09 mẫu *Toxocara* spp thu thập trên chó, mèo tại miền Nam Việt Nam có 04 mẫu thu thập trên chó tại Đồng Tháp thuộc loài *Toxocara canis* với tỷ lệ tương đồng 99-100% *T. canis* Trung Quốc và *T. canis* Srilanka và 05 mẫu thu thập trên mèo tại Tp. Hồ Chí Minh thuộc loài *Toxocara malaysiensis* với tỷ lệ tương đồng 100% với loài *Toxocara malaysiensis* Trung Quốc (AM412316), chưa phát hiện ra *Toxocara cati* trên mèo trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lê Thanh Hòa, Nguyễn Thị Khuê, "Xác định bệnh giun đũa ở mèo (toxocariasis) tại Việt Nam do loài mới *Toxocara malaysiensis* gây ra bằng phương pháp so sánh chuỗi gen và phân tích phả hệ. "Tạp chí Khoa học và Phát triển 2016, tập 14, số 1: 54-62 Denis, Ejacobsab, và cs 1997". PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat". Acta Tropica. Volume 68, Issue 2, November 1997, Pages 191-200, 2016.
- [2] Gibbons LM, Jacobs DE, Sani RA, "Toxocara malaysiensis n.sp. (Nematoda: Ascaridoidea) from the domestic cat *Felis catus* Linnaeus," J Parasitol 2001. 87:660., 2001.
- [3] Khademvatan S(1), Rahim F, "PCR-Based Molecular Characterization of *Toxocara* spp. Using Feces of Stray Cats: A Study from Southwest Iran" PLoS One. 2013; 8(6): e65293.
- [4] Ming-Wei Li, "The occurrence of *Toxocara malaysiensis* in cats in China, confirmed by sequence-based analyses of ribosomal DNA" Parasitol;99(5):554-7. doi: 10.1007/00436-006-0194-z, 2006.
- [5] O. A. MAHDY1, "Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Toxocara* species in dogs, cattle and buffalo in Egypt", HELMINTHOLOGIA, 57, 2: 83 – 90, 2020 DOI 10.2478/helm-2020-0013, 2020.
- [6] X. Q. ZHU", D. E. JACOBS, "Molecular characterization of a *Toxocara* variant from cats in Kuala Lumpur, Malaysia" Parasitology, 117, 155–164, 1998.

THE CIRCULATION OF COCCIDIOSIS ON CHICKEN AND THE PHYLOGENETIC ANALYSIS OF *EIMERIA TENELLA* ISOLATED FROM VARIOUS LOCATIONS IN VIETNAM'S NORTH

Le Thi Lan Anh¹, Ta Phuong Anh¹, Vu Mai Linh¹, Bui Thi Huyen Thuong²,
Bui Khanh Linh^{1,*}

¹Vietnam National University of Agriculture - Gia Lam, Hanoi, Vietnam

²Chulalongkorn University, Thailand - 254 Phayathai Road, Pathumwan, Bangkok, Thailand

Received 16/12/2022

Revised 10/01/2023; Accepted 15/02/2023

ABSTRACT

Objectives: Apply molecular biology to identify, investigate phylogenetics and look for variations in the DNA sequence of *E. tenella*.

Subject and method: The study used PCR amplification of the ITS-1 gene fragment as a genetic marker, followed by sequencing and the construction of a phylogenetic tree.

Results: Among the 10 *E. tenella* isolates examined, genetic analysis revealed seven distinct genotypes and six single nucleotide polymorphisms. A phylogenetic tree was constructed with 35 sequences (3 in this study and 32 reference sequences from GenBank). According to the phylogenetic tree, the three strains of *E. tenella* isolated in this study are closely related to *E. tenella* from China and the United States. Furthermore, the majority of the stool samples tested positive for five coccidiosis species: *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. maxima*, and *E. mitis*. *E. tenella* is the species with the highest prevalence among them.

Conclusion: ITS-1 sequence-based genetic analysis can provide valuable information for in-depth studies of *E. tenella*, such as species structure and genetic variants.

Keywords: *Eimeria tenella*, nucleotide polymorphisms, phylogenetic.

*Corresponding author
Email address: bklinh5@gmail.com
Phone number: (+84) 888 945 599



SỰ LƯU HÀNH CỦA CẦU TRÙNG GÀ VÀ PHÂN TÍCH PHÁT SINH LOÀI CỦA *EIMERIA TENELLA* PHÂN LẬP TẠI MỘT SỐ ĐỊA ĐIỂM THUỘC MIỀN BẮC, VIỆT NAM

Lê Thị Lan Anh¹, Tạ Phương Anh¹, Vũ Mai Linh¹, Bùi Thị Huyền Thương²,
Bùi Khánh Linh^{1,*}

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam - Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

²Đại học Chulalongkorn, Thái Lan - 254 Phaya Thai, Pathum Wan, Bangkok, Thái Lan

Ngày nhận bài: 16 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 10 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 15 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Ứng dụng sinh học phân tử nhằm định danh, điều tra phát sinh loài và các biến thể trong trình tự DNA của *E. tenella*.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu sử dụng phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen ITS-1 làm dấu hiệu di truyền, giải trình tự và xây dựng cây phát sinh loài.

Kết quả: Phân tích di truyền cho thấy bảy kiểu gen riêng biệt và phát hiện sáu đa hình nucleotide đơn trong số 10 chủng *E. tenella* được đưa vào so sánh. Đồng thời xây dựng cây phát sinh loài được cấu trúc với 35 trình tự (3 trình tự trong nghiên cứu này và 32 trình tự tham chiếu từ GenBank). Cây phát sinh loài cho thấy ba chủng *E. tenella* phân lập được trong nghiên cứu này có mối quan hệ chặt chẽ với *E. tenella* của Trung Quốc, USA. Ngoài ra, nghiên cứu này còn cho thấy hầu hết các mẫu phân đều dương tính với 5 loài cầu trùng: *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. maxima*, *E. mitis*. Trong đó, loài có tỷ lệ lưu hành cao nhất là *E. tenella*.

Kết luận: Dữ liệu phân tích di truyền dựa trên trình tự ITS-1 có thể cung cấp thông tin quan trọng cho các nghiên cứu chuyên sâu về *E. tenella* bao gồm cấu trúc loài và các biến thể di truyền.

Từ khóa: *Eimeria tenella*, đa hình nucleotide, phát sinh loài.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành chăn nuôi gia cầm là một trong những ngành nông nghiệp quan trọng và phát triển nhanh nhất với nhu cầu về các sản phẩm từ gia cầm dự kiến sẽ tăng cao ở hiện tại và trong tương lai gần. Tuy nhiên, chăn nuôi gia cầm đang bị ảnh hưởng bởi các loại mầm bệnh

bao gồm các ký sinh trùng đơn bào. Trong đó phổ biến nhất là bệnh cầu trùng do loài ký sinh trùng đơn bào thuộc giống *Eimeria* gây ra, thiệt hại kinh tế cho căn bệnh này mang đến cho ngành chăn nuôi gia cầm đã được ghi nhận toàn thế giới (Morris và cs, 2007). Việc nhiễm một hay nhiều loài cầu trùng có thể gây giảm tăng trọng, suy dinh dưỡng, mất máu và mất nước, tăng

*Tác giả liên hệ

Email: bklinh5@gmail.com

Điện thoại: (+84) 888 945 599

cơ hội cho các bệnh truyền nhiễm kế phát. Trong số 7 loài cầu trùng phổ biến, *E. tenella* đứng đầu về khả năng gây bệnh và là nguyên nhân chính của bệnh cầu trùng manh tràng điển hình. Ở Việt Nam, tỷ lệ nhiễm cầu trùng cao lên tới 69,71%; trong đó tỷ lệ lưu hành của *E. tenella* chiếm 72,86% và chưa có dấu hiệu suy giảm (Bùi Khánh Linh và cs, 2018).

Các loài *Eimeria* riêng biệt có các đặc điểm khác nhau liên quan đến vị trí địa lý, vị trí ký sinh trong ruột, khả năng gây bệnh, các giai đoạn phân chia phôi bào, khả năng sinh sản và khả năng đáp ứng miễn dịch (McDougald và cs, 2017). Do đó, việc xác định các chủng cầu trùng *Eimeria* spp. nhanh chóng và chính xác ở động vật là rất quan trọng trong quá trình phòng ngừa và kiểm soát căn bệnh này. Thông thường, việc xác định dựa trên việc đánh giá các tổn thương đại thể điển hình và quan sát các đặc điểm hình thái của noãn nang. Các phương pháp này tốn nhiều công sức, thời gian và đòi hỏi người thực hiện phải có chuyên môn sâu do đặc điểm hình thái trùng lặp giữa các loài cầu trùng (Long và Joyner 1984). Do đó, việc phát triển các phương pháp chẩn đoán sinh học phân tử để xác định và mô tả đặc điểm của những ký sinh trùng này là rất quan trọng.

Trên thế giới, trình tự của vùng gen ITS-1 và ITS-2 được sử dụng rộng rãi để xác định loài, nghiên cứu di truyền sinh thái và phân tích phát sinh loài của các loại ký sinh trùng khác nhau, bao gồm cả *Eimeria* (Tan và cs, 2017) do các đặc tính như: dễ khuếch đại, sẵn có các vùng được bảo tồn, số lượng cụm rRNA thích hợp, và đủ lượng biến thể để phân biệt các loài có quan hệ gần.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen ITS-1 đặc trưng cho từng loài cầu trùng để định danh. Ngoài ra, còn sử dụng gen ITS1 làm dấu hiệu di truyền để điều tra phát sinh loài và các biến thể trong trình tự DNA của *E. tenella* khi so sánh với các loài *Eimeria* khác trong GenBank.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bằng phương pháp xét nghiệm phân, những mẫu phân gà được thu thập tại một số hộ chăn nuôi được xác định nhiễm với hơn 1 loài cầu trùng gà. Các mẫu phân có chứa noãn nang *Eimeria* spp. được tinh sạch bằng phương pháp tinh sạch cầu trùng và nuôi trong dung dịch $K_2Cr_2O_7$ 2% đến khi hình thành bào tử.

2.2. Phương pháp phá vỡ noãn nang cầu trùng

Một ống chứa $8,6 \times 10^4$ noãn nang cầu trùng được ly tâm 3100 rpm/ 10 phút, giữ lại cặn. Bổ sung NaClO 12%, ủ $4^\circ C$ / 2 giờ. Sau đó, bổ sung thêm NaCl bão hòa và ủ ở $55^\circ C$ / 30 phút, ly tâm 3100 rpm/ 5 phút, giữ lại phần dịch nổi. Rửa dịch nổi 2-3 lần với nước cất, cuối cùng giữ lại phần cặn có chứa noãn nang đã phá vỡ.

2.3. Phương pháp tách chiết DNA

Noãn nang sau khi phá vỡ vỏ được ủ với hỗn hợp dung dịch (TE pH 8,0, 10% SDS và proteinase K) ở $37^\circ C$ trong 1 giờ. DNA được tách chiết bằng cách sử dụng hoá chất DirectPCR Lysis Reagent (Cell), Viagen theo hướng dẫn của nhà sản xuất

2.4. Phương pháp PCR để xác định loài

Phản ứng khuếch đại PCR được thực hiện trong thể tích phản ứng 25 μl chứa 2 μl DNA, 1 μl (10 pmol/ μl) mỗi mỗi đặc trưng cho từng loài (Bảng 1) và 12,5 μl 2X MyTaq HS mix (Meridian) và 8,5 μl PCR-water. Chu kỳ nhiệt của phản ứng bao gồm: biến tính ở $95^\circ C$ / 5 phút, 35 chu kỳ ở $95^\circ C$ / 30 giây, $58-65^\circ C$ / 30 giây (thay đổi theo từng loại mỗi trong Bảng 1), $72^\circ C$ / 1 phút, và bước kéo dài cuối cùng ở $72^\circ C$ / 4 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%.



Bảng 1. Danh sách các loại mồi ITS -1 đặc hiệu cho từng loài Eimeria sử dụng trong nghiên cứu (Haug và cs, 2007)

Loài	Tên mồi	Primer sequence 5'-3'	Kích thước (bp)	Nhiệt độ gắn mồi
<i>E. brunetti</i>	EBF5	5-CTGGGGCTGCAGCGACAGGG-3	183	58
	EBR3	5-ATCGATGGCCCCATCCCGCAT-3		
<i>E. maxima</i>	EmaF	5-GTGGGACTGTGGTGATGGGG-3	205	65
	EmaR	5-ACCAGCATGCGCTCACAACCC-3		
<i>E. mitis</i>	EmiF2	5-GTTTATTTCTGTCGTCGTCGCG-3	330	65
	EmiR3	5-GTATGCAAGAGAGAATCGGGATTCC-3		
<i>E. necatrix</i>	ENF4	5-AGTATGGGCGTGAGCATGGAG-3	160	58
	ENR3	5-GATCAGTCTCATCATAATTCTCGCG-3		
<i>E. tenella</i>	ETF2	5-AATTTAGTCCATCGCAACCCTTG-3	278	65
	ETR	5-CGAGCGCTCTGCATACGACA-3		
<i>E. praecox</i>	EPF2	5-CATCGGAATGGCTTTTTGAAAGCG-3	215	65
	EPR3	5-GCATGCGCTAACAACTCCCCTT-3		
<i>E. acervulina</i>	EAF2	5-GGGCTTGGATGATGTTTGCTG-3	145	65
	EAR3	5-GCAATGATGCTTGCACAGTCAGG-3		

2.5. Giải trình tự và phân tích cây phát sinh loài

Sản phẩm PCR dương tính với *Eimeria tenella* được gửi đi giải trình tự tại trung tâm APICAL SCIENTIFIC Laboratory, Selangor, Malaysia. Các trình tự thu được sẽ được so sánh trên GeneBank. Các trình tự của gene ITS-1 sẽ được căn chỉnh bằng cách sử dụng chương trình ClustalW của phần mềm MEGA7. Phân tích phát sinh loài được thực hiện bằng cách sử dụng Maximum-likelihood dựa trên mô hình Kimura-2 (Tamura và cs, 2013). Thông số Bootstrap 1000 lần lặp lại và giá trị phần trăm được thể hiện tại mỗi nút. *Toxoplasma gondii* (AJ628254) được sử dụng như các loài ngoài nhóm để hình thành cây phát sinh.

2.6. Xây dựng mạng lưới haplotype

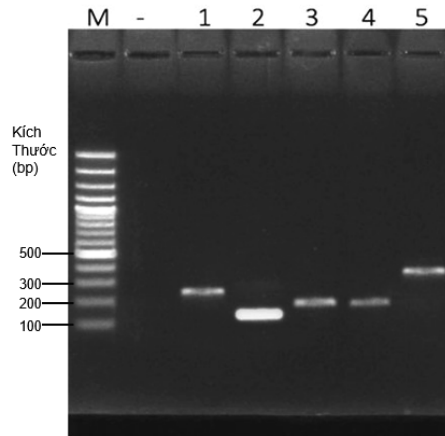
Tất cả các trình tự của *E. tenella* được nhập vào phần mềm Network 5.0 để tạo một mạng lưới haplotype nhằm kiểm tra mối liên hệ phát sinh loài giữa các chủng *E. tenella* trong nghiên cứu này và một số nghiên cứu khác đã được công bố trên toàn cầu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả định danh cầu trùng bằng phương pháp PCR

Tổng số có 20 mẫu cầu trùng được thu tập tại 4 địa điểm khác nhau. Định danh chính xác các loài cầu trùng lưu hành tại khu vực nghiên cứu bằng các cặp mồi đặc hiệu khuếch đại vùng trình tự ITS-1. Kết quả cho thấy hầu hết các mẫu phân thu thập tại địa điểm nghiên cứu đều dương tính với 5 loài cầu trùng: *E. tenella* (15/20, 75%); *E. acervulina* (14/20, 70%); *E. praecox* (14/20, 70%); *E. maxima* (12/20, 60%); *E. mitis* (6/20, 30%). Trong đó, loài có tỷ lệ lưu hành cao nhất là *E. tenella*, với kích thước gene khoảng 278bp (Hình 1) và không phát hiện sự lưu hành của *E. brunetti* và *E. necatrix*. Điều này tương đồng với các nghiên cứu khác trên thế giới, khi tác giả nghiên cứu trên 200 mẫu trong đó tỷ lệ nhiễm cầu trùng là 64% và *E. tenella* là loài phổ biến nhất (Mohammad và cs, 2011). Tương tự, Heo và cs, (2004) đã cho thấy *E. tenella* có tỷ lệ nhiễm cao nhất (78%) và *E. necatrix* có tỷ lệ nhiễm thấp nhất (36%).

Hình 1. Kết quả điện di DNA khuếch đại đoạn ITS trên các loài Eimeria



Ký hiệu: M:Marker; (-) : đối chứng âm; Giếng 1: *E. tenella*; Giếng 2: *E. acervulina*; Giếng 3: *E. praecox*; Giếng 4: *E. maxima*; Giếng 5: *E. mitis*.

3.2. Phân tích đa dạng trình tự của *E. tenella*

Ba sản phẩm PCR dương tính với *E. tenella* thuộc 3 địa điểm khác nhau được giải trình tự gene. Các trình tự sau đó được so sánh với các trình tự trong cơ sở dữ liệu NCBI bằng cách sử dụng BLAST cho nucleotide. Ba mẫu PCR dương tính được xác định trình tự với *E. tenella* cho thấy 99,19%-100% tương đồng với trình tự DNA của *E. tenella* được lưu trong cơ sở dữ liệu GenBank.

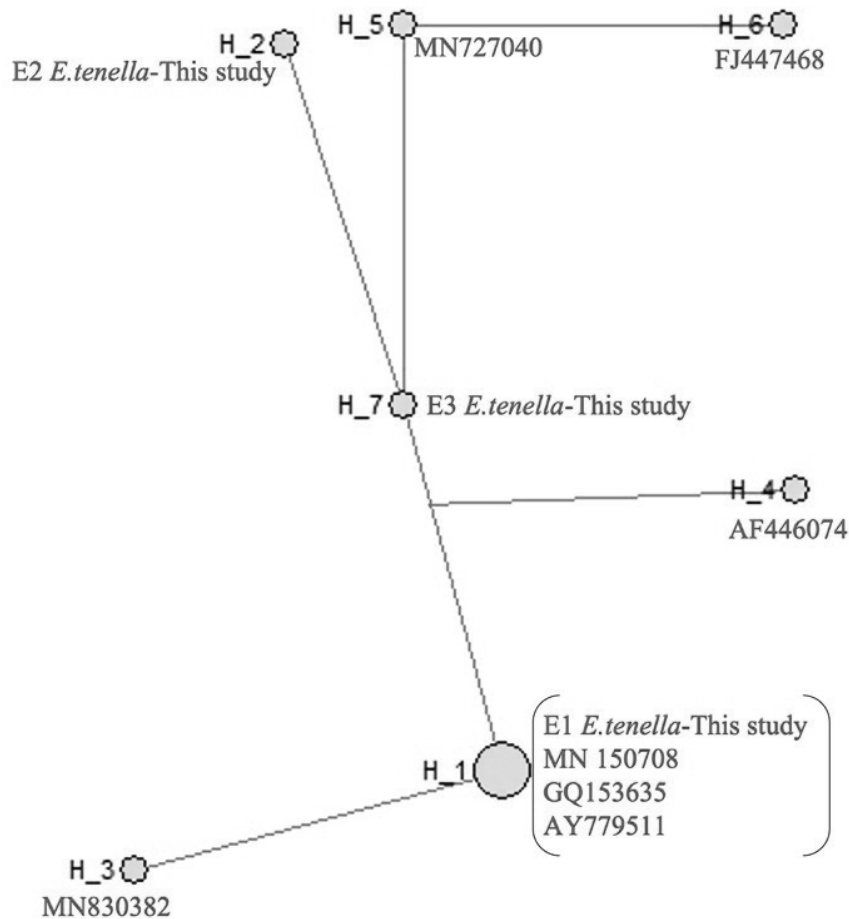
Bảy kiểu gen đơn bội (Haplotype) được xác định từ 10 trình tự ITS-1. Sau khi sắp xếp bảy kiểu gen ITS-1 với

các trình tự tham chiếu của *E. tenella* (Hình 2) và phát hiện sáu SNP, là kết quả của việc thay thế nucleotide ở các vị trí: 245, 251, 254, 283, 305 và 344. Có hai lần chuyển đoạn (A↔T), một lần (G↔T), một lần (A↔C), một lần (A↔G) và một lần (T↔C) (Bảng 2). Tiếp theo, chúng tôi sử dụng NETWORK 5.0 để xây dựng mạng lưới phát sinh loài theo phương pháp nổi trung bình đã minh họa những phát hiện này (Hình 2). Một nút tròn lớn đã được tính toán cho tập hợp kiểu gen đến từ Ấn Độ, Trung Quốc, Mỹ và mẫu E1 trong nghiên cứu này, điều này cho thấy sự phổ biến của haplotype được bảo tồn. Ngược lại, mẫu E2 và E3 cùng với các trình tự tham khảo khác đến từ Pakistan, Nam Phi, Úc, Hàn Quốc được biểu hiện thông qua các nút nhỏ có liên kết lỏng lẻo cho thấy sự đa dạng haplotype có cấu trúc hẹp.

Bảng 2. Vị trí nucleotide và sự phân bố của bảy kiểu gen từ 10 trình tự của *E. tenella*

Haplotype	Vị trí Nucleotide						Số lượng phân lập
	245	251	254	283	305	344	
H_1	A	G	T	A	A	T	4
H_2	T	C	1
H_3	.	.	.	C	.	.	1
H_4	.	T	A	C	.	C	1
H_5	G	C	1
H_6	.	T	.	.	G	C	1
H_7	C	1
Tổng							10

Hình 2. Mạng lưới Haplotype dựa trên gene ITS-1



Kích thước của các điểm tròn phản ánh mức độ phổ biến của mỗi loại haplotype và độ dài của các đường nối tỷ lệ với số bước đột biến giữa các haplotype

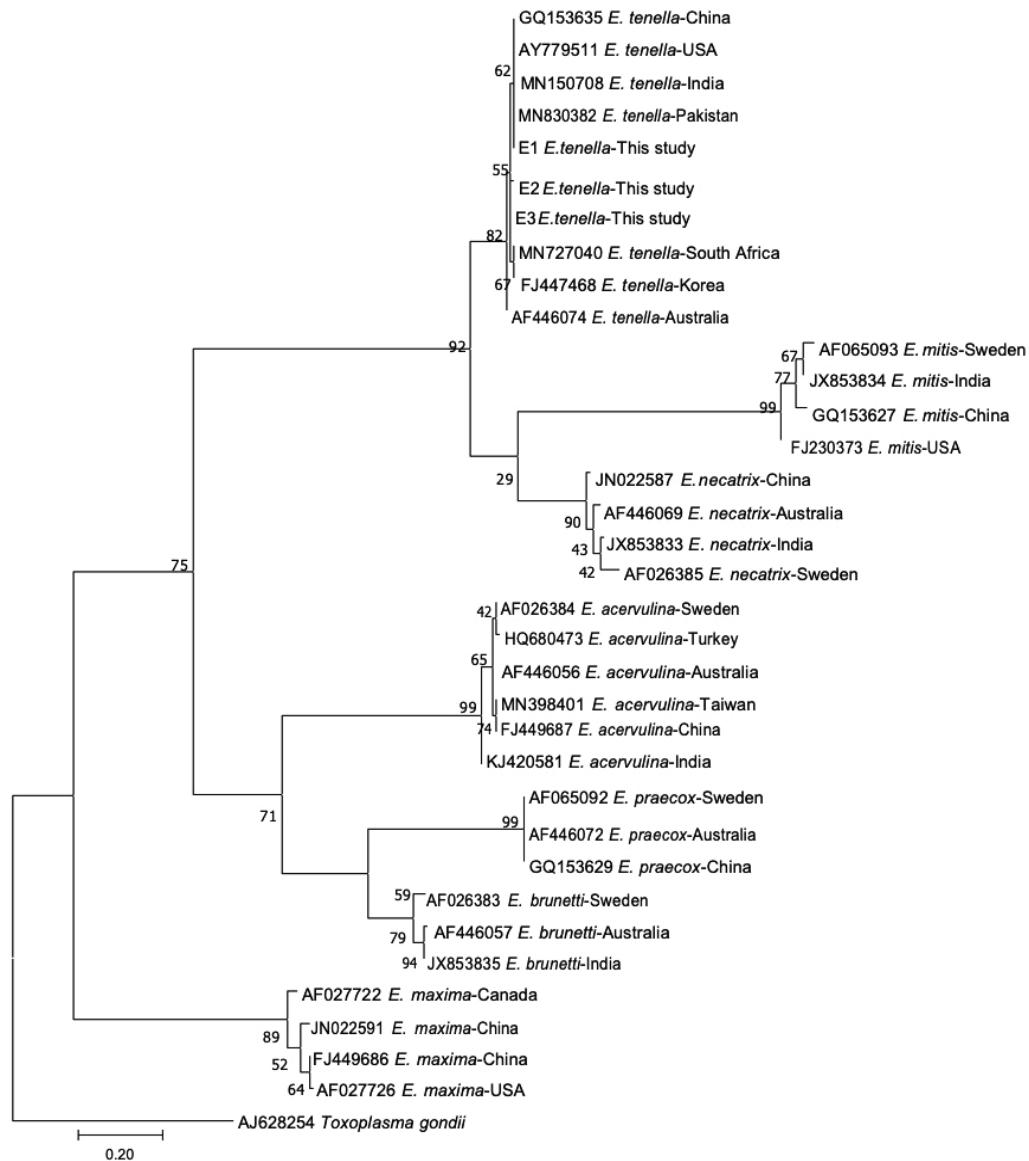
3.3. Phân tích phát sinh loài của *E. tenella*

Đa dạng di truyền giữa trình tự ITS-1 phát hiện trong nghiên cứu này (n = 3) được phân tích cùng với 30 trình tự của các loài *Eimeria* khác nhau được lấy từ Ngân hàng gen NCBI, đại diện từ Châu Á, Châu Âu, Châu Mỹ, Châu Phi, Châu Úc và *Toxoplasma gondii* (AJ628254). Cây phát sinh loài đã chứng minh ba chủng *E. tenella* phân lập được trong nghiên cứu này có mối quan hệ

chặt chẽ với *E. tenella* của Trung Quốc, USA (Hình 2).

Trong nghiên cứu này, cây phát sinh loài cho thấy trình tự nucleotide của *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervuline*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis* và *E. praecox* hình thành các cụm rời rạc không có ranh giới rõ ràng, điều này liên quan đến sự phân bố địa lý của chúng. Bên cạnh đó, cây phân loài dựa trên trình tự ITS-1 của các loài *Eimeria* khác nhau đã cho thấy rằng chủng *E. tenella* trong nghiên cứu này được tập hợp với các chủng *E. tenella* được mô tả trước đây với giá trị 82% tại mỗi nút. *E. tenella* và *E. necatrix*, *E. mitis* nằm trong cùng một nhóm gần nhau.

Hình 3. Cây phát sinh loài sử dụng phương pháp Maximum Likelihood (mô hình Kimura-2) của đoạn ITS-1



Phần trăm giá trị bootstrap (lặp lại 1000 lần) được thể hiện ở mỗi nút. Thanh tỷ lệ cho biết sự thay thế trình tự trên mỗi vị trí. E1, E2 và E3 là các đoạn trình tự thu được từ nghiên cứu

Các bộ gen của *Eimeria* thường được phân tích dựa trên các trình tự 18S rDNA, ITS-1 và ITS-2. Trình tự ITS thường được sử dụng để chẩn đoán phân tử và phân tích phát sinh loài vì độ nhạy, độ đặc hiệu cao được cung cấp bởi số lượng bản sao cao cùng với sự tiến hoá tương đối nhanh của chúng, mặc dù tính đa hình nội bào hạn chế (Schwarz và cs, 2009). Ngoài ra, kỹ thuật này tương đối rẻ, có thể được thực hiện với nguồn lực hạn chế của phòng thí nghiệm và được hỗ trợ bởi một

kho lưu trữ trình tự trên GenBank. Việc xác định trình tự ITS của các chủng từ thực địa có thể hữu ích trong việc đánh giá sự đa dạng của chủng. Một phương pháp điện di mao mạch dựa trên PCR sử dụng đoạn môi cho trình tự ITS-2 của *Eimeria* đã được phát triển, không chỉ phân biệt được giữa tất cả bảy loài *Eimeria* đã biết mà còn xác định được ba biến thể di truyền riêng biệt (Morris và cs, 2007), cho thấy việc phân tích trình tự ITS có thể giúp xác định biến thể mới.

Trình tự ITS thu được từ nghiên cứu mặc dù có mức độ đa dạng không cao nhưng có thể hiện sự khác biệt. Sự thay đổi về nucleotide ở vùng ITS-1 đã được báo cáo ở một vài nơi trước đây. Các phân tích phát sinh loài

dựa trên trình tự ITS-1 trong nghiên cứu khác trên thế giới đã chỉ ra *E. tenella* và *E. necatrix* ở gà có khả năng gây bệnh cao và sẽ tạo thành cụm chị em ở vị trí không phân biệt vị trí địa lý với giá trị bootstrap là khoảng 76% (M.Z. Alam và cs, 2022). Theo nghiên cứu của Blake và cs, 2015, phân tích genotype ở các chủng *Eimeria* thu thập từ Ấn Độ, Ai Cập, Lybia và Nigeria cho thấy sự đa dạng cao về haplotype. Trong đó, 98% và 87.5% của những haplotype này đặc trưng cho từng vùng cụ thể, cho thấy cấp độ phân hóa/đặc hiệu vùng (allopatric diversification) rõ ràng của các chủng này. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi cần tiến hành thêm trên nhiều vị trí khác nhau nhằm xác định đa dạng đặc hiệu dựa trên yếu tố địa lý.

Đã hơn 100 năm kể từ khi bệnh cầu trùng gây ra những tổn hại lớn đối với ngành chăn nuôi gia cầm, nhưng nhiều lỗ hổng vẫn còn tồn tại trong công tác phòng ngừa bệnh. Việc phát triển các dấu hiệu di truyền trên toàn bộ hệ gen sẽ có ý nghĩa trong việc hiểu cách các quần thể *Eimeria* phản ứng khi tiếp xúc với thuốc hoặc vaccine ngừa cầu trùng, và sự tương tác giữa vật chủ - KST.

4. KẾT LUẬN

Dữ liệu phân tích di truyền dựa trên trình tự ITS-1 có thể cung cấp thông tin quan trọng cho các nghiên cứu chuyên sâu về *E. tenella* bao gồm cấu trúc loài và các biến thể di truyền. Do đó, cần phải có những cuộc khảo sát rộng hơn với số lượng lớn mẫu vật cùng với các chỉ thị phân tử khác nhau để cung cấp thêm thông tin về cấu trúc di truyền quần thể, góp phần vào xây dựng các chiến lược phòng và kiểm soát căn bệnh này tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Bùi Khánh Linh, Nguyễn Văn Thọ, Nguyễn Văn Phương & cs, Thực trạng sử dụng thuốc trong phòng trị bệnh cầu trùng do *Eimeria* spp. gây ra ở gà thả vườn. Tạp chí KHKT Chăn nuôi, 239: 72-76, 2018.

[2] Morris GM, Woods WG, Richards DG et al.,

Investigating a persistent coccidiosis problem on a commercial broiler-breeder farm utilising PCR-coupled capillary electrophoresis, Parasitol. Res., 101: 583-89, 2007.

- [3] Long P, Joyner L, Problems in the identification of species of *Eimeria*. The Journal of Protozoology, 31(4):535-541, 1984.
- [4] Macdonald SE, Nolan MJ, Harman K et al., Effects of *Eimeria tenella* infection on chicken caecal microbiome diversity, exploring variation associated with severity of pathology. PLoS One, 12(9):e0184890, 2017.
- [5] Tan L, Li Y, Yang X et al., Genetic diversity and drug sensitivity studies on *Eimeria tenella* field isolates from Hubei Province of China. Parasites & Vectors, 10(1):1-10, 2017.
- [6] Haug A, Thebo P, Mattsson JG, A simplified protocol for molecular identification of *Eimeria* species in field samples. Vet. Parasitol. 146:35-45, 2007.
- [7] Tamura K, Stecher G, Peterson D, MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30(12):2725-2729, 2013.
- [8] Mohammad MH, Ahad O, Mohammad N, Prevalence of *Eimeria* species in scavenging native chickens of Shiraz, Iran. African Journal of Microbiology Research, 5(20):3296-3299, 2011.
- [9] Heo J, Jung M, Kim, A survey of chicken coccidiosis in slaughtered chickens. J Vet Clin. 21:161-167, 2004.
- [10] Alam MZ, Dey S, Rony SA et al., Phylogenetic analysis of *Eimeria tenella* isolated from the litter of different chicken farms in Mymensingh, Bangladesh. Vet Med Sci. 8:1563-1569, 2021.
- [11] Blake DP, Clark EL, Macdonald SE et al., Population, genetic, and antigenic diversity of the apicomplexan *Eimeria tenella* and their relevance to vaccine development. Proc. Natl. Acad. Sci. 112:e5343-e5350, 2015.

SOME RELATED TO *DEMODEX* SPP. IN PATIENT OF FACE DERMATITIS GOING TO ADVICE AT DA NANG DERMATOLOGY HOSPITAL

Phan Xuan Hien^{1,2*}, Tran Phu Manh Sieu^{1,4}, Thai Quang Hung¹, Nguyen Van Minh³

¹Tay Nguyen University - 567 Le Duan, Ea Tam, Buon Ma Thuot, Dak Lak, Vietnam

²Da Nang C Hospital - 122 Hai Phong, Thach Thang, Hai Chau, Da Nang, Vietnam

³Da Nang Dermatology Hospital - 91 Dung Si Thanh Khe, Thanh Khe Tay, Thanh Khe, Da Nang, Vietnam

⁴Nguyen Trai Hospital, HCMC - 314 Nguyen Trai, 8 ward, 5 district, Ho Chi Minh city, Vietnam

Received 01/12/2022

Revised 04/01/2023; Accepted 22/02/2023

ABSTRACT

Objectives: To determine some factors related to *Demodex* spp. among patients who went to Da Nang Dermatology Hospital with facial dermatitis.

Subjects and methods: A cross-sectional study was conducted on 570 people who went to Da Nang Dermatology Hospital in 2021 with diseases of facial dermatitis. The patients who selected the sample were assigned to do *Demodex* test, examined, and interviewed related factors with a prepared questionnaire.

Results: Some related factors among patients infecting with *Demodex* spp. found in this study were: age, education level, facial skin type, use of shared towels, pet dog and cat, facial hair removal and number of face washes. No association was found between patients infecting with *Demodex* spp. and gender, place of residence.

Conclusions: The prevalence of *Demodex* spp. among patients who went to Da Nang Dermatology Hospital in 2021 with facial dermatitis was quite high. It is necessary to impart health education to the people in the prevention of *Demodex* infection, with particular focus on personal hygiene behaviors.

Keywords: *Demodex*, clinical, face skin, dermatology.

*Corresponding author

Email address: phanxuanhien75@gmail.com

Phone number: (+84) 905 606 751



MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN TÌNH TRẠNG NHIỄM *DEMODEX* SPP. Ở BỆNH NHÂN VIÊM DA MẶT KHÁM TẠI BỆNH VIỆN DA LIỄU ĐÀ NẴNG

Phan Xuân Hiền^{1,2*}, Trần Phủ Mạnh Siêu^{1,4}, Thái Quang Hùng¹, Nguyễn Văn Minh³

¹Trường Đại học Tây Nguyên - 567 Lê Duẩn, Ea Tam, Thành phố Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk, Việt Nam

²Bệnh viện C Đà Nẵng - 122 Hải Phòng, Thạch Thang, Hải Châu, Đà Nẵng, Việt Nam

³Bệnh viện Da Liễu Đà Nẵng - 91 Dũng Sĩ Thanh Khê, Thanh Khê Tây, Thanh Khê, Đà Nẵng, Việt Nam

⁴Bệnh viện Nguyễn Trãi TP. Hồ Chí Minh - 314 Nguyễn Trãi, Phường 8, Quận 5, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 01 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 04 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 22 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở những bệnh nhân viêm da mặt đến khám tại Bệnh viện Da Liễu Đà Nẵng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang được tiến hành trên 570 người đến khám tại Bệnh viện Da Liễu Đà Nẵng trong năm 2021 với các bệnh lý về viêm da mặt. Những bệnh nhân chọn vào mẫu được chỉ định làm xét nghiệm *Demodex*, khám trực tiếp, phỏng vấn các yếu tố liên quan bằng bộ câu hỏi soạn sẵn.

Kết quả: Một số yếu tố liên quan đến người nhiễm *Demodex* spp. được tìm thấy trong nghiên cứu này là: tuổi, trình độ học vấn, loại da mặt, sử dụng khăn chung, nuôi chó mèo, cạo lông mặt và số lần rửa mặt. Chưa tìm thấy có mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. với yếu tố giới tính và nơi cư trú.

Kết luận: Tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt đến khám tại Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng năm 2021 là khá cao. Cần truyền thông giáo dục sức khỏe cho người dân trong việc phòng chống nhiễm ký sinh trùng *Demodex*, đặc biệt chú trọng vào các yếu tố vệ sinh cá nhân.

Từ khóa: *Demodex*, lâm sàng, da mặt, da liễu.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm da do *Demodex* spp. là một bệnh lý gây nên bởi côn trùng chân khớp ký sinh với số lượng lớn ở nang lông, tuyến bã và vảy da ở người [1]. Các loại tổn thương da do *Demodex* gây ra bao gồm viêm với các mụn mủ, sẩn đỏ, giãn mạch hoặc các triệu chứng lâm

sàng không đặc hiệu như ngứa mắt, nóng rát, cảm giác kiến bò, khô da và đôi khi không có triệu chứng. Bệnh thường gặp ở những người đến khám da, đa số là độ tuổi trung niên, đặc biệt ở bệnh nhân có hệ thống miễn dịch suy yếu [1].

Các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy, ở người khỏe

*Tác giả liên hệ

Email: phanxuanhien75@gmail.com

Điện thoại: (+84) 905 606 751

mạnh tỷ lệ nhiễm *Demodex* khoảng 50% đến 75%, trong đó tỷ lệ viêm da do *Demodex* chiếm từ 37% đến 53,8% [2]. Tại Việt Nam có rất ít nghiên cứu về *Demodex*. Theo nghiên cứu của Trần Đình Trung năm 2016 cho thấy tỷ lệ nhiễm *Demodex* là 33,7% [3]. Đây là tỷ lệ cao, cho nên cần phải chú ý tìm hiểu các yếu tố nguy cơ để có những biện pháp phòng tránh thích hợp.

Các nghiên cứu cho thấy độ tuổi bệnh nhân từ 15 đến 85, nữ nhiều hơn nam [4]. Theo Zhao (2011), điều kiện vệ sinh da và loại da cũng liên quan mật thiết đến nhiễm *Demodex*. Bên cạnh đó, tỷ lệ nhiễm *Demodex* và viêm da do *Demodex* tăng cao ở những bệnh nhân nữ có thói quen dùng mỹ phẩm và thuốc bôi có chứa corticoid [6], [5].

Tại Đà Nẵng, trong thời gian gần đây số lượng bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Da Liễu với bệnh lý viêm da nghi ngờ liên quan đến nhiễm *Demodex* spp. tăng khá cao [6]. Để góp phần làm rõ các yếu tố liên quan đến bệnh lý này, chúng tôi tiến hành đề tài: “**Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt khám tại Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng**” với mục tiêu sau:

1. Xác định tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt đến khám tại Bệnh viện Da Liễu Đà Nẵng, năm 2021.
2. Xác định một số yếu tố liên quan đến nhiễm *Demodex* spp. ở đối tượng nghiên cứu.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm những bệnh nhân đến khám với các bệnh lý về viêm da mặt và được chỉ định làm xét nghiệm *Demodex* tại Bệnh viện Da Liễu Đà Nẵng, từ tháng 02 năm 2021 đến tháng 11 năm 2021.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Tất cả bệnh nhân được chỉ định xét nghiệm *Demodex* do viêm da mặt ở các vị trí tổn thương sau: lông mi, lông mày, hai bên cánh mũi, quanh miệng, vùng cằm, gò má, trán, và nơi tiết bã nhờn nhiều.
- Bệnh nhân đồng ý tham gia vào nghiên cứu và chấp nhận phỏng vấn.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân không nhớ hoặc không cung cấp được thông tin trong quá trình phỏng vấn điều tra, đánh giá

yếu tố liên quan.

- Bệnh nhân đã được xác định mắc các bệnh lý tâm thần, thần kinh có ảnh hưởng đến việc trả lời mẫu câu hỏi phỏng vấn.

- Bệnh nhân đã sử dụng thuốc bôi ngoài da điều trị ký sinh trùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Sử dụng phương pháp nghiên cứu cắt ngang

2.2.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

* Cỡ mẫu

$$n = Z^2_{(1-\alpha/2)} \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

+ n: Cỡ mẫu.

+ Z (1- α/2): Hệ số tin cậy 95%, ta có với Z (1- α/2) = 1.96.

+ p = 0,24 (Theo nghiên cứu của Trần Ngọc Duy năm 2017) [4]

+ d: Là sai số của nghiên cứu, chính là sự khác biệt giữa tỷ lệ p thu được trên mẫu và tỷ lệ phân biệt trong quần thể, chọn d = 0,035.

Thay vào công thức, chúng tôi chọn cỡ mẫu là n = 570.

* Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu toàn bộ.

Từ tháng 02 năm 2021 đến tháng 11 năm 2021 tại Phòng khám của Bệnh viện Da Liễu Đà Nẵng, tất cả các bệnh nhân đủ tiêu chuẩn, được chọn liên tiếp vào nghiên cứu cho đến khi đủ cỡ mẫu theo yêu cầu.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu

- Tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt: Chẩn đoán xác định ≥ 1 con/tiêu bản.

- Một số yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt như: giới tính, nhóm tuổi, trình độ học vấn, nơi sống, yếu tố nuôi chó mèo, yếu tố sử dụng khăn chung, loại da, yếu tố cạo lông mặt và số lần rửa mặt trong ngày.

2.2.4. Phương pháp thu thập thông tin

- Hỏi bệnh và khám lâm sàng: Bệnh nhân được bác sỹ da liễu hỏi bệnh trực tiếp, thăm khám chức năng, kết quả được ghi lại vào phiếu điều tra.

- Lấy bệnh phẩm: Cạo vảy da mặt



- Khảo sát dưới kính hiển vi.

2.2.5. Phương pháp phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm Excel và SPSS 22.0

Tính tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. giữa hai hoặc nhiều nhóm khác nhau. Kiểm định Chi2 với ngưỡng bác bỏ p < 0,05. Phân tích đa biến bằng hồi quy logistic với các biến yếu tố hành vi.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài được thông qua Hội đồng đạo đức Trường Đại

học Tây Nguyên và Hội đồng y đức Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng và được sự chấp thuận của bệnh nhân. Bệnh nhân và gia đình/người nhà tự nguyện tham gia. Các trường hợp từ chối được chấp nhận. Các thông tin thu thập về cá nhân của đối tượng nghiên cứu được đảm bảo giữ kín (họ tên được mã hóa).

3. KẾT QUẢ

3.1. Thông tin chung của bệnh nhân đến khám và xét nghiệm *Demodex* tại Bệnh viện

Bảng 3.1. Thông tin chung của bệnh nhân viêm da mặt

Đặc điểm dân số	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính		
Nam	99	17,4
Nữ	471	82,6
Tuổi		
< 20	56	9,8
21-40	329	57,7
41-60	163	28,6
> 60	22	3,9
Học vấn		
< Đại học	245	43,0
≥ Đại học	325	57,0
Nơi sống		
Nông thôn	130	22,8
Thành thị	440	77,2

Trong tổng số 570 bệnh nhân được nghiên cứu, nữ chiếm tỷ lệ cao nhất là 82,6% và nam chiếm tỷ lệ thấp là 17,4%. Số người thuộc nhóm tuổi 21-40 chiếm tỷ lệ cao nhất là 57,7%, tiếp đến là số người thuộc nhóm tuổi 41- 60 chiếm 28,6% và thấp nhất là nhóm tuổi >60

chiếm 3,9%. Trình độ học vấn ≥ Đại học chiếm tỷ lệ cao là 57%. Số người sống ở thành thị chiếm 77,2%, nông thôn chiếm 22,8%.

3.2. Tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt

*Bảng 3.2. Tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. ở đối tượng nghiên cứu*

<i>Demodex</i> spp.	Số lượng	Tỷ lệ %
Có	161	28,2
Không	409	71,8
Tổng cộng	570	100

Trong 570 bệnh nhân được nghiên cứu, có 161 trường hợp dương tính với *Demodex* spp. chiếm 28,2%.

Bảng 3.3. Tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. theo vị trí tổn thương trên mặt

Vị trí tổn thương	Số lượng	Tỷ lệ %
Cả mặt	87	54,0
Lông mi	18	11,2
Cằm	5	3,1
Quanh miệng	4	2,5
Má	36	22,4
Trán	11	6,8
Tổng cộng	161	100

Tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân có vị trí tổn thương ở cả mặt chiếm tỷ lệ nhiều nhất là 54,0%, tiếp đến là má chiếm tỷ lệ 22,4% và thấp nhất là vùng quanh miệng chiếm 2,5%.

3.3. Các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở đối tượng nghiên cứu

3.3.1. Mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. và đặc điểm nhân khẩu học

Bảng 3.4. Mối liên quan giữa người nhiễm *Demodex* spp. và đặc điểm nhân khẩu học

Đặc điểm	<i>Demodex</i> spp. (+)	Tổng số	Tỷ lệ %	Giá trị p
Giới				
Nam	24	99	24,2	0,33
Nữ	137	471	29,1	
Tuổi				
< 20	13	56	23,2	0,01
21-40	89	325	27,1	
41-60	58	163	35,6	
> 60	1	26	4,5	
Học vấn				
< Đại học	88	245	35,9	0,005
≥ Đại học	73	325	22,5	
Nơi sống				
Nông thôn	38	130	29,2	0,081
Thành thị	123	440	28,0	



Trong 161 bệnh nhân viêm da mặt có nhiễm *Demodex* spp. thì số người thuộc nhóm tuổi 41 - 60 chiếm tỷ lệ cao nhất là 35,6%, tiếp đến là bệnh nhân thuộc nhóm tuổi 21 - 40 chiếm 27,1% và thấp nhất là bệnh nhân thuộc nhóm > 60 tuổi chiếm 4,5%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Nhóm bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. có trình độ <

Đại học chiếm tỷ lệ 35,9%, nhóm \geq Đại học chiếm tỷ lệ 22,5%. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Không có ý nghĩa thống kê đối với các yếu tố giới tính và nơi sống ($p > 0,05$)

3.3.2. Mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. và loại da

Bảng 3.5. Mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. và loại da

Đặc điểm da mặt	Demodex spp. (+)	Tổng số	Tỷ lệ %	Giá trị p
Da dầu	118	213	55,4	0,02
Da khô	5	206	2,4	
Da hỗn hợp	31	76	40,8	
Da thường	7	75	9,3	

Trong 161 bệnh nhân viêm da mặt có nhiễm *Demodex* spp. thì những người có da dầu và da hỗn hợp có tỉ lệ nhiễm *Demodex* spp. nhiều nhất. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê, có mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm

Demodex spp. và loại da ($p < 0,05$).

3.3.3. Mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. và các yếu tố hành vi

Bảng 3.6. Mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. và yếu tố hành vi

Yếu tố hành vi	Demodex spp. (+)	Tổng số	Tỷ lệ %	Giá trị p
Sử dụng khăn chung				
Có	135	259	52,1	< 0,001
Không	26	311	8,4	
Cạo lông mặt				
Có	111	245	45,3	< 0,001
Không	50	325	15,4	
Nuôi chó mèo				
Có	134	328	40,9	< 0,001
Không	27	242	11,2	
Rửa mặt				
< 3 (lần/ngày)	97	230	42,2	0,001
\geq 4 (lần/ngày)	64	340	18,8	

Có mối liên quan mật thiết giữa bệnh nhân viêm da mặt nhiễm *Demodex* spp. và các yếu tố hành vi như: Sử

dụng khăn chung, cạo lông mặt, nuôi chó mèo và số lần rửa mặt trong ngày ($p < 0,05$).

Bảng 3.7. Mô hình hồi quy logistic giữa người nhiễm *Demodex spp.* với yếu tố hành vi

Yếu tố hành vi	Odds Ratio (OR)	95% CI	Giá trị p
Sử dụng khăn chung	11,9	7,5-19,1	< 0,001
Cạo lông mặt	4,6	3,1-6,8	< 0,001
Nuôi chó mèo	5,5	3,5-8,7	< 0,001
Rửa mặt < 3 lần/ngày	3,2	2,2-4,6	0,001

Mô hình hồi quy logistic đa biến cho kết quả các yếu tố liên quan đến người nhiễm *Demodex spp.* là: Sử dụng khăn chung (OR = 11,9; KTC 95%: 7,5- 19,1; P < 0,001); nuôi chó mèo (OR=5,5; KTC 95%: 3,5-8,7; P < 0,001); Cạo lông mặt (OR = 4,6; KTC 95%: 3,1-6,8; P < 0,001); Rửa mặt < 3 lần/ngày (OR= 3,2; KTC 95%: 2,2-4,6, P = 0,001).

4. BÀN LUẬN

4.1. Tình trạng nhiễm *Demodex spp.* và một số yếu tố liên quan của đối tượng nghiên cứu

4.1.1 Tình trạng nhiễm *Demodex spp.* ở bệnh nhân viêm da mặt

Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ nhiễm *Demodex spp.* ở bệnh nhân viêm da mặt đến khám tại Bệnh viện Da liễu Đà Nẵng năm 2021 là 28,2%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tuy khác nhau về đối tượng nghiên cứu nhưng cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thanh Trúc (2018), khi nghiên cứu trên 288 người bệnh đến khám da mặt tại Bệnh viện Da liễu Thành phố Hồ Chí Minh có tỷ lệ nhiễm *Demodex* là 29,2% [8].

Kết quả của chúng tôi thấp hơn so với kết quả của một số tác giả như nghiên cứu của Trần Đình Trung (2016) khi nghiên cứu trên 653 đối tượng nữ trưởng thành có tỉ lệ nhiễm *Demodex* là 33,7%. Sự khác nhau này là do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là bệnh nhân viêm da mặt đến Bệnh viện khám và xét nghiệm *Demodex*, còn nghiên cứu của Trần Đình Trung là nghiên cứu cho phụ nữ ở cộng đồng. Nghiên cứu của Zhao (2011) chỉ ra trong 860 người bệnh ngoại trú từ 12 đến 84 tuổi đến khám tại Khoa Da liễu bệnh viện Đại học Y khoa Tây An (Trung Quốc) có tỷ lệ nhiễm *Demodex* là 43,0% [5]. Sự khác biệt này có thể là do nghiên cứu của Zhao thực hiện trên đối tượng người bệnh đều có biểu hiện lâm sàng của bệnh da liễu ở mặt, ngoài da mặt và phương

pháp lấy mẫu của họ là phương pháp tạo áp lực da, còn phương pháp của chúng tôi là cạo vảy da mặt.

4.1.2. Các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex spp.* của đối tượng nghiên cứu

* Tuổi: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy những bệnh nhân thuộc nhóm tuổi từ 41– 60 có tỷ lệ nhiễm *Demodex spp.* nhiều nhất là 35,6%, tiếp đến là bệnh nhân thuộc nhóm tuổi từ 21 - 40 có tỷ lệ nhiễm là 27,1% và thấp nhất là người thuộc nhóm tuổi > 60 với 4,5%. Có mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex spp.* và nhóm tuổi (p < 0,05).

Theo nghiên cứu Zhao (2011) cho thấy có mối liên quan giữa nhiễm *Demodex* và nhóm tuổi, hơn 90% học sinh trên 18 tuổi bị nhiễm *Demodex* [9]. Điều này được giải thích rằng khi trên 18 tuổi da đã trưởng thành, tế bào nang lông và tuyến bã nhờn đã phát triển hoàn chỉnh, có thể cung cấp cho *Demodex* nguồn dinh dưỡng dồi dào, *Demodex* ký sinh trong nang lông có thể gây ra chúng tăng sừng, các nang lông bị tắc nghẽn và dày lên. Do đó, làm nặng thêm tình trạng nhiễm *Demodex* ký sinh trong da. Sự khác nhau này cũng có thể giải thích vì sự tăng tiết bã nhờn, tăng tối đa từ 16 đến 40 tuổi và sau đó giảm dần ở cả 2 giới và đặc biệt là ở phụ nữ. Vì vậy tỷ lệ nhiễm *Demodex* thường ở lứa tuổi từ 16 đến 40 tuổi và mức độ nhiễm bệnh cũng tăng dần theo độ tuổi.

* Học vấn: Kết quả của chúng tôi cho thấy có mối liên quan giữa nhiễm *Demodex spp.* và trình độ học vấn (p < 0,05). Bệnh da do *Demodex* là một bệnh ngoại kí sinh trùng, bệnh này cũng được đề cập trong thời gian gần đây. Tuy nhiên người dân chưa quan tâm nhiều đến khả năng gây bệnh của *Demodex*, mặc dù thông tin trên phương tiện thông tin đại chúng, mạng xã hội hiện nay được phổ biến rộng rãi về bệnh này, nên tùy thuộc vào khả năng tiếp cận thông tin của từng người mà có những kiến thức và kỹ năng phòng bệnh khác nhau.

* Loại da: Kết quả của chúng tôi cho thấy bệnh nhân



có da dầu nhiễm *Demodex* spp. chiếm tỷ lệ cao nhất (54,4%), da hỗn hợp (40,8%), da khô (2,4%), da thường (9,3%), có mối liên quan giữa nhiễm *Demodex* spp. và loại da ($p < 0,05$). Nghiên cứu của chúng tôi tuy khác đối tượng nghiên cứu nhưng cũng phù hợp với nghiên cứu của Zhao (2011), có mối liên quan giữa loại da và nhiễm *Demodex*, ở những bệnh nhân có da dầu hoặc da hỗn hợp tỷ lệ nhiễm *Demodex* cao hơn so với những bệnh nhân có da khô hoặc trung tính [5]. Điều này có thể được giải thích là tuyến bã nhờn cung cấp nhiều dinh dưỡng phù hợp với quá trình sinh sản và phát triển của *Demodex*. Trong số những loại da thì da dầu và da hỗn hợp có tuyến bã nhờn hoạt động mạnh nhất. Bên cạnh đó, sự di chuyển của *Demodex* ký sinh trong nang lông sẽ kích thích nang lông tăng cường bài tiết chất nhờn.

* Sử dụng khăn chung: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấy có mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. và yếu tố sử dụng khăn chung ($p < 0,05$). Tuy đối tượng nghiên cứu của chúng tôi có khác với một số tác giả, nhưng vẫn phù hợp với nghiên cứu của Zhao và cộng sự (2011) và nghiên cứu của Trần Đình Trung (2016) việc dùng chung khăn/ thiết bị vệ sinh chung với người khác có thể làm tăng cơ hội lây nhiễm chéo *Demodex* [3] [5].

* Cạo lông mặt: Bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. có cạo lông mặt chiếm tỷ lệ cao là 45,3% và kết quả này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Sinem (2019) có ý nghĩa thống kê giữa nhiễm *Demodex* ở những người tẩy lông thường xuyên và những người không tẩy lông [10]. Có thể giải thích rằng những người có thói quen cạo lông mặt sẽ gây tổn hại đến bề mặt da, làm lộ rõ phần nang lông và mất đi chức năng bảo vệ của da ban đầu, đây là điều kiện thuận lợi cho *Demodex* xâm nhập.

* Nuôi chó mèo: Các bệnh nhân nhiễm *Demodex* spp. trong gia đình có nuôi chó mèo chiếm tỷ lệ khá cao (40,9%) so với người không nuôi chó mèo (11,2%). kết quả này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Có thể giải thích rằng, trong các loài *Demodex* phát hiện được, có *Demodex canis* ký sinh trên da chó mèo, nên khi người bệnh có thói quen ôm hôn thú nuôi bị nhiễm *Demodex* nên *Demodex canis* có thể lây truyền sang người [4]. Tuy nhiên để khẳng định chắc chắn trường hợp *Demodex* từ chó mèo lây sang người thì cần có những nghiên cứu sâu hơn.

* Rửa mặt: Bệnh nhân có số lần rửa mặt càng ít (< 3 lần/

ngày) thì tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. càng cao (42,2%), bệnh nhân có số lần rửa mặt càng nhiều (≥ 4 lần/ngày) thì tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. càng ít (18,8%). Kết quả này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Zhao (2011), những bệnh nhân rửa mặt 2 lần/ngày có tỷ lệ nhiễm *Demodex* cao là 43,8%, có mối liên quan giữa bệnh nhân nhiễm *Demodex* và số lần rửa mặt trong ngày [5]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng số lần rửa mặt trong ngày ảnh hưởng rất lớn đến nhiễm *Demodex*, thường xuyên rửa mặt có thể làm hạn chế nhiễm *Demodex*, đồng thời làm giảm cơ hội lây nhiễm chéo.

Do đây là một nghiên cứu cắt ngang, nên một số yếu tố liên quan được tìm thấy trong nghiên cứu này chưa thể khẳng định có mối quan hệ nhân quả. Cần có thêm nhiều bằng chứng hơn từ nhiều nghiên cứu khác.

5. KẾT LUẬN

Các yếu tố liên quan đến tình trạng nhiễm *Demodex* spp. ở bệnh nhân viêm da mặt nhiều như: Trình độ học vấn thấp, sử dụng khăn chung, cạo lông mặt, nuôi chó mèo và việc thực hành vệ sinh cá nhân hàng ngày của bệnh nhân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Trọng Hào, Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh da liễu: Nhà xuất bản y học; 2019.
- [2] Rather PA, Hassan I, Human demodex mite: the versatile mite of dermatological importance. Indian journal of dermatology. 2014;59(1):60-6.
- [3] Trần Đình Trung, Tỷ lệ nhiễm demodex và các yếu tố liên quan ở người nữ trưởng thành tại thành phố Đà Nẵng: Chuyên ngành Y tế Công Cộng, Đại học Y tế công cộng; 2017.
- [4] Trần Ngọc Duy, Nghiên cứu tỷ lệ nhiễm *Demodex* spp. và một số yếu tố liên quan trên người bệnh đến khám tại Bệnh viện Phong và Da liễu Trung ương Quy Hòa năm 2018 Luận văn Thạc sỹ chuyên ngành Ký sinh trùng; 2018.
- [5] Zhao, Ya-e and partner, "Facial dermatosis associated with *Demodex*: a case-control study", J Zhejiang Univ Sci B. 12(12), p. 1008-1015, 2011.

- [6] Nguyễn Văn Minh, Phan Cẩm Ly, Nghiên cứu tỷ lệ nhiễm demodex ở người bệnh đến khám da mặt tại Bệnh viện da liễu Đà Nẵng. *Y học Cộng đồng*. 2021;62(2).
- [7] Kubanov A, Gallyamova Y, Kravchenko A, Clinical picture, diagnosis and treatment of rosacea, complicated by Demodex mites. *Dermatology reports*. 2019;11(1):7675.
- [8] Nguyễn Thị Thanh Trúc, Áp dụng kỹ thuật cạo da để phát hiện Demodex và khảo sát tình hình nhiễm bệnh: Luận văn thạc sỹ y học, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh; 2018.
- [9] Zhao YE, Guo N, Xun M et al., Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of Demodex infestation (Acari: Demodicidae). *Journal of Zhejiang University Science B*. 2011;12(12):998-1007.
- [10] Sevgen SN, Mor N, The Investigation of Prevalence of Demodex spp. in University Students: The Case of the Faculty of Health Sciences. *Turkiye parazitolojii dergisi*. 2019;43(4):198-203.



COMPARE THE OUTCOMES OF THE TREATMENT OF DEMODICOSIS BY COMBINING ORAL IVERMECTIN WITH TOPICAL METRONIDAZOL 1% AND COMBINING ORAL WITH TOPICAL METRONIDAZOL THERAPY

Trần Cẩm Vân

National Hospital of Dermatology and Venereology - 15A, Phuong Mai, Hanoi, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 26/01/2023; Accepted 28/02/2023

ABSTRACT

Objectives: To compare the outcomes of the treatment of pityriasis folliculitis by combining oral ivermectin with topical metronidazol 1% and combining oral with topical metronidazol therapy.

Method: Controlled comparative clinical trial. 70 patients with pityriasis folliculitis were randomly divided into 2 groups: 35 patients in group one were managed with oral ivermectin (one dose of 200 µg/kg) and topical metronidazol 1%. 35 patients in group two were managed with oral metronidazol (doses 500 mg per day for 2 weeks) and topical metronidazol 1%. *Demodex* was detected by standardized skin surface biopsy. The study subjects were followed-up after 2 and 4 weeks.

Result: After 2 and 4 weeks, pruritus, red papules, red patches, skin scabs in both groups reduced, differences between the two groups had no significance ($p > 0,05$). Group one had greater reduction in *Demodex* density than group two ($p < 0,05$). At week 4, in the group which treated by oral ivermectin and topical metronidazol, 80% had good improvement, 14,3% had moderate improvement and 5,7% had little improvement. Meanwhile in the group which treated by combining oral and topical metronidazol therapy, the rates were 71,4%, 22,9% and 5,7%, respectively. The outcomes of the treatment in both groups had no significant difference ($p > 0,05$). Side effects including pruritus, burning in group one were lower than group two ($p < 0,05$).

Conclusion: Oral ivermectin combined with topical metronidazol showed similar outcomes, less side effects than oral combined topical metronidazol in management of pityriasis folliculitis.

Keywords: Demodicosis, pityriasis folliculitis, *Demodex*, ivermectin, metronidazol.

*Corresponding author

Email address: trancamvan.dl@gmail.com

Phone number: (+84) 936 903 003

SO SÁNH KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ VIÊM DA DO DEMODEX BẰNG UỐNG IVERMECTIN KẾT HỢP BÔI METRONIDAZOL 1% VỚI LIỆU PHÁP UỐNG VÀ BÔI METRONIDAZOL KẾT HỢP

Trần Cẩm Vân

Bệnh viện Da liễu Trung ương - 15A, Phương Mai, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 26 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 28 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: So sánh kết quả điều trị viêm nang lông vảy phấn bằng uống ivermectin kết hợp bôi metronidazol 1% với liệu pháp uống và bôi metronidazol kết hợp.

Phương pháp: Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng. 70 bệnh nhân viêm nang lông vảy phấn được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm: 35 bệnh nhân ở nhóm một được điều trị bằng uống ivermectin (200 µg/kg liều duy nhất) và bôi metronidazol 1%. 35 bệnh nhân trong nhóm hai được điều trị bằng uống metronidazol (liều 500 mg mỗi ngày trong 2 tuần) và bôi metronidazol 1%. *Demodex* được phát hiện bằng phương pháp sinh thiết bề mặt da tiêu chuẩn. Các đối tượng nghiên cứu được theo dõi sau 2 và 4 tuần.

Kết quả: Sau 2 và 4 tuần, tình trạng ngứa, sẩn đỏ, dát đỏ, vảy da ở cả 2 nhóm đều giảm, sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Nhóm một mật độ *Demodex* giảm nhiều hơn nhóm hai ($p < 0,05$). Ở tuần thứ 4, nhóm điều trị bằng uống ivermectin và bôi metronidazol, 80% đáp ứng tốt, 14,3% đáp ứng trung bình và 5,7% đáp ứng kém. Trong khi đó, ở nhóm điều trị uống và bôi metronidazol kết hợp, tỷ lệ này lần lượt là 71,4%, 22,9% và 5,7%. Kết quả điều trị ở cả hai nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tác dụng phụ ngứa, rát ở nhóm một thấp hơn nhóm hai ($p < 0,05$).

Kết luận: Ivermectin uống kết hợp metronidazol bôi cho kết quả tương đương, ít tác dụng phụ hơn so với metronidazol uống và bôi kết hợp trong điều trị viêm nang lông vảy phấn.

Từ khóa: Viêm da do *Demodex*, viêm nang lông vảy phấn, *Demodex*, ivermectin, metronidazol.

*Tác giả liên hệ

Email: trancamvan.dl@gmail.com

Điện thoại: (+84) 936 903 003



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Demodex là một loại ký sinh trùng ký sinh ở nang lông và tuyến bã của người. Chúng có thể gây bệnh cơ hội khi tập trung với số lượng lớn hoặc khi miễn dịch của cơ thể suy giảm. Trong những năm gần đây, tỷ lệ viêm da do *Demodex* khá cao. Theo Bùi Thị Hồng Nhụy (2017), tỷ lệ nhiễm *Demodex* là 56,2%, tỷ lệ viêm da do *Demodex* là 23,6% [1]. Bệnh có nhiều thể lâm sàng khác nhau, tuy nhiên phổ biến nhất là viêm nang lông vảy phấn. Phương pháp điều trị viêm da do *Demodex* phổ biến hiện nay là metronidazol đường uống. Tuy nhiên kết quả điều trị thường thấp do kém tuân thủ điều trị, bên cạnh đó thuốc có thể gây một số tác dụng phụ như mệt mỏi, đau bụng, buồn nôn. Ivermectin là thuốc kháng ký sinh trùng tương đối an toàn và hiệu quả, đặc biệt có ưu điểm chỉ cần uống một liều duy nhất. Nghiên cứu so sánh tác dụng của hai phương pháp giúp cho các thầy thuốc lâm sàng có thể lựa chọn được phương pháp hiệu quả nhất đối với từng ca bệnh. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu: so sánh kết quả điều trị viêm da do *Demodex* thể viêm nang lông vảy phấn bằng uống ivermectin kết hợp bôi metronidazol 1% với liệu pháp uống và bôi metronidazol kết hợp.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

70 bệnh nhân trên 16 tuổi bị viêm nang lông vảy phấn đến khám và điều trị tại Bệnh viện Da liễu Trung ương từ tháng 7/2019 đến tháng 6/2020.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân: (1) có dát đỏ, vảy da, sẩn đỏ trên mặt, (2) ngứa, rát, kiến bò, (3) Mật độ *Demodex* ≥ 5 con/cm² trên sinh thiết bề mặt da tiêu chuẩn.

Tiêu chuẩn loại trừ: phụ nữ có thai, có bệnh toàn thân nặng, mẫn cảm với các thành phần của thuốc, bệnh nhân ≤ 16 tuổi.

2.2. Phương pháp

- Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng trên 70 bệnh nhân viêm nang lông vảy phấn được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm, mỗi nhóm 35 bệnh nhân.

- Điều trị:

Nhóm 1: ivermectin 200 μ g/kg uống liều duy nhất + metronidazol 1% bôi tại thương tổn ngày 2 lần trong 2 tuần liên tiếp.

Nhóm 2: metronidazol 250 mg/lần uống 2 lần/ngày + metronidazol 1% bôi tại thương tổn ngày 2 lần trong 2 tuần liên tiếp.

- Đánh giá hiệu quả điều trị: Hiệu quả điều trị được đánh giá qua sự thay đổi triệu chứng lâm sàng và mật độ *Demodex* sau 2 và 4 tuần..

+ Đáp ứng tốt: triệu chứng lâm sàng giảm 90 - 100%, mật độ *Demodex* < 5 con/cm².

+ Đáp ứng trung bình: triệu chứng lâm sàng giảm 40 - 90%, mật độ *Demodex* < 5 con /cm².

+ Đáp ứng kém: triệu chứng lâm sàng giảm dưới 30%, mật độ *Demodex* ≥ 5 con/cm².

3. KẾT QUẢ

Bảng 1. Đặc điểm chung của hai nhóm trước điều trị

Đặc điểm		Nhóm một	Nhóm hai	p
Tuổi	Nam	8	11	0,42
	Nữ	27	24	
Tuổi (năm)		36,6 \pm 10,6	36,7 \pm 12,1	0,96
Thời gian mắc bệnh (tháng)		11 \pm 11,5	7,4 \pm 10,1	0,17

Nhận xét: Trước điều trị, hai nhóm nghiên cứu không có sự khác biệt về giới, tuổi, thời gian mắc bệnh ($p > 0,05$).

Bảng 2. Thay đổi triệu chứng lâm sàng và mật độ Demodex

		Trước điều trị		Sau 2 tuần		Sau 4 tuần điều trị	
		Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 1	Nhóm 2
Ngứa	n	29	25	6	6	4	3
	%	82,9	71,4	17,1	17,1	11,4	8,6
	p	0,25		1		1	
Dát đỏ	n	29	23	10	9	5	3
	%	82,9	65,7	27,4	25,7	14,3	8,6
	p	0,1		0,07		0,71	
Sẩn đỏ	n	25	26	6	9	6	7
	%	71,4	74,3	17,1	25,7	17,1	20
	p	0,79		0,38		0,76	
Vảy da	n	24	24	6	10	2	5
	%	68,6	68,6	17,1	28,6	5,7	14,3
	p	1		0,25		0,43	
Mật độ <i>Demodex</i>	n	7,4 ± 4,7	7,9 ± 5,6	1,7 ± 2,3	3,7 ± 3,3	0,5 ± 1,3	2,7 ± 2,3
	p	0,68		0,004		0,001	

Nhận xét: Sau 2 và 4 tuần điều trị, tình trạng ngứa, sẩn đỏ, dát đỏ, vảy da ở cả hai nhóm đều giảm, sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Nhóm 1 có mật độ *Demodex* giảm nhiều hơn so với nhóm 2 ($p < 0,05$).

Bảng 3. Kết quả điều trị sau 2 tuần

Kết quả	Nhóm 1		Nhóm 2	
	n	%	n	%
Đáp ứng tốt	21	60	19	54,3
Đáp ứng trung bình	9	25,7	11	31,4
Đáp ứng kém	5	14,3	5	14,3
p	> 0,05			

Nhận xét: Không có sự khác biệt về hiệu quả điều trị giữa hai nhóm sau 2 tuần điều trị với $p > 0,05$.



Bảng 4. Kết quả điều trị sau 4 tuần

Kết quả	Nhóm 1		Nhóm 2	
	n	%	n	%
Đáp ứng tốt	28	80	25	71,4
Đáp ứng trung bình	5	14,3	8	22,9
Đáp ứng kém	2	5,7	2	5,7
p	> 0,05			

Nhận xét: Sau 4 tuần, hiệu quả điều trị của hai nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 5. Tác dụng không mong muốn

Tác dụng không mong muốn		Nhóm 1		Nhóm 2		p
		n	%	n	%	
Có	Ngứa, rát tại chỗ	3	8,6	6	17,1	0,03
	Mệt mỏi	0	0	3	8,6	
	Bong vảy da	0	0	1	2,9	
	Tổng	3	8,6	10	28,6	
Không		32	91,4	25	71,4	

Nhận xét: Ngứa, rát tại chỗ là tác dụng phụ phổ biến nhất. Tác dụng không mong muốn ở nhóm một ít hơn so với nhóm hai, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

4. THẢO LUẬN

Theo y văn ghi nhận có nhiều phương pháp điều trị viêm da do *Demodex* đã và đang được áp dụng với hiệu quả khác nhau [2]. Tuy nhiên không có điều trị đặc hiệu. Điều trị tại chỗ thường không đủ hiệu quả và nhiều trường hợp có tác dụng phụ như kích ứng, ngứa [3]. Phương pháp điều trị phổ biến hiện nay là metronidazol đường uống [4]. Tuy nhiên hiệu quả điều trị thường thấp do kém tuân thủ điều trị, bên cạnh đó thuốc có thể gây một số tác dụng phụ như mệt mỏi, đau bụng, buồn nôn. Ivermectin (IVM) là một loại thuốc kháng ký sinh trùng tương đối an toàn và hiệu quả, đặc biệt có ưu điểm chỉ cần uống một liều duy nhất [5]. Gần đây, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng ivermectin đường

uống không những làm giảm số lượng *Demodex* mà còn có tác dụng chống viêm, điều hòa miễn dịch [2],[6].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, sau 2 và 4 tuần điều trị, các tổn thương da ở cả hai nhóm như dát đỏ, vảy da, sẩn đỏ và cảm giác ngứa của bệnh nhân giảm rõ rệt. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Mật độ *Demodex* ở nhóm một giảm rõ rệt hơn nhóm hai ($p < 0,05$). Sau 2 tuần điều trị, mật độ *Demodex* trung bình của nhóm một là $1,7 \pm 2,3$ con/cm², nhóm hai là $3,74 \pm 3,3$ con/cm². Sau 4 tuần, mật độ *Demodex* trung bình của hai nhóm lần lượt là $0,5 \pm 1,3$ và $2,26 \pm 2,3$ con/cm². Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Kết quả này cho thấy ivermectin có tác dụng làm giảm số lượng *Demodex* cao hơn so với metronidazol. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy ivermectin làm giảm đáng kể số lượng *Demodex* [7],[8]. Theo tác giả Pallotta S và cộng sự, metronidazol giúp làm giảm tình trạng viêm nhưng không làm giảm số lượng *Demodex* [9].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, sau 4 tuần điều trị,

nhóm ivermectin kết hợp metronidazol 1% có tỷ lệ đáp ứng tốt (khỏi bệnh) cao với 80%, 14,3% đáp ứng trung bình. Năm 2016, Vashisht D đã điều trị thành công bệnh nhân viêm da do *Demodex* kháng trị bằng phác đồ này [10]. Nhiều nghiên cứu cũng cho thấy ivermectin có hiệu quả trong điều trị thương tổn do *Demodex* [6],[8].

So sánh kết quả của hai nhóm sau 2 tuần điều trị: nhóm một có 60% bệnh nhân đáp ứng tốt với điều trị, cao hơn so với nhóm hai (54,3%). Sau 4 tuần điều trị, tỷ lệ đáp ứng tốt của hai nhóm đều tăng, nhóm một là 80% và nhóm hai là 71,4%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Như vậy, sau cả 2 tuần và 4 tuần theo dõi chúng tôi đều thấy đáp ứng điều trị của nhóm một và nhóm hai là tương đương nhau.

Tác dụng không mong muốn trong nghiên cứu của chúng tôi được thể hiện qua bảng 4: có 3 bệnh nhân (8,6%) ở nhóm một có biểu hiện ngứa, rất tại chỗ sau khi bôi thuốc, tuy nhiên hầu hết các triệu chứng này sẽ mất đi sau vài giờ. Qua tìm hiểu của chúng tôi, đây đều là những bệnh nhân ngứa, gãi nhiều tạo nên những vết xây xước trên mặt, vì vậy sau khi bôi metronidazol có lẽ đã có phản ứng như vậy. Tỷ lệ bệnh nhân nhóm một có tác dụng phụ thấp hơn nhóm hai (8,6% so với 28,6%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Như vậy có thể thấy ivermectin là thuốc tương đối an toàn, hầu như không gây tác dụng phụ gì nghiêm trọng. Các tác giả Filho PA (2011), Holzchuh FG (2011) cũng cho kết quả tương tự: ivermectin là thuốc hiệu quả, tiện lợi, an toàn, không gây độc cho gan [6],[8].

5. KẾT LUẬN

Ivermectin đường uống kết hợp bôi metronidazol 1% có hiệu quả tương đương trong việc cải thiện các triệu chứng lâm sàng nhưng làm giảm số lượng *Demodex* nhiều hơn và ít tác dụng phụ hơn nhóm uống và bôi metronidazol kết hợp trong điều trị viêm da do *Demodex* thể nang lông vảy phấn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Bùi Thị Hồng Nhụy, Võ Văn Thắng, Tỷ lệ nhiễm

và viêm da do *demodex* spp ở nữ giới từ 18-60 tuổi tại Thành phố Quy Nhơn tỉnh Bình Định năm 2016. Tạp chí Y học Việt Nam, Tập 458 (số đặc biệt) (760-767), 8, 2017.

- [2] Lam NS, Long X, Griffin R et al., Human demodicidosis and the current treatment options. Hong Kong J. Dermatol. Venereol., 26, 10-17, 2018.
- [3] Forton F, Seys B, Marchal JL, Demodex folliculorum and topical treatment: acaricidal action evaluated by standardized skin surface biopsy. Br J Dermatol, 138 (3), 461-466, 1998.
- [4] Hoekzema R, Hulsebosch HJ, Bos JD, Demodicidosis or rosacea: what did we treat? Br J Dermatol, 133 (2), 294-299, 1995.
- [5] Gonzalez P, Gonzalez FA, Ueno K, Ivermectin in human medicine, an overview of the current status of its clinical applications. Curr Pharm Biotechnol, 13 (6), 1103-1109, 2012.
- [6] Filho PA, Hazarbassanov RM, Grisolia AB, The efficacy of oral ivermectin for the treatment of chronic blepharitis in patients tested positive for *Demodex* spp. Br J Ophthalmol, 95 (6), 893-895, 2011.
- [7] Salem DA, El-Shazly A, Nabih N et al., Evaluation of the efficacy of oral ivermectin in comparison with ivermectin-metronidazole combined therapy in the treatment of ocular and skin lesions of *Demodex folliculorum*. Int J Infect Dis, 17 (5), e343-347, 2013.
- [8] Holzchuh FG, Hida RY, Moscovici BK et al., Clinical treatment of ocular *Demodex folliculorum* by systemic ivermectin. Am J Ophthalmol, 151 (6), 1030-1034 e1031, 2011.
- [9] Pallotta S, Cianchini G, Martelloni E et al., Unilateral demodicidosis. Eur J Dermatol, 8 (3), 191-192, 1998.
- [10] Vashisht D, Singh J, Baveja S et al., Unilateral Demodicidosis of Face Mimicking Hansen's Disease. Dermatol Reports, 8 (1), 6891, 2016.



SITUATION OF HELMINTHS INFECTION IN PATIENT AT HANOI MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL IN 2022

Pham Ngoc Minh^{1,2}, Nguyen Ngoc Bich^{1,2,*}, Pham Thi Bich Ngoc^{1,2}

¹Hanoi Medical University - No.1 Ton That Tung, Dong Da, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Medical University Hospital - No.1 Ton That Tung, Dong Da, Hanoi, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 16/01/2023; Accepted 28/02/2023

ABSTRACT

Objective: Determine the prevalence of helminth infection in patients visited Hanoi Medical University Hospital in 2022.

Subject and method: A descriptive cross-sectional study was conducted at Hanoi Medical University Hospital in 2022.

Result: Prevalence of helminthiasis was 12.7%, of which *Toxocara* accounted for the highest prevalence of 41.2%, followed by *Strongyloides* 17.1%, *Fasciola* 8.9% and *Clonorchis* 8.8%. Among infected patients, single infection accounted for 74.7%. The most common age group was 21-60 years old which accounted for 71.6%. The prevalence of *Fasciola* and *Clonorchis* infection in males was higher than that in females ($p < 0.05$).

Conclusion: The prevalence of helminth infections of patients was still high, especially some species such as *Toxocara*, *Strongyloides*, *Fasciola* and *Clonorchis*.

Key words: *Toxocara*, *Strongyloides*, *Fasciola*, *Clonorchis*.

*Corresponding author

Email address: dr.ngocbich225@gmail.com

Phone number: (+84) 363 366 709

THỰC TRẠNG NHIỄM GIUN SÁN TRÊN BỆNH NHÂN ĐẾN KHÁM TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI NĂM 2022

Phạm Ngọc Minh^{1,2}, Nguyễn Ngọc Bích^{1,2,*}, Phạm Thị Bích Ngọc^{1,2}

¹Trường Đại học Y Hà Nội - Số 1 Tôn Thất Tùng, Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội - Số 1 Tôn Thất Tùng, Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 16 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 28 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá thực trạng nhiễm giun sán ở bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội năm 2022.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang được tiến hành tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội năm 2022.

Kết quả nghiên cứu: Tỷ lệ nhiễm chung các loài giun sán là 12.7%, trong đó tỷ lệ nhiễm giun đũa chó mèo *Toxocara* là cao nhất 41.2%, tiếp đến là giun lươn ruột *Strongyloides* 17.1%, sán lá gan lớn *Fasciola* 8.9% và sán lá gan nhỏ *Clonorchis* 8.8%. Trong số bệnh nhân nhiễm giun sán, đơn nhiễm chiếm 74,7%. Nhóm tuổi thường gặp nhất là 21-60 tuổi chiếm 71.6%. Không có sự khác biệt về tỷ lệ nam nữ trong nhóm bị nhiễm của từng loài giun sán trừ sán lá gan lớn và sán lá gan nhỏ có tỷ lệ nam cao hơn nữ.

Kết luận: Tỷ lệ nhiễm giun sán của bệnh nhân còn ở mức cao, đặc biệt là một số loài như giun đũa chó mèo *Toxocara*, giun lươn ruột *Strongyloides*, sán lá gan lớn *Fasciola* và sán lá gan nhỏ *Clonorchis*.

Từ khóa: *Toxocara*, *Strongyloides*, *Fasciola*, *Clonorchis*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nằm trong khu vực khí hậu nhiệt đới nóng ẩm, mưa nhiều nên các bệnh nhiệt đới nói chung và bệnh lý do giun sán nói riêng ở nước ta rất phát triển. Điều kiện nhiệt độ, ẩm độ và khí hậu ở Việt Nam cũng rất thích hợp cho sự phát triển của trứng, ấu trùng và vật chủ trung gian của các loài giun sán. Nghiên cứu năm 2020 tại Yên Bái cho thấy tỷ lệ nhiễm nang ấu trùng sán lá gan nhỏ ở cá lên tới 69.7% [2].

Bên cạnh các yếu tố nguy cơ từ môi trường, những thói quen ăn uống, sinh hoạt và lao động của con người cũng là những nguyên nhân chủ yếu làm cho tỷ lệ nhiễm giun sán ở nước ta còn ở mức cao. Ăn các loại thịt, cá và rau sống/tái là nguy cơ rất lớn dẫn đến nhiễm các loài sán như sán dây lợn, sán lá gan lớn, sán lá gan nhỏ. Thói quen lao động thiếu phương tiện phòng hộ, bảo hộ có thể làm tăng nguy cơ tiếp xúc với mầm bệnh của các loại giun sán như ấu trùng giun lươn ruột, trứng giun đũa chó mèo, trứng sán dây và nhiều loại trứng, ấu

*Tác giả liên hệ

Email: dr.ngocbich225@gmail.com

Điện thoại: (+84) 363 366 709



trùng giun sán khác. Bên cạnh đó, việc chăm sóc, gần gũi với các loại vật nuôi như chó, mèo, chuột trong khi thiếu hiểu biết về các bệnh lây truyền người và động vật cũng là yếu tố khiến cho tỷ lệ nhiễm giun sán ở người còn ở mức cao.

Các điều tra trong nước gần đây cho thấy ở một số khu vực tỷ lệ nhiễm các loài giun sán lên tới hơn 50% như điều tra tại Hà Nội năm 2018-2019 với tỷ lệ 59.02% nhiễm giun đũa chó mèo, hay điều tra ở Phúc An, Yên Bái năm 2020 với tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ là 53.3% [1],[3]. Tỷ lệ nhiễm giun lươn ruột ở các tỉnh phía Bắc là 20% theo nghiên cứu của Nguyễn Văn Đề năm 2019 [4]. Một số loài giun sán khác như sán lá gan lớn, giun đầu gai, ấu trùng sán dây lợn tuy tỷ lệ nhiễm không cao nhưng phân bố hầu khắp cả nước làm cho công tác kiểm soát, phòng ngừa gặp nhiều khó khăn.

Nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành nhằm đánh giá thực trạng nhiễm một số loài giun sán thường gặp trên người thông qua phản ứng miễn dịch gắn men ELISA phát hiện kháng thể kháng các loài giun sán này trong huyết thanh bệnh nhân.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Toàn bộ bệnh nhân nghi nhiễm giun sán đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội năm 2022.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại Khoa Vi sinh - Ký sinh trùng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

- Thời gian nghiên cứu: Từ 01/01/2022 đến 31/12/2022

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

- Cơ mẫu: Tổng số 10505 bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

- Cách chọn mẫu: lấy mẫu toàn bộ, trừ các trường hợp:

+ Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu

2.4. Kỹ thuật sử dụng

Nghiên cứu sử dụng kỹ thuật miễn dịch gắn men ELISA để phát hiện trong huyết thanh bệnh nhân có sự tồn tại kháng thể IgG của các loài giun sán sau:

- Giun đũa chó mèo *Toxocara*

- Giun lươn ruột *Strongyloides*

- Sán lá gan lớn *Fasciola*

- Sán lá gan nhỏ *Clonorchis*

- Sán dây chó *Echinococcus*

- Ấu trùng sán dây lợn *Cysticercosis*

- Giun lươn não *Angiostrongylus*

- Giun đầu gai *Gnathostoma*

- Amip *Entamoeba histolytica*

- Sán lá phổi *Paragonimus*

2.5. Xử lý thống kê số liệu

Số liệu thu thập được phân tích và xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.6. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tuân thủ đúng quy định của Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Thông tin bệnh nhân hoàn toàn được bảo mật.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tỷ lệ nhiễm chung

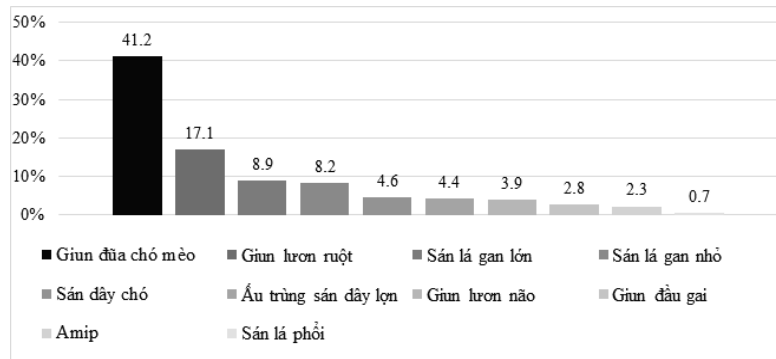
Bảng 3.1: Tỷ lệ nhiễm giun sán chung của nhóm nghiên cứu

Số xét nghiệm	Số nhiễm (n)	Tỷ lệ (%)
10505	1338	12.7

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm giun sán chung ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu là 12.7%

3.2. Tỷ lệ nhiễm từng loài giun sán

Biểu đồ 3.1: Tỷ lệ nhiễm từng loài giun sán của nhóm nghiên cứu



Nhận xét: Loài có tỷ lệ nhiễm cao nhất là giun đũa chó mèo (*Toxocara*) 41.2%, tiếp đến là giun lươn ruột (*Strongyloides*) 17.1%. Tỷ lệ nhiễm thấp nhất là sán lá phổi (*Paragonimus*) 0.7%.

3.3. Phân bố tuổi

Bảng 3.2: Phân bố tuổi của nhóm nhiễm giun sán

Nhóm tuổi	Số nhiễm	Tỷ lệ (%)
<20	71	5.3
21-60	958	71.6
>60	309	23.1
Tổng	1338	100

Nhận xét: Nhóm tuổi lao động 20-60 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất trong số bệnh nhân nhiễm giun sán (71.6%), tiếp theo là nhóm trên 60 tuổi chiếm 23.1%. Nhóm dưới 20 tuổi chiếm tỷ lệ thấp (5.3%).

3.4. Phân bố giới tính

Bảng 3.3: Phân bố giới tính theo từng loài nhiễm

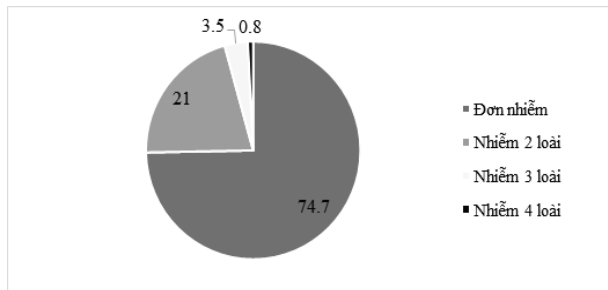
Tên loài	Nam		Nữ		P
	Số nhiễm	Tỷ lệ (%)	Số nhiễm	Tỷ lệ (%)	
Chung	674	50.4	664	49.6	>0.05
Giun đũa chó mèo (<i>Toxocara</i>)	535	49.2	553	50.8	>0.05
Giun lươn ruột (<i>Strongyloides</i>)	171	51.4	162	48.6	>0.05
Sán lá gan lớn (<i>Fasciola</i>)	98	62.0	60	38.0	<0.05
Sán lá gan nhỏ (<i>Clonorchis</i>)	41	64.1	23	35.9	<0.05
Sán dây chó (<i>Echinococcus</i>)	19	65.5	10	34.5	>0.05
Ấu trùng sán dây lợn (<i>Cysticercosis</i>)	13	61.9	8	38.1	>0.05
Giun lươn não (<i>Angiostrongylus</i>)	9	81.8	2	18.2	>0.05
Giun đầu gai (<i>Gnathostoma</i>)	17	51.5	16	48.5	>0.05
Amip (<i>Entamoeba histolytica</i>)	3	60.0	2	40.0	>0.05
Sán lá phổi (<i>Paragonimus</i>)	1	25.0	3	75.0	>0.05

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nam nữ trong nhóm bệnh nhân nhiễm giun sán chung. Trong nhóm bệnh nhân nhiễm sán lá gan lớn và sán lá gan nhỏ, tỷ lệ nam giới cao hơn nữ giới với $p < 0.05$. Nhóm bệnh nhân

nhiễm các loài giun sán còn lại không thấy sự khác biệt về tỷ lệ nam và nữ.

3.5. Đơn nhiễm và đa nhiễm

Biểu đồ 3.2: Tỷ lệ đơn nhiễm và đa nhiễm trong nhóm bệnh nhân nhiễm giun sán



Nhận xét: Đơn nhiễm chiếm tỷ lệ cao nhất (74.7%) trong nhóm bệnh nhân nhiễm giun sán. Trong số bệnh nhân đa nhiễm, nhiễm 2 loài là chủ yếu (21%), nhiễm 3 loài và 4 loài chiếm tỷ lệ rất thấp, lần lượt là 3.5% và 0.8%.

4. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm chung các loài giun sán trên nhóm bệnh nhân nghiên cứu là 12.7%, thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Văn Đề năm 2018-2019 (64.02%) [1]. Sự khác biệt này là do thay đổi trong cách chọn mẫu. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Đề lựa chọn các bệnh nhân có triệu chứng và được chỉ định khám chuyên khoa ký sinh trùng trong khi nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn các bệnh nhân nghi nhiễm giun sán từ nhiều phòng khám và chuyên khoa khác nhau. Có thể thấy hiện nay, các bệnh lý giun sán nói riêng và ký sinh trùng nói chung đã từng bước được sàng lọc, phân loại và chỉ định khám đúng chuyên khoa, đem lại hiệu quả chẩn đoán cao hơn.

Giun đũa chó mèo *Toxocara* là loài có tỷ lệ nhiễm cao nhất trong nghiên cứu của chúng tôi với 41.2% bệnh nhân nhiễm bệnh. Nghiên cứu năm 2012 tại Trung tâm y tế Medic, thành phố Hồ Chí Minh cũng cho kết quả tương tự với tỷ lệ nhiễm giun đũa chó mèo ở mức khá cao (45.2% bệnh nhân) [5]. Thực tế cho thấy hiện nay, việc nuôi, chăm sóc và gài gùi chó, mèo ngày càng trở nên phổ biến, tuy nhiên kiến thức của người nuôi về các bệnh liên quan đến chó mèo cũng như một số bệnh lây truyền người và động vật còn nhiều hạn chế. Điều này làm cho tỷ lệ các bệnh liên quan đến vật nuôi, đặc

biệt là chó mèo ngày càng tăng cao và trở nên khó kiểm soát. Bên cạnh bệnh ấu trùng giun đũa chó mèo, bệnh ấu trùng sán dây chó cũng là một trong các bệnh lý liên quan đến vật nuôi và có tỷ lệ không thấp trong nghiên cứu của chúng tôi (4.6%).

Giun lươn ruột là loài đứng thứ 2 về tỷ lệ nhiễm trong nhóm nghiên cứu với 17.2% bệnh nhân. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu gần đây như nghiên cứu của Nguyễn Văn Đề năm 2016-2017 tại Hà Nội với tỷ lệ nhiễm 20%, hay nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Diệp tại 4 tỉnh thành phố Đắk Lắk, Huế, Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh năm 2017 với 29.1% bệnh nhân nhiễm [4],[6]. Bệnh giun lươn ruột phổ biến với các triệu chứng như ỉa chảy (64.5%), rối loạn tiêu hóa (58%), ngứa (28%) kèm theo có tăng bạch cầu ái toan (100%) [4]. Nguyên nhân mắc bệnh chính thường do lao động, tiếp xúc với đất thiếu các phương tiện bảo hộ, ấu trùng giun lươn tiếp xúc trực tiếp và xuyên qua da đi vào cơ thể.

Bên cạnh những yếu tố nguy cơ mắc bệnh từ động vật hay thói quen lao động không đảm bảo vệ sinh, các loài giun sán còn có khả năng gây nhiễm vào cơ thể người thông qua ăn uống các loại thực phẩm chưa được nấu chín kỹ như rau sống, thịt cá. Một số loài sán xâm nhập qua đường ăn uống có tỷ lệ nhiễm cao trong nghiên cứu của chúng tôi là sán lá gan lớn (8.9%), sán lá gan nhỏ (8.8%) và ấu trùng sán dây lợn (4.4%). Một số nghiên cứu ở các khu vực khác cũng cho thấy tỷ lệ nhiễm 3 loài sán này tương đương với nghiên cứu của chúng tôi như nghiên cứu tại Đắk Lắk năm 2018 với tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán lợn là 5% và nghiên cứu tại thành phố Hồ Chí Minh với tỷ lệ nhiễm sán lá gan lớn 5.9% [5],[7]. Nghiên cứu của Đặng Thị Cẩm Thạch cho thấy tỷ lệ

nhiễm sán lá gan nhỏ cao hơn (26.1%) do được tiến hành tại Kim Sơn, Ninh Bình là 1 trong những vùng trọng điểm nhiễm sán lá gan nhỏ trên cả nước [8].

Nhóm tuổi lao động 21-60 tuổi là nhóm tuổi chủ yếu trong số bệnh nhân nhiễm giun sán. Đây là nhóm tuổi thường gặp nhiều yếu tố nguy cơ mắc bệnh nhất như: ăn uống không vệ sinh, ăn thức ăn sống/tái, thói quen lao động không đảm bảo an toàn, dễ tiếp xúc với mầm bệnh giun sán. Nhóm dưới 20 tuổi được chú ý về vệ sinh ăn uống nhiều hơn, ít ăn đồ sống/tái và chưa tham gia nhiều vào lao động, do đó nguy cơ nhiễm bệnh thấp hơn. Thực tế kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tỷ lệ bệnh nhân dưới 20 tuổi trong nhóm bệnh nhân nhiễm giun sán rất thấp (5.3%). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Văn Đê năm 2018-2019 [1].

Kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ nam và nữ trong nhóm bệnh nhân nhiễm từng loài giun sán, chỉ riêng nhóm nhiễm sán lá gan lớn và sán lá gan nhỏ thấy tỷ lệ nam giới cao hơn nữ giới ($p < 0.05$). Cùng thời điểm năm 2022, nghiên cứu tại một bệnh viện đa khoa quốc tế tại Hà Nội cũng cho thấy trong nhóm bệnh nhân nhiễm sán lá gan lớn, tỷ lệ nam giới (51%) cao hơn nữ giới (49%), trái ngược với nghiên cứu trước đó năm 2012 tại thành phố Hồ Chí Minh [5],[9]. Hideto Kino nghiên cứu tại Kim Sơn, Ninh Bình cũng cho thấy nam giới nhiễm sán lá gan nhỏ nhiều hơn nữ (23.4% và 1.5%) với $p < 0.01$ [10]. Nghiên cứu của Đặng Thị Cẩm Thạch năm 2008 và nghiên cứu năm 2020 tại 4 xã thuộc hai tỉnh Yên Bái và Thanh Hóa cũng cho kết quả tương tự với tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ ở nam cao hơn so với nữ ($p < 0.05$) [3],[8].

Đơn nhiễm chiếm đa số (74.7%) trong nhóm bệnh nhân nhiễm giun sán. Kết quả này trái ngược với nghiên cứu của Nguyễn Văn Đê năm 2018-2019 [1]. Nguyên nhân có thể do sự khác biệt trong cách lựa chọn mẫu cho nghiên cứu cũng như độ lớn cỡ mẫu.

5. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm chung các loài giun sán của bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội năm 2022 là 12.7%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm cao nhất là giun đũa chó mèo 42.1%, giun lươn ruột 17.2%.

Nhóm tuổi thường gặp nhất nhiễm giun sán là 21-60 tuổi. Không có sự khác biệt về tỷ lệ nam nữ trong các nhóm bệnh nhân nhiễm từng loài giun sán, riêng sán lá gan lớn và sán lá gan nhỏ có tỷ lệ nam giới cao hơn nữ giới với $p < 0.05$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Đê và cộng sự, Thực trạng nhiễm giun sán tại phòng xét nghiệm ký sinh trùng năm 2018-2019, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 2020, số 1 (115), trang 10-16.
- [2] Fuhong Dai et al, High Prevalence of Clonorchis sinensis and Other Zoonotic Trematode Metacercariae in Fish from a Local Market in Yen Bai Province, Northern Vietnam, The Korean Journal of Parasitology, 2020, 58(3), 333-338.
- [3] Nguyen TTB et al, Prevalence and risk factors associated with Clonorchis sinensis infections in rural communities in northern Vietnam. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2020, 14(8).
- [4] Nguyen Van De et al., Strongyloidiasis in northern Vietnam: epidemiology, clinical characteristics and molecular diagnosis of the causal agent, Parasites and Vector, 2019, 12:515.
- [5] Toan Nguyen et al., Seroprevalence of fascioliasis, toxocariasis, strongyloidiasis and cysticercosis in blood samples diagnosed in Medic Medical Center Laboratory, Ho Chi Minh City, Vietnam in 2012, Parasites and Vector, 2016, 9:486.
- [6] Nguyen Thi Ngoc Diep et al., SHORT REPORT: Strongyloides stercoralis seroprevalence in Vietnam, Epidemiology and infection, 2017, 145, 3214-3218.
- [7] Ng-Nguyen D et al, The epidemiology of Taenia spp. infection and Taenia solium cysticerci exposure in humans in the Central Highlands of Vietnam, BMC Infectious Diseases, 2018, 18(1):527.
- [8] Thạch Dang Thi Cam et al., Prevalence, intensity and risk factors for clonorchiasis and possible use of questionnaires to detect individuals at risk in northern Vietnam, Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2008, 102, 1263-1268.
- [9] Nguyen Thu, H et al., Diagnosing Human Fascioliasis Using ELISA Immunoassays at a Tertiary Referral Hospital in Hanoi: A Cross-Sectional Study. Tropical Medicine and Infectious Diseases, 2022, 7, 76.
- [10] Hideto Kino et al., Epidemiology of Clonorchiasis in Ninh Binh province, Viet Nam, Southeast Asian journal of tropical medicine and public health, 1998, 29(2), 250-254.



STUDY ON CHARACTERISTICS OF SOME *ASPERGILLUS* SPECIES ISOLATED FROM THE AIR ENVIRONMENT

Phan Huy Hao*, Nguyen Van Bac, Dang Quang Hung

Institute 69 - 1b Bach Thao, Hoang Hoa Tham, Ba Dinh, Hanoi, Vietnam

Received 10/01/2023

Revised 14/02/2023; Accepted 01/03/2023

ABSTRACT

Objective: Identify four fungal strains and determine the ability to grow at different temperature and water activity conditions.

Objects and methods: Four strains fungi isolated from the laboratory air of 69 Institute; Fungi were identified based on morphological characteristics and sequence analysis of the ITS (Internal transcribed spacer) gene of rDNA with primer pairs ITS1/ITS4. Study on the effect of temperature (16°C, 25°C) and water activity (0,99; 0,88; 0,8; 0,68; 0,6) on the growth rate of fungi.

Results: Identified four fungal strains belonging to four species of the genus *Aspergillus* (Strains 01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21 are *A.niger*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor* respectively). Four fungal strains were able to grow on media with water activity of 0,88 at the temperature of 16°C and 25°C. Two strains (*A. versicolor*, *A. ochraceus*) can grow at water activity 0,8 and temperature 25°C. Fungal growth was completely inhibited at water activity of 0,68; 0,6 at both temperature conditions (16°C, 25°C).

Conclusion: The identified fungal strains belong to the species of the genus *Aspergillus*. Fungi exhibit different growth capacities depending on water activity and temperature conditions.

Keywords: *Aspergillus*, morphology, ITS, water activity.

*Corresponding author

Email address: dr.huyhao@gmail.com

Phone number: (+84) 988 905 900

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM MỘT SỐ LOÀI *ASPERGILLUS* PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ

Phan Huy Hào*, Nguyễn Văn Bắc, Đặng Quang Hưng

Viện 69, Bộ Tư lệnh Bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh - Ngõ 1b Bách Thảo, Hoàng Hoa Thám, Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 10 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 14 tháng 02 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 01 tháng 03 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Định danh 4 chủng vi nấm và xác định khả năng phát triển trong các điều kiện nhiệt độ, hoạt độ nước khác nhau.

Đối tượng và phương pháp: 4 chủng vi nấm phân lập từ không khí phòng thí nghiệm của Viện 69; Định danh vi nấm dựa trên đặc điểm hình thái và phân tích trình tự gen vùng ITS (Internal transcribed spacer) của rDNA với cặp môi ITS1/ITS4; Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ (16°C, 25°C) và hoạt độ nước (0,99; 0,88; 0,8; 0,68; 0,6) đến tốc độ phát triển của vi nấm.

Kết quả: 4 chủng vi nấm trong nghiên cứu được xác định thuộc về 4 loài của chi *Aspergillus* (chủng 01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21 tương ứng là *A.niger*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*). 4 chủng đều có khả năng phát triển trên môi trường có hoạt độ nước >0,88 ở nhiệt độ 16°C và 25°C. 2 chủng *A. versicolor*, *A. ochraceus* có thể phát triển ở hoạt độ nước 0,8; nhiệt độ 25°C. Hoạt độ nước 0,68 và 0,6 ức chế hoàn toàn khả năng phát triển của vi nấm ở cả 16°C và 25°C.

Kết luận: Các chủng vi nấm được định danh thuộc về các loài của chi *Aspergillus*. Vi nấm thể hiện khả năng phát triển khác nhau phụ thuộc vào điều kiện nhiệt độ và hoạt độ nước.

Từ khóa: *Aspergillus*, đặc điểm hình thái, ITS, hoạt độ nước.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi *Aspergillus* được phát hiện và đặt tên từ rất sớm bởi Micheli năm 1729. Đây là một trong những chi nấm mốc phổ biến ở môi trường trong nhà và bệnh viện, là nguyên nhân gây ra các bệnh dị ứng, hen suyễn, nhiễm nấm cơ hội... Hiện nay thế giới đã biết đến hơn 200 loài *Aspergillus*, trong đó khoảng 40 loài được coi là mầm gây bệnh ở con người. *Aspergillus* khi nhiễm trong thực phẩm có thể gây ra các triệu chứng ngộ độc từ cấp tính (suy giảm chức năng gan thận...) đến mãn tính (gây

ung thư...) bởi khả năng sinh độc tố quan trọng như aflatoxin, gliotoxin, ochratoxin A... [1], [2].

Các loài *Aspergillus* rất đa dạng về màu sắc khuẩn lạc, đây là đặc điểm riêng cho từng nhóm; như nhóm *A. niger* có màu đen, nhóm *Aspergillus flavus* có màu xanh lục,... Nhiệt độ và hoạt độ nước ảnh hưởng rất lớn đến sự nảy mầm, phát triển và sinh bào tử của nấm. Những chủng loài vi nấm có khả năng sinh trưởng và phát triển trên môi trường có hoạt độ nước từ 0,7-0,95 aw được các nhà nghiên cứu xếp thành một nhóm sinh

*Tác giả liên hệ

Email: dr.huyhao@gmail.com

Điện thoại: (+84) 988 905 900



thái riêng gọi là nhóm vi nấm ưa khô (Xerophile), nhiều loài trong nhóm này thuộc nhóm *Aspergillus* [3], ví dụ như theo Tepsic và CS (1997) chủng vi nấm thuộc loài *Aspergillus fumigatus* có thể phát triển ở hoạt độ nước 0,82 [4]. Andrea và CS (2007) cho biết các chủng *A. niger* có thể phát ở các điều kiện hoạt độ nước thấp (0,85, 0,89, 0,91) [5].

Trong nghiên cứu này, ứng dụng phương pháp hình thái và sinh học phân tử giải trình tự gen vùng ITS đã định danh 4 chủng vi nấm thường gặp trong không khí phòng thí nghiệm của Viện 69 thuộc về chi *Aspergillus*, Chúng có những đặc điểm phát triển riêng trên môi trường có điều kiện nhiệt độ và hoạt độ nước khác nhau.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Labo thí nghiệm của Viện 69; Thời gian thực hiện năm 2022.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

4 Chủng vi nấm (01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21) phân lập từ môi trường không khí phòng thí nghiệm Viện 69, được làm thuần khiết trước khi tiến hành những nghiên cứu.

2.3. Vật liệu, thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

Môi trường nuôi cấy: Malt Extract Agar (MEA), Malt Extract broth đều của Merk - Đức.

Thiết bị chính: Tủ ấm nuôi cấy (Binder - Đức); Kính hiển vi quang học (NIKON 80i - Nhật); Kính hiển vi điện tử quét (JSM/5410LV, JEOL - Nhật); Máy PCR Mastercycler S230 V/50 (Effendorf - Mỹ); Máy đo quang (Nano photometer, IMPLIN - Mỹ); Bộ điện di ngang (Enduro - Mỹ); Hệ thống soi gel (Gendoc - Mỹ); Tủ vi khí hậu (Rumed - Đức).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Phân loại vi nấm bằng phương pháp hình thái

Chủng nấm được nuôi cấy thuần khiết trên môi trường MEA. Xác định các đặc điểm khuẩn lạc; đặc điểm vi thể trên kính hiển vi quang học; đặc điểm siêu vi thể trên kính hiển vi điện tử quét. So sánh đặc điểm thu được với các khóa phân loại để xác định danh pháp của chủng vi nấm nghiên cứu: Khóa phân loại của Raper B. & Fennell (1965), Domsch K.H., Gams W. (1980) [1], [6].

Phân loại vi nấm bằng sinh học phân tử

Tách chiết DNA tổng số: Nuôi cấy lác vi nấm trong môi trường Malt broth ở tốc độ 180v/phút/27°C trong 5-7 ngày. Thu sinh khối bằng giấy lọc. Tách chiết DNA tổng số bằng kit E.Z.N.A.Fungal DNA Mini Kit (Omega, Mỹ).

Khuếch đại đoạn gen đích: Nhân đoạn gen ITS của rDNA với cặp mồi ITS1/ITS4 (5' - TCCG TAGGTGAACCTGCGG - 3' / 5 - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3') [7]. Chu trình nhiệt phản ứng PCR: 95°C/60''; (95°C/15'' - 55,8°C/15'' - 72°C/10'') x 30 chu kỳ; 72°C/60''. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,2%.

Tinh sạch sản phẩm DNA sau PCR bằng kit E.Z.N.A. Cycle Pure Kit (Omega, Mỹ). Giải trình tự gen trên máy ABI PRISM®3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) tại Công ty 1st BASE DNA - Malaysia. Phân tích trình tự gen bằng phần mềm Bioedit V7.0 và so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov), cây phả hệ được xây dựng bằng phần mềm MEGA X theo phương pháp Neighbor-Joining.

Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ và hoạt độ nước đến tốc độ phát triển của vi nấm

Tạo môi trường nuôi cấy có hoạt độ nước khác nhau: sử dụng glycerol điều chỉnh môi trường nuôi cấy Malt Extract Agar để có hoạt độ nước 0,99; 0,88; 0,8; 0,68; 0,6. Tiến hành đo kiểm tra lại bằng máy đo hoạt độ nước Rotronic Hygrolab C1 (Rotronic - Thụy sĩ). Cây vi nấm lên các đĩa môi trường có hoạt độ nước khác nhau, sau đó đặt ở 2 điều kiện nhiệt độ (25°C và 16°C). Xác định tốc độ phát triển bằng đo đường kính khuẩn lạc. độ lặp 3 lần.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm hình thái các chủng vi nấm

Đặc điểm hình thái đại thể, vi thể và siêu vi thể của 4 chủng vi nấm được quan sát.

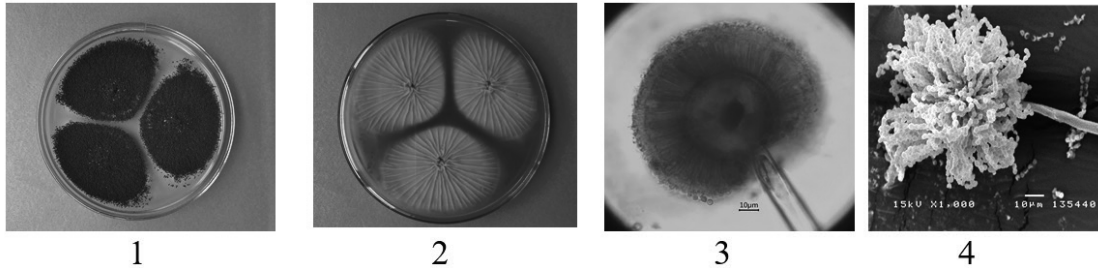
** Chủng vi nấm 01/DTCS21:*

Khuẩn lạc phát triển trên môi trường MEA, đường kính đạt 4,5-5,0 cm/10 ngày ở 25°C. Mặt khuẩn lạc dạng nhung đến xốp bông với các đầu sinh bào tử hình tia hoặc hình cột tẽ, màu nâu đen hoặc màu đen than; mặt trái không màu đến vàng nhạt.

Cuống sinh bào tử kích thước 150-1550mm x 5,0-20mm, không màu đến nâu vàng đậm, thành dày, nhẵn; bong gân cầu đến cầu, đường kính 13,0-72,0mm. Thể bình 2 tầng, cuống thể bình bao phủ

1/2 đến toàn bộ bề mặt bong, 0-3 vách ngang, 4,0-60,0mm x 3,5-15mm; thể bình 4,8- 17,0mm x 2,4-6,5mm. Bào tử trần hình gân cầu đến cầu, 2,8-5,6 mm, gai ráp hoặc có rãnh.

Hình 1. Đặc điểm hình thái chủng 01/DTCS21 trên môi trường MEA/10 ngày/25°C



1-2 Khuẩn lạc và mặt trái khuẩn lạc. 3-Cơ quan sinh bào tử trần x1000.

4-Cơ quan sinh bào tử trần x1000.

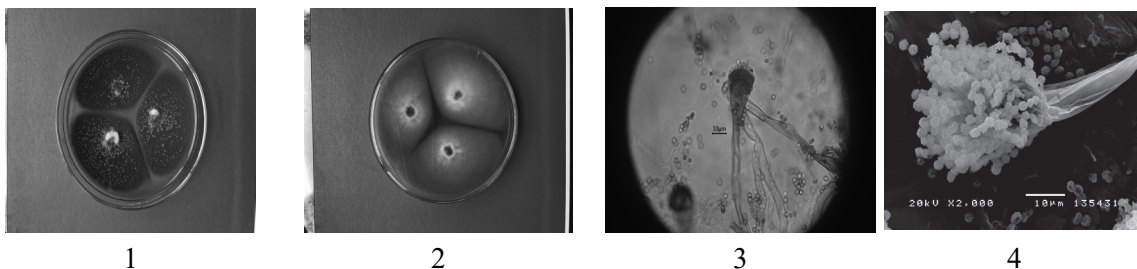
* **Chủng vi nấm 02/DTCS21:**

Khuẩn lạc phát triển trên môi trường MEA mọc lan rộng, đường kính đạt 4-5 cm/10 ngày ở 25°C, bề mặt không ổn định, có nhiều sợi lông mềm như tơ, lúc đầu có màu trắng, sau chuyển xanh lục đến lục xám; mặt

trái không màu, một số có thể có màu xanh, vàng hay nâu đỏ; giọt tiết trong.

Cuống sinh bào tử nhẵn, kích thước đến 300mm x 5-8mm, sinh ra từ đầu sợi nấm hay từ thân sợi. Bong hình gân cầu đến quả lê, 20-30mm, màu nâu nhạt. Thể bình một tầng hình trụ dày đặc, 6-8mm x 2-3mm. Bào tử trần hình cầu hay gân cầu, xù xì đến gai, 2,5 x 3mm. Không thấy hạch nấm.

Hình 2. Đặc điểm hình thái chủng 02/DTCS21 trên môi trường MEA/10 ngày/25°C



1-Khuẩn lạc. 2- Mặt trái khuẩn lạc. 3-Cơ quan sinh bào tử trần x1000.

4-Cơ quan sinh bào tử trần x2000.

* **Chủng vi nấm 03/DTCS21:**

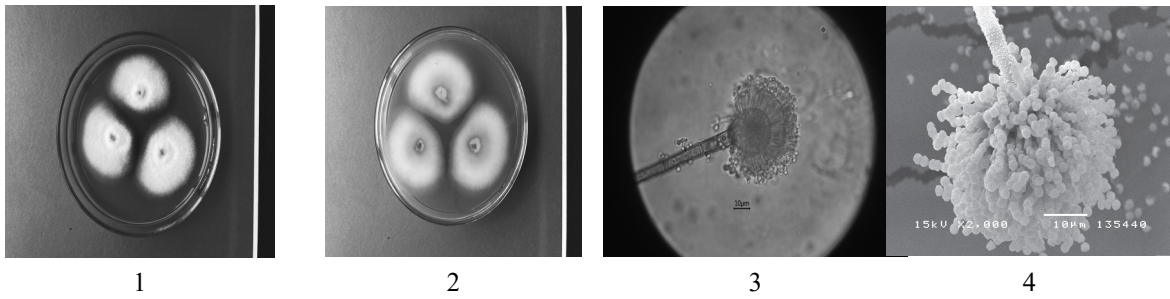
Khuẩn lạc phát triển nhanh trên môi trường MEA, đạt 4,5-5,5 cm/10 ngày ở 25°C, màu trắng đến kem hoặc nâu vàng nhạt. Hạch nấm màu vàng đến nâu; mặt trái

màu vàng đến nâu.

Cuống sinh bào tử có thể dài đến 1mm, nhưng thường từ 500-600mm x 6-8mm, gai ráp, thành dày. Bong hình gân cầu đến cầu, đường kính 12-25mm; thể bình 2 tầng; cuống thể bình 4,5-8,0mm x 3,3-4,4mm, thể bình 6,5-8,0mm x 2,0-2,5mm; bào tử trần hình gân cầu đến cầu, ráp nhẹ, 2,0-2,5mm. Hạch nấm hình gân cầu đến cầu, đường kính 300 - 450mm.



Hình 3. Đặc điểm hình thái chủng 03/DTCS21 trên môi trường MEA/10 ngày/25°C



1-Khuẩn lạc. 2- Mặt trái khuẩn lạc. 3-Cơ quan sinh bào tử trần x1000.

4-Cơ quan sinh bào tử trần x2000.

*** Chủng vi nấm 04/DTCS21:**

Khuẩn lạc phát triển trên môi trường MEA đạt 2,2-3cm/10 ngày ở 25°C, có khía phân vùng. Bề mặt khuẩn lạc dạng nhung, trung tâm có màu xanh lục lơ đến lục xám, mép màu trắng; giọt tiết không màu đến nâu đỏ;

mặt trái màu vàng nhạt đến nâu cam.

Cuống sinh bào tử kích thước 110-730mm x 4,5-8,0mm, không màu đến nâu nhạt, thành dày, nhẵn. Bọng hình gần cầu đến quả lê hoặc elip, kích thước 8,0 - 19mm. Thể bình 2 tầng, bao phủ 3/4 đến toàn bộ bề mặt bọng. Cuống thể bình 3,5-8,0mm x 2,5-5,0 mm; thể bình 3,5-8,5 x 2,5-3,2mm. Bào tử hình gần cầu hoặc cầu, kích thước 3,0-3,8mm, gai ráp. Tế bào Hüll hình gần cầu đến cầu, 10-15mm.

Hình 4. Đặc điểm hình thái chủng 04/DTCS21 trên môi trường MEA/10 ngày/25°C



1- Khuẩn lạc. 2- Mặt trái khuẩn lạc. 3-Cơ quan sinh bào tử trần x1000.

4-Cơ quan sinh bào tử trần x3500.

So sánh những đặc điểm hình thái thu được với khóa phân loại của Raper B. & Fennell (1965) và Domsch K.H., Gams W. (1980) xác định: các chủng 01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21 tương ứng phù hợp với các loài *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus* và *A. versicolor*.

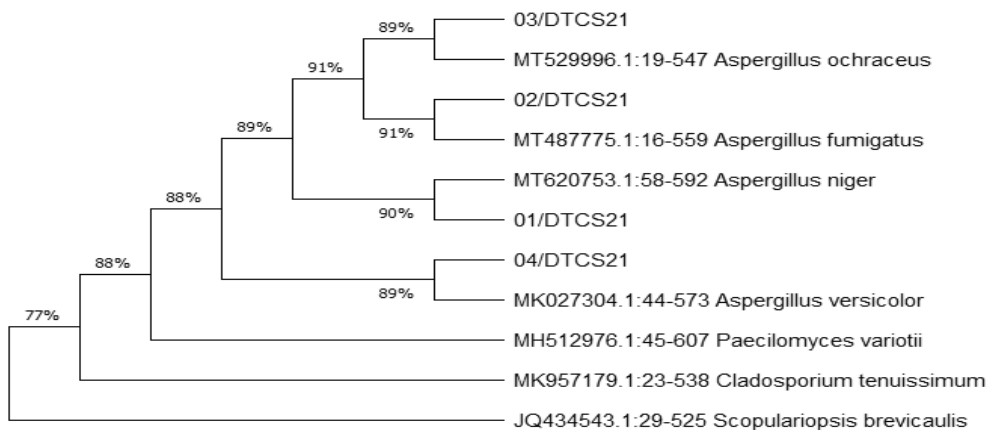
3.2. Đặc điểm sinh học phân tử

Trình tự gen thu được sau khi giải trình tự của 4 chủng vi nấm 01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21 có sự tương đồng so với trình tự của các loài vi nấm đã đăng ký trên GenBank lần lượt là 100% với *A.niger*; 99,63% với *A. fumigatus*; 100% với *A. ochraceus*; 99,81% với *A. versicolor* (Bảng 1). Giá trị Bootstrap được thể hiện ở cây phân loại nằm trong khoảng 89 – 91% (Hình 5).

Bảng 1. Kết quả tóm tắt Blast search trình tự gen của 4 chủng

TT	Kí hiệu chủng	Dữ liệu trên GenBank		
		Tên loài	Mã số	Tỉ lệ tương đồng (%)
1	01/DTCS21	<i>Aspergillus niger</i>	MT620753.1	100
2	02/DTCS21	<i>Aspergillus fumigatus</i>	MT487775.1	99,63
3	03/DTCS21	<i>Aspergillus ochraceus</i>	MT529996.1	100
4	04/DTCS21	<i>Aspergillus versicolor</i>	MK027304.1	99,81

Hình 5. Cây phân loại dựa trên phân tích trình tự Its của 4 chủng vi nấm

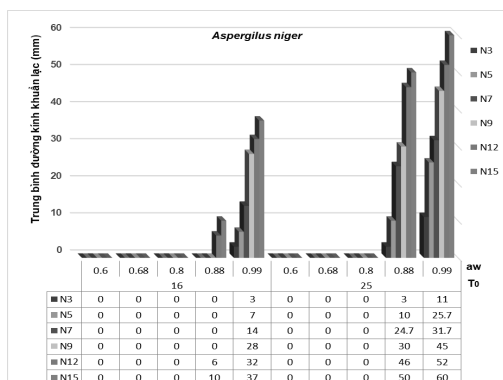


Như vậy căn cứ vào mức độ tương đồng và giá trị tin cậy của giải trình tự gen, có thể xác định 4 chủng vi nấm trong nghiên cứu (01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21) thuộc về 4 loài *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*).

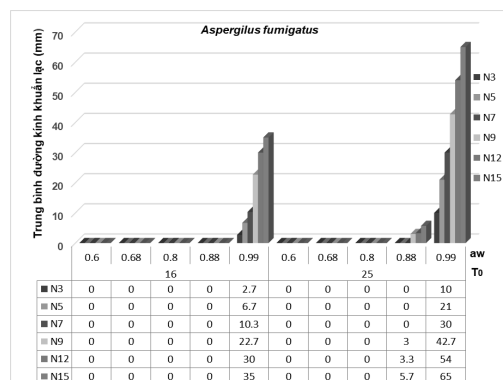
3.3. Ảnh hưởng của hoạt độ nước và nhiệt độ đến sự phát triển của vi nấm

Cả 4 chủng *Aspergillus* trong nghiên cứu đều phát triển tốt trong điều kiện hoạt độ nước 0,99 và nhiệt độ 25°C. tại điều kiện hoạt độ nước 0,88 và nhiệt độ 16°C chủng vi nấm *A. fumigatus* không quan sát thấy sự phát triển. Hai chủng *A. ochraceus* và *A. versicolor* có khả năng phát triển được trong điều kiện hoạt độ nước 0,8; nhiệt độ 25°C sau tương ứng 7 ngày và 15 ngày (Hình 6, 7, 8, 9)

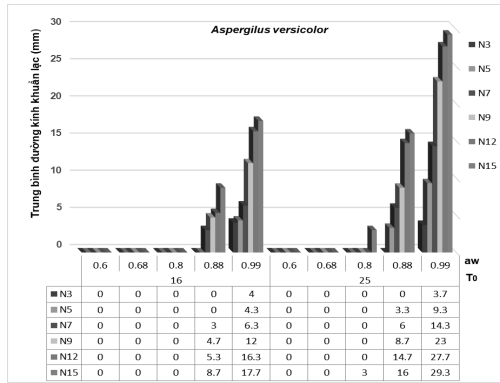
Hình 6. Tốc độ phát triển của *A. niger* tại các điều kiện aw, t^o khác nhau



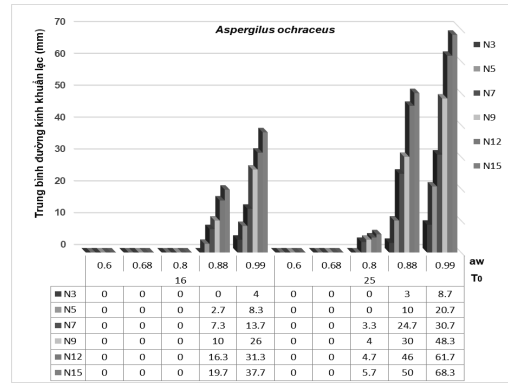
Hình 7. Tốc độ phát triển của *A. fumigatus* tại các điều kiện aw, t^o khác nhau



Hình 8. Tốc độ phát triển của *A. versicolor* tại các điều kiện aw, t° khác nhau



Hình 9. Tốc độ phát triển của *A. ochraceus* tại các điều kiện aw, t° khác nhau



4. BÀN LUẬN

Vi nấm là nhóm sinh vật rất phong phú về phát sinh chủng loại, khả năng thích nghi cao, có thể biến đổi để tồn tại và phát triển, dẫn đến dữ liệu phân loại của các chủng vi nấm rất đa dạng [8]. Nghiên cứu phân loại, định danh vi nấm là bước đầu tiên tối quan trọng, cơ sở cho các nghiên cứu cơ bản và ứng dụng do nó chứa đựng nhiều thông tin như mối quan hệ gần gũi, sự tiến hóa, khả năng sinh các chất có hoạt tính sinh học, khả năng mang các tổ hợp gen... Ứng dụng các phương pháp trong định danh vi nấm là hướng phát triển mạnh mẽ, bổ sung cho nhau nhằm hướng đến kết quả chính xác nhất [3], [9].

Trong nghiên cứu này, đã sử dụng kết hợp giữa phương pháp hình thái và giải trình tự gen trong phân loại, định danh 4 chủng vi nấm. Sự tương đồng về kết quả của 2 phương pháp (hình thái và giải trình tự gen vùng ITS) cho phép khẳng định 4 chủng vi nấm (01/DTCS21, 02/DTCS21, 03/DTCS21, 04/DTCS21) thuộc về 4 loài của chi *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*).

Khi nghiên cứu khả năng phát triển trong các điều kiện nhiệt độ và hoạt độ nước khác nhau thấy rằng: 4 chủng vi nấm đều có khả năng phát triển ở hoạt độ nước 0,99 và 0,88; trong đó 2 chủng *A. ochraceus*, *A. versicolor* có khả năng phát triển ở hoạt độ nước thấp 0,8; nhiệt độ 25°C. Nhiệt độ 16°C ức chế rõ rệt tốc độ phát triển của vi nấm so với ở nhiệt độ 25°C. Ở hoạt độ nước 0,68 và 0,6 ức chế hoàn toàn khả năng phát triển của vi nấm ở cả 16°C và 25°C.

Nghiên cứu của Andrea và CS (2007), chủng *A. niger* phân lập trên một số môi trường tăng trưởng tối đa ở

30°C và hoạt độ nước 0,97; tại 15°C phát triển chậm ở hoạt độ nước thấp (0,85, 0,89, 0,91), tăng ở điều kiện 0,94, 0,95, 0,97 và 0,995; đặc biệt có một chủng phân lập từ hạt cà phê không phát triển ở 15°C trong mọi điều kiện hoạt độ nước [5]. Camardo Leggieri và CS (2017), chủng *A. versicolor* phân lập từ pho mát có khả năng phát triển trong điều kiện hoạt độ nước 0,87 và tối ưu ở 0,96. Điều kiện nhiệt độ phát triển tối ưu là 25°C [10]. Alonso và CS (2017), nghiên cứu *A. fumigatus* phân lập từ bã cây ngô thấy rằng không thể phát triển ở điều kiện hoạt độ nước 0,8 và 0,85 [11]. Nghiên cứu của Tepsic và CS (1997), đã báo cáo *A. fumigatus* có thể phát triển ở điều kiện hoạt độ nước 0,828, nhiệt độ sau 15 ngày nuôi cấy [4]. Pardo và CS (2005), *A. ochraceus* phân lập từ hạt cà phê, phát triển tốt nhất ở điều kiện 30°C, hoạt độ nước 0,95; 0,99; có khả năng phát triển được ở hoạt độ nước 0,8, điều kiện 30°C và 20°C [12].

5. KẾT LUẬN

Dựa trên những đặc điểm về hình thái và giải trình tự gen vùng ITS với cặp môi ITS1/ITS4, đã định danh được 4 chủng vi nấm nghiên cứu thuộc về 4 loài của chi *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*).

Vi nấm đều có khả năng phát triển ở điều kiện môi trường có hoạt độ nước 0,88; nhiệt độ 16°C và 25°C. 2 chủng *A. versicolor*, *A. ochraceus* có thể phát triển ở hoạt độ nước 0,8; nhiệt độ 25°C. Hoạt độ nước 0,68 và 0,6 ức chế hoàn toàn khả năng phát triển của vi nấm ở cả 16°C và 25°C.

6. LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hoàn thành từ kinh phí của đề tài cấp cơ sở KYBL.CS-21-01. Xin trân trọng cảm ơn Bộ Tư lệnh Bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh và Viện 69 đã tạo điều kiện cho chúng tôi hoàn thành nội dung nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Raper KB, Fennell DI, The genus *Aspergillus*. The genus *Aspergillus*., 1965
- [2] Bhatnagar D, Yu J, Ehrlich KC, Toxins of filamentous fungi. *Chemical immunology*, 81, 167-206, 2002.
- [3] Pitt JI, Hocking AD, *Fungi and food spoilage*, Springer, 2009
- [4] Tepšič K, Gunde-Cimerman N, Frisvad JC, Growth and mycotoxin production by *Aspergillus fumigatus* strains isolated from a saltern. *FEMS Microbiology Letters*, 157 (1), 9-12, 1997.
- [5] Astoreca A, Magnoli C, Ramirez ML et al., Water activity and temperature effects on growth of *Aspergillus niger*, *A. awamori* and *A. carbonarius* isolated from different substrates in Argentina. *International journal of food microbiology*, 119 (3), 314-318, 2007.
- [6] Domsch KH, Gams W, Anderson TH, *Compendium of soil fungi*. Volume 1, Academic Press (London) Ltd., 1980
- [7] White TJ, Bruns T, Lee S et al., Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18 (1), 315-322, 1990.
- [8] Hawksworth DL, The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological research*, 95 (6), 641-655, 1991.
- [9] Raja HA, Miller AN, Pearce CJ et al., Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of natural products*, 80 (3), 756-770, 2017.
- [10] Camardo Leggieri M, Decontardi S, Bertuzzi T et al., Modeling growth and toxin production of toxigenic fungi signaled in cheese under different temperature and water activity regimes. *Toxins*, 9 (1), 4, 2016.
- [11] Alonso V, Cavaglieri L, Ramos A et al., Modelling the effect of pH and water activity in the growth of *Aspergillus fumigatus* isolated from corn silage. *Journal of applied microbiology*, 122 (4), 1048-1056, 2017.
- [12] Pardo E, Marin S, Ramos A et al., Effect of water activity and temperature on mycelial growth and ochratoxin A production by isolates of *Aspergillus ochraceus* on irradiated green coffee beans. *Journal of food protection*, 68 (1), 133-138, 2005.



ACTIVE INGREDIENTS AND ANTI-MALARIAL EFFECT OF *LACTUCA SATIVA* ETHANOL EXTRACT IN VITRO

Chau Duc Hoa¹, Bui Dang Dang Khoa², Nguyen Manh Khang³, Nguyen Dinh Tri¹,
Nguyen Huu Duc Minh^{4,*}

¹Ho Chi Minh City Hospital For Rehabilitation - Professional Diseases - 313 Au Duong Lan, 2 ward, 8 district, Ho Chi Minh city, Vietnam

²Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam National University Ho Chi Minh City - 268 Ly Thuong Kiet, 14 ward, 10 district, Ho Chi Minh city, Vietnam

³International University, Vietnam National University Ho Chi Minh City - 6 town, Thu Duc city, Ho Chi Minh city, Vietnam

⁴University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10/01/2023

Revised 13/02/2023; Accepted 02/03/2023

ABSTRACT

Objective: To determine the total polyphenol content (TPC) and antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* (F25 strain, prevalent in Vietnam) of ethanol extracts from red oak leaves (*Lactuca sativa*).

Research Methodology: Ultrasonic bath and UV-Vis spectroscopy were used to determine the TPC. Sesquiterpene lactone, which is a compound with potential antimalarial activity, by using the KEDDE reagent test and *in vitro* experiments at the Malaria Institute - Entomology - Parasitology of Ho Chi Minh City.

Research Results: The highest TPC was found to be 31.05 mg/g (mg GAE/g of dried oak leaves), and compared to the antimalarial drug Artemisinin, the extracts showed good antimalarial activity; especially, the red oak extract showed better activity than the other two extracts. Compared with the 2 *Asteraceae* plants (*Artemisia annua* L. and *Bidens pilosa*) that were studied, red oak extract showed the highest antimalarial activity with an IC₅₀ value of 11,592 ppm.

Conclusion: Red oak extract has potential for antimalarial and antioxidant activity. Moreover, the choice of subject for the research, red oak that meets Global G.A.P and ISO 22000:2005 standards, contributes to internationally recognized and trustworthy results.

Keywords: Lettuce, malaria parasite, sesquiterpene lactone, Plasmodium falciparum, Artemisinin.

*Corresponding author

Email address: nhdminh@ump.edu.vn

Phone number: (+84) 983 276 267

KHẢO SÁT HOẠT CHẤT VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG SỐT RÉT CỦA CAO CHIẾT XÀ LÁCH (*LACTUCA SATIVA*)

Châu Đức Hòa¹, Bùi Đặng Đăng Khoa², Nguyễn Mạnh Khang³, Nguyễn Đình Trí¹, Nguyễn Hữu Đức Minh^{4,*}

¹Bệnh viện Phục hồi chức năng và điều trị bệnh nghề nghiệp TP.HCM - 313 Đ. Âu Dương Lân, phường 2, quận 8, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc gia TP.HCM - 268 Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP.HCM - Khu phố 6, TP Thủ Đức, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Đại học Y Dược TP.HCM - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài: 10 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 13 tháng 02 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 02 tháng 03 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tổng hàm lượng polyphenol (TPC) và hoạt tính kháng sốt rét kháng lại ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum* (chủng F25-chủng phổ biến ở Việt Nam) của cao chiết ethanol từ xà lách sồi đỏ.

Phương pháp nghiên cứu: Sử dụng trích siêu âm, quang phổ để xác định hàm lượng TPC và định tính sesquiterpene lactone – hợp chất có khả năng kháng ký sinh trùng sốt rét bằng thuốc thử KEDDE và thử nghiệm *in vitro* trên cao chiết xà lách về hoạt tính kháng sốt rét tại Viện sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng thành phố Hồ Chí Minh.

Kết quả nghiên cứu: Lượng TPC cao nhất được tìm thấy là 31,05 mg / g (mg GAE / g xà lách khô), và So với thuốc kháng sốt rét Artemisinin (chất đối chứng dương), các mẫu cao có hoạt tính ức chế KST SR khá tốt; đặc biệt hoạt tính của cao sồi đỏ vượt trội hơn 2 mẫu cao còn lại. So với 2 cây họ cúc (Thanh hao hoa vàng và cỏ xuyên chi) đã được nghiên cứu, cao xà lách sồi đỏ có hoạt tính kháng sốt rét cao nhất với giá trị IC_{50} hoạt tính kháng sốt rét là 11,592 ppm.

Kết luận: Cao chiết xà lách sồi đỏ có tiềm năng kháng ký sinh trùng sốt rét và kháng oxi hóa. Ngoài ra, việc chọn đối tượng nghiên cứu là xà lách đạt chuẩn Global G.A.P, ISO 22000: 2005 góp phần cho ra kết quả được quốc tế công nhận và đáng tin cậy hơn.

Từ khóa: Xà lách, sồi đỏ, lô lô xanh, lô lô đỏ, ký sinh trùng sốt rét, *sesquiterpene lactone*, *Plasmodium falciparum*, *Artemisinin*.

*Tác giả liên hệ

Email: nhdmnh@ump.edu.vn

Điện thoại: (+84) 983 276 267



1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên toàn cầu, ước tính có khoảng 229 triệu ca sốt rét ở 87 quốc gia lưu hành sốt rét và 409.000 ca tử vong do sốt rét vào năm 2019. Khoảng 95% số ca tử vong do sốt rét là ở 31 quốc gia. Tại Việt Nam, chỉ số sốt rét giảm trong 13 tuần đầu năm 2019 so với cùng kỳ năm 2018. Tuy nhiên, số ca sốt rét ở Phú Yên, Gia Lai và Đắk Lắk tăng đáng kể so với cùng kỳ lần lượt là 134, 224 và 114 bệnh nhân. Hầu hết bệnh nhân sốt rét trong độ tuổi lao động (trên 15 tuổi) và chủ yếu bao gồm nam giới làm việc trong rừng hoặc ngoài đồng ruộng. Sự phân bố của ký sinh trùng nằm chủ yếu ở các huyện Krông Pa, Ia Pa của Phú Yên; Các huyện Ea Kar, Krông Nang và M'Drak của Đắk Lắk; Sông Hinh, Sơn Hòa, Đồng Xuân và Tây Hoa của Gia Lai [1].

“Chất kháng oxy hóa” là một thuật ngữ chung cho bất kỳ hợp chất nào có thể kháng lại các phân tử không ổn định được gọi là gốc tự do làm hỏng DNA, màng tế bào và các bộ phận khác của tế bào. Bởi vì các gốc tự do thiếu sự bổ sung đầy đủ của các electron, chúng đánh cắp các electron từ các phân tử khác và làm hỏng các phân tử đó trong quá trình này. Chất kháng oxy hóa trung hòa các gốc tự do bằng cách từ bỏ một số electron của chính chúng. Khi thực hiện sự hy sinh này, chúng hoạt động như một công tắc “tắt” tự nhiên cho các gốc tự do. Điều này giúp phá vỡ một phản ứng dây chuyền có thể ảnh hưởng đến các phân tử khác trong tế bào và các tế bào khác trong cơ thể [2]. Cơ thể bạn cũng có thể tiếp xúc với các gốc tự do từ nhiều nguồn môi trường khác nhau, chẳng hạn như khói thuốc lá, ô nhiễm không khí và ánh sáng mặt trời. Các gốc tự do có thể gây ra “stress oxy hóa”, một quá trình có thể kích hoạt tổn thương tế bào. Stress oxy hóa được cho là đóng một vai trò trong một loạt các bệnh bao gồm ung thư, bệnh tim mạch, tiểu đường, bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson và các bệnh về mắt như đục thủy tinh thể và thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi tác [2].

Xà lách (*Lactuca sativa*) là một loài thuộc họ Asteraceae. Nó có nhiều loại khác nhau: xà lách lô lô đỏ, xà lách lô lô xanh, xà lách sồi đỏ, v.v. Ngoài ra, loại cây có màu đỏ, tím hoặc cam có chứa nồng độ carotenoids cao, những chất làm chậm quá trình oxy hóa trong cơ thể con người. Hơn nữa, xà lách được biết là rất giàu chất kháng oxy hóa - các hợp chất như axit phenolic, flavonoid, anthocyanin, vitamin A và C [3]. Do đó, xà lách được chọn làm đối tượng nghiên cứu để tối đa hóa tác dụng kháng oxy hóa. Theo nhiều nghiên

cứu trên khắp thế giới, rất nhiều loài Asteraceae có đặc tính kháng sốt rét, chẳng hạn như *Artemisia annua* [4], *Bidens pilosa* [5] và *Ageratum conyzoides* [6]. Vì những lý do đó, chúng tôi đã đưa ra một số giả thuyết về xà lách có khả năng kháng oxy hóa và kháng sốt rét.

2. VẬT LIỆU & PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

5 kg mỗi loại xà lách lô lô đỏ, lô lô xanh và sồi đỏ được cung cấp bởi công ty Smart Green là công ty hữu cơ và được chứng nhận là Global G.A.P, ISO 22000: 2005.

Hóa chất và thuốc thử

Thuốc thử phenol Folin-Ciocalteu, thuốc thử KEDDE, axit Gallic (độ tinh khiết 99%), Na_2CO_3 , Na_2SO_4 , $\text{Pb}(\text{OAC})_2$, CHCl_3 và Ethanol 96 được mua từ Chemsol.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm: Phòng thí nghiệm nuôi cấy ký sinh trùng sốt rét, Khoa SHPT - Miễn dịch, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP.HCM

Thời gian: Tháng 10/2018

2.3. Phương pháp tổng hợp mẫu cao và thử nghiệm hoạt tính sinh học

Cao chiết xà lách

Cao chiết từ xà lách được lấy từ 20 gram xà lách khô với 96Ethanol sử dụng bồn tắm siêu âm ở 660 kHz, nhiệt độ phòng trong các giờ khác nhau. Sau đó, dung môi đã được loại bỏ bằng thiết bị cô quay.

Cao chiết sesquiterpene lactone

Cao chiết xà lách được lấy từ nguyên liệu xà lách khô (10g) trích bằng CHCl_3 (4 lần, 200mL mỗi lần) ở nhiệt độ phòng. Sau khi dung môi được loại bỏ, cao chiết được hòa tan trong ethanol (10mL) và được xử lý bằng 10mL dung dịch $\text{Pb}(\text{OAC})_2$ 4%, để qua đêm, lọc và cô cạn dung dịch. Phần rắn này sau đó được hòa tan trong CHCl_3 (5 mL) [8]. Chiết xuất sesquiterpene lactone được định tính bằng thuốc thử KEDDE [9].

Thử nghiệm hoạt tính kháng sốt rét

Nuôi cấy *P. falciparum* được đồng bộ hóa bằng cách ly tâm ở tốc độ 1.200 vòng / phút trong 5 phút và viên nén chứa các dạng non đã được thu thập. Quy trình này đã được thông qua để tránh việc sử dụng hóa chất đồng bộ, có thể ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của ký sinh trùng.

Các thử nghiệm được thực hiện trên trophozoites trẻ với ký sinh trùng trong máu là 1% trong 96 microplates đáy phẳng vô trùng (TPP). Jacaranone được pha loãng trong RPMI đến nồng độ từ 300 đến 0,097 μ g / mL. Hai giếng được sử dụng làm điều khiển mà không có jacaranone. Cuối cùng, 10 μ L tế bào hồng cầu của con người (RBC) đã được thêm vào tất cả các giếng để thu được hematocrit là 5%. Tất cả các thử nghiệm đã được thực hiện trùng lặp. Tắm được ủ ở nhiệt độ 37°C trong bầu không khí giàu CO₂ trong 24 giờ. Sau giai đoạn này, vì giai đoạn schizont chiếm ưu thế trong việc kiểm soát, các vết máu dày và mỏng được thực hiện với RBC từ tất cả các nồng độ và đối chứng khác nhau trên đĩa. Các slide được nhuộm bằng Giemsa và quan sát thấy trong kính hiển vi ánh sáng (độ phóng đại \times 1.000). Đánh giá IC₅₀ được thực hiện bằng cách đếm số lượng schizonts với hơn ba hạt nhân trong 200 ký sinh trùng. Giá trị được tìm thấy trong mỗi giếng với jacaranone được so sánh với các đối chứng không có thuốc, để tính tỷ lệ phần trăm ức chế tăng trưởng với sự có mặt của hợp chất [10]. Áp dụng quy trình nuôi cấy ký sinh trùng sốt rét trong môi trường RPMI 1640 (môi trường nuôi cấy) có bổ sung cao xà lách ở 11 nồng độ tăng dần từ 0 ppm đến 100ppm. Số lần lặp lại cho mỗi nồng độ

là 3 lần.

Định lượng tổng hàm lượng polyphenol (TPC)

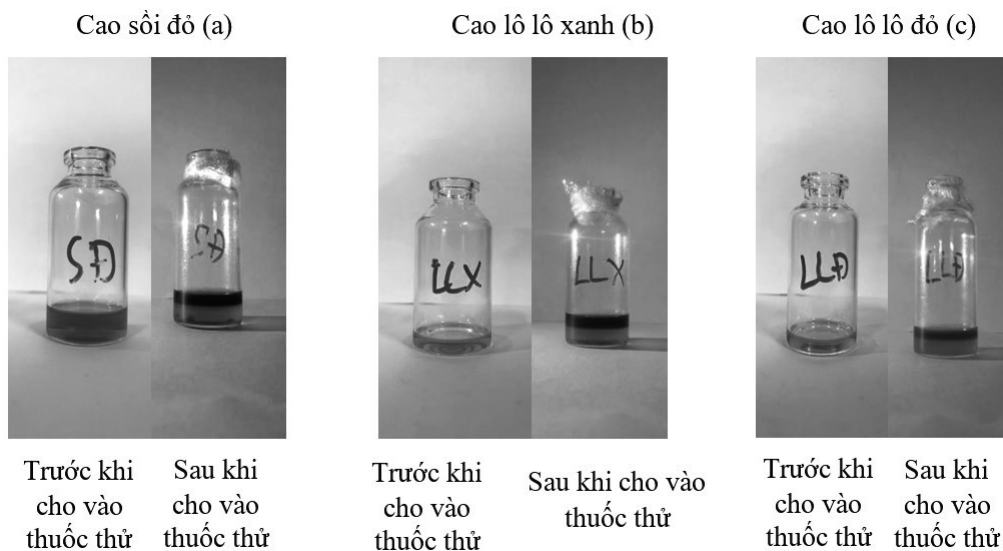
100 mg mẫu cao chiết được pha loãng với 10 mL ethanol 96°. Sau đó, 2 mL dung dịch đó được pha loãng với 10 ml ethanol thành 2000 ppm.

TPC được xác định bởi thuốc thử Folin-Ciocalteu được pha loãng 5% với nước dựa trên phương pháp được mô tả bởi Tổ chức Tiêu chuẩn hóa Quốc tế (ISO) 14502-1.30. 1,0 mL mẫu pha loãng hoặc dung dịch tiêu chuẩn của axit gallic và 5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu đã được thêm vào ống thủy tinh 10 mL. Ống được lắc và để cân bằng trong 4 phút; sau đó, 4 mL natri cacbonat 7,5% (w / v) đã được thêm vào. Hỗn hợp được để trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 60 phút để chuẩn bị cho phép đo độ hấp thụ ở 758 nm và nước được sử dụng làm điều khiển trống. TPC được biểu thị dưới dạng gam vật liệu tương đương axit gallic (GAE)/100g thông qua sơ đồ hiệu chuẩn của axit gallic, và đường chuẩn của axit gallic dao động từ 10 đến 70 ppm [7].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Định tính sesquiterpene lactone

Hình 1. Kết quả định tính sesquiterpene lactone trong cao sồi đỏ (a), lô lô xanh (b), lô lô đỏ (c)



Chúng tôi thấy rằng sau khi thêm thuốc thử KEDDE vào các mẫu, dung dịch đã đổi thành màu đỏ tím, dung dịch có các hợp chất lactone sesquiterpene (kháng sốt

rét), đặc biệt là Lactucin và Lactucopicrin [11].

3.2. Hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét

Bảng 1. Hoạt tính kháng sốt rét của 3 loại cao so với chất đối chứng dương Artemisinin

Nồng độ (ppm)	Số ký sinh trùng sốt rét còn sống sau khi thử hoạt tính các mẫu cao ethanol			
	Sôi Đỏ	Lô Lô Xanh	Lô Lô Đỏ	Chất đối chứng dương Artemisinin
0	103	99	83	104
10	37	68	82	35
20	28	38	53	27
30	16	26	31	20
40	10	12	23	9
50	9	7	17	8
60	1	6	20	3
70	2	3	15	2
80	2	2	13	2
90	2	0	1	1
100	1	0	0	0
IC₅₀ (ppm) [*]	11,5922497	14,37505	24,89868	0,662757188

[*] IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% đối tượng thử): thước đo khả năng ức chế đặc biệt một chức năng sinh học hoặc hóa sinh của mẫu chất.

So với thuốc kháng sốt rét Artemisinin (chất đối chứng dương), các mẫu cao có hoạt tính ức chế ký sinh trùng sốt rét khá tốt; đặc biệt hoạt tính cao sôi đỏ vượt trội hơn 2 mẫu cao còn lại.

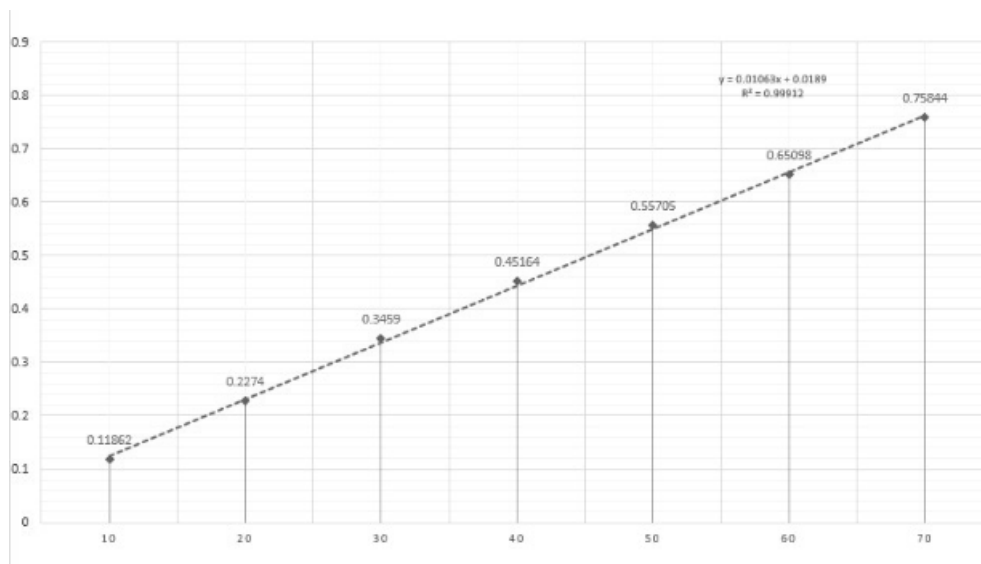
Bảng 2. So sánh hoạt tính kháng sốt rét của xà lách sôi đỏ so với 2 cây thuộc họ Cúc

Cây họ cúc	Sôi đỏ	Thanh hao hoa vàng [12]	Cỏ xuyên chi [13]
IC ₅₀ (ppm)	11,592	500	25

So 2 cây họ cúc đã được nghiên cứu, cao xà lách sôi đỏ có hoạt tính kháng sốt rét cao nhất.

3.3. Định lượng tổng hàm lượng polyphenol

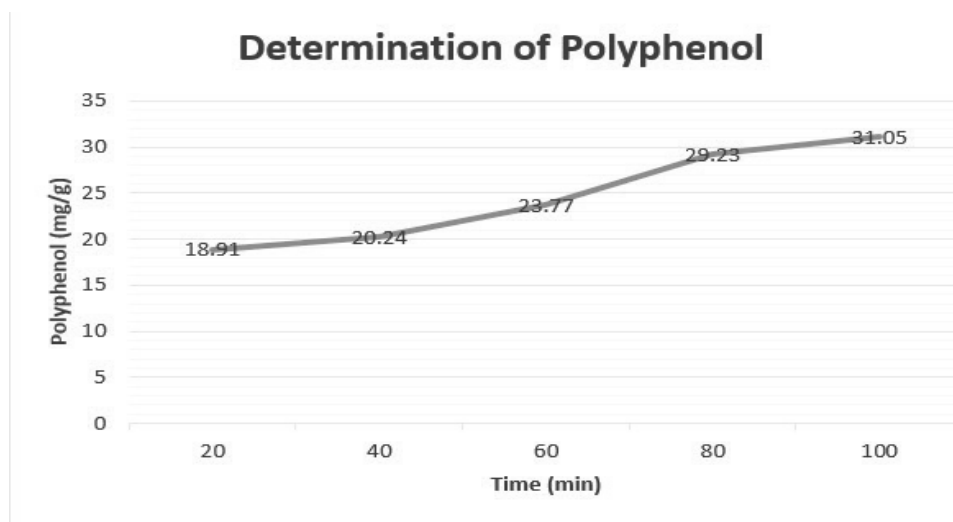
Đồ thị 1. Đường chuẩn axit gallic



Kết quả cho thấy biểu đồ đường chuẩn của axit gallic nằm trong khoảng từ 10 đến 70 ppm là đồ thị 1 của hàm tuyến tính $y = 0,01063x + 0,0189$ với độ lệch chuẩn là

$R^2 = 0,99912$. Dựa trên đó, chúng tôi sử dụng biểu đồ này làm đường chuẩn so sánh với tổng nồng độ hàm lượng polyphenol có trong cao chiết xạ lách.

Đồ thị 2. Hàm lượng polyphenol trong cao chiết sồi đỏ thay đổi theo thời gian



Chúng tôi chia thời gian trích ly thành các khoảng thời gian 20 phút, từ 20 đến 100 phút. Đồ thị 2 minh họa rằng từ phút thứ 20 đến phút thứ 40, tổng hàm lượng polyphenol (TPC) thấp ở mức 18,91mg/g và tăng thêm một khoảng nhỏ chỉ 1,33mg/g. Tuy nhiên, TPC đã tăng mạnh lên 29,23mg/g trong 40 phút sau đó, trước khi chậm lại gần như dừng lại ở mức 31,05mg/g (mg GAE/g rau xạ lách khô) trong 20 phút cuối cùng. Khi các thí nghiệm tiếp theo được tiến hành, giới hạn thời gian sẽ cần phải được nâng lên trên 100 phút để xem

liệu nồng độ đã đạt đến đỉnh hay chưa.

4. KẾT LUẬN

Từ nghiên cứu này ta thấy được, các cao chiết xạ lách có chứa hoạt chất sesquiterpene lactone; so các cao chiết xạ lách với thuốc kháng sốt rét Artemisinin (chất đối chứng dương), các mẫu cao có hoạt tính ức chế KST SR khá tốt; đặc biệt hoạt tính của cao sồi đỏ vượt trội



hơn 2 mẫu cao còn lại. So với 2 cây họ cúc (Thanh hao hoa vàng và cỏ xuyên chi) đã được nghiên cứu, cao xà lách sồi đỏ có hoạt tính kháng sốt rét cao nhất; nồng độ polyphenol của mẫu cao chiết ở các thời điểm ly trích khác nhau sẽ tăng dần theo thời gian và đạt đỉnh ở phút thứ 100 là 31,05 mg/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus, World Malaria Report 2020, World Health Organization, Geneva, 14,15/299, 2020.
- [2] Saikat Sen and Raja Chakraborty, The Role of Antioxidants in Human Health, American Chemical Society: Washington, DC, 2011.
- [3] Myung-Min Oh, Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce, Journal of Plant Physiology, 1, 180–191, 2008.
- [4] Mostafa AE, Melissa JT, Nicholas GR et al., Dried Whole Plant *Artemisia annua* as an Antimalarial Therapy, Plos One, 7 (12), e52746–e52746, 2012.
- [5] Valter FAN, Maria GLB, Franciêda QO et al., Antimalarial Activity of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) Ethanol Extracts from Wild Plants Collected in Various Localities or Plants Cultivated in Humus Soil, Phytotherapy Research, 18, 634–639, 2004.
- [6] Jefferson RAS, Aline SR, Marta M et al., A review of antimalarial plants used in traditional medicine in communities in Portuguese-Speaking countries: Brazil, Mozambique, Cape Verde, Guinea-Bissau, São Tomé and Príncipe and Angola, Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 106 (Suppl. I): 142–158, 2011.
- [7] Xi Wang, Identification of green tea varieties and fast quantification of total polyphenols by near-infrared spectroscopy and ultraviolet-visible spectroscopy with chemometric algorithms, Analytical methods, 2, 787, 2015.
- [8] Janusz M, AnnaSt OA, Barbara D et al., Helenalin Acetate in in vitro Propagated Plants of *Arnica montana*, Planta Medica, 59, 51–53, 1993.
- [9] Nguyễn Kim Phi Phụng, Sesquiterpen lacton, Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, TP. HCM, 2, 100-101, 2007.
- [10] Thiago RM, Anti-malarial, anti-trypanosomal, and anti-leishmanial activities of jacaranone isolated from *Pentacalia desiderabilis* (Vell.) Cuatrec. (Asteraceae), Original paper, 4, 95-101, 2011.
- [11] Theodore AB, Antimalarial activity of Lactucin and Lactucopicrin: sesquiterpene lactones isolated from *Cichorium intybus* L., Journal of Ethnopharmacology, 455-457, 2004.
- [12] K. Chiung-Sheue Chen Liu, Shi-Lin Yang, MF Roberts et al., Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures, Plant Cell Reports, 11, 637–640, 1992.
- [13] Toan Phan Duc, Truong Van Nguyen Thien, Akino Jossang et al., New wedelolides, (9R)-eudesman-9,12-olide d-lactones, from *Wedelia trilobata*, Phytochemistry Letters, 17, 304–309, 2016.

PROPORTION OF PARASITIC CONTAMINATION OF RAW VEGETABLES IN WHOLESALE MARKETS OF BUON MA THUOT CITY

Nguyen Thi Lan Huong^{1,*}, Nguyen Duy Phong², Huynh Hong Quang³

¹Tay Nguyen Regional General hospital - 184 Tran Quy Cap, Tu An, Buon Ma Thuot city, Dak Lak, Vietnam

²University of Medicine & Pharmacy at Ho Chi Minh city - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Institute of Malariology, Parasitology, and Entomology Quy Nhon - 611B Nguyen Thai Hoc, Nguyen Van Cu, Qui Nhon, Binh Dinh, Vietnam

Received 15/12/2022

Revised 01/02/2023; Accepted 28/02/2023

ABSTRACT

Objectives: The present study was carried out to determine the parasitological contaminations of raw vegetables sold at different wholesale markets in Ban Me Thuot city.

Subjects and Methods: Cross-sectional study design for intestinal parasites examination

Results: Of the 158 samples, 89 (56.3%) were microscopically positive for intestinal parasites. In which, contamination proportion was recorded in mustard leaves with *A.lumbricoides* and hookworm eggs (6.5%; 3/31), *T.trichiura* (3.2%;1/31), *E.histolytica* (67.7%; 21/31), *G.lambli*a (54.8%; 17/31), *B. coli* (16.1%; 5/31); in lettuce with hookworm and *A.lumbicoides* eggs (9.4%; 3/32), *B.coli* (40.6%; 13/32), *E.histolytica* (28.1%; 9/32), *G.lambli*a (12.5%; 4/32); in centella with hookworm and *A.lumbicoides* eggs (3.2%; 1/31), *B.coli* (38.7%; 12/31), *E.histolytica* (16.1%; 5/31), *G.lambli*a (3.2%; 1/31); in fish-mint with hookworm and *A.lumbicoides* eggs (6.1%; 2/33), *B.coli* (24.2%; 8/33), *E.histolytica* (30.3%; 10/33), and in Thai basil with hookworm and *A.lumbicoides* eggs (6.4%; 2/31), *B.coli* (19.4%; 6/31), *E.histolytica* (41.9%; 13/31), *G.lambli*a (16.1%; 5/31). The intestinal parasite contamination proportion in different types of vegetables were extremely high and significantly varied ($p < 0,005$).

Conclusions: The results demonstrate that such contaminated vegetables consumption as a potential transmission route. Therefore, it is necessary for health agents to educate consumers about the proper washing of vegetables prior to consumption.

Keywords: Parasitic contamination, raw vegetables, intestinal parasites.

*Corresponding author

Email address: nguyenlanhuongk49a@gmail.com

Phone number: (+84) 906 464 244



TỶ LỆ NHIỄM KÝ SINH TRÙNG TRÊN RAU ĂN SỐNG TẠI CÁC CHỢ ĐẦU MỐI Ở THÀNH PHỐ BUÔN MA THUỘT

Nguyễn Thị Lan Hương^{1,*}, Nguyễn Duy Phong², Huỳnh Hồng Quang³

¹Bệnh viện Đa khoa Vùng Tây Nguyên - 184 Trần Quý Cáp, Tụ An, Thành phố Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk, Việt Nam

²ĐH Y Dược TP. Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Viện Sốt rét-Ký sinh trùng-Côn trùng Quy Nhơn - 611B Nguyễn Thái Học, Nguyễn Văn Cừ, thành phố Quy Nhơn, Bình Định, Việt Nam

Ngày nhận bài: 15 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 01 tháng 02 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 28 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu xác định nhiễm ký sinh trùng trên các loại rau ăn sống bán tại chợ đầu mối ở thành phố Ban Mê Thuột.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả trên một số loại rau ăn sống

Kết quả nghiên cứu: Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường ruột (KSTĐR) trên 158 mẫu là 56,3%. Trong đó, cải xanh nhiễm trứng giun đũa và giun móc là 6,5% (3/31), giun tóc (3,2%; 1/31), *E.histolytica* (67,7%; 21/31), *G.lamblia* (54,8%; 17/31), *B.coli* (16,1%; 5/31); xà lách nhiễm trứng giun móc và giun đũa (9,4%; 3/32), *B. coli* (40,6%; 13/32), *E.histolytica* (28,1%; 9/32), *G.lamblia* (12,5%; 4/32); rau má nhiễm trứng giun móc và giun đũa (3,2%; 1/31), *B.coli* (38,7%; 12/31), *E.histolytica* (16,1%; 5/31), *G.lamblia* (3,2%; 1/31); diếp cá nhiễm trứng giun móc và giun đũa (6,1%; 2/33), *B.coli* (24,2%; 8/33), *E.histolytica* (30,3%; 10/33) và húng thom nhiễm trứng giun móc và giun đũa (6,4%; 2/31), *B.coli* (19,4%; 6/31), *E.histolytica* (41,9%; 13/31), *G.lamblia* (16,1%; 5/31). Tỷ lệ nhiễm KSTĐR cao và khác nhau có ý nghĩa giữa các loại rau ($p<0,005$).

Kết luận: Tiêu thụ rau nhiễm KSTĐR như một đường truyền tiềm tàng. Do vậy, cơ quan y tế giáo dục sức khỏe cho người tiêu dùng về cách rửa rau hợp lý trước khi dùng.

Từ khóa: Nhiễm ký sinh trùng, rau sống, ký sinh trùng đường ruột.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rau sống vừa là nguồn thực phẩm thiết yếu trong khẩu phần ăn hàng ngày, vừa là “giá thể” truyền ký sinh trùng đường ruột (KSTĐR) cho người tiêu dùng. Hiện nay, mỗi năm có khoảng 2 tỷ người nhiễm KSTĐR trên toàn cầu, tác động đến sức khỏe và kinh tế, song các KSTĐR trên rau sống đang bị đánh giá thấp. Tại Việt

Nam, một số điều tra các chợ Nam Định, TP.Hồ Chí Minh chỉ ra tỷ lệ nhiễm KSTĐR từ 85-90,1% [6]. Liệu bức tranh nhiễm KSTĐR trên rau ăn sống tại Đắk Lắk tương tự như các khu vực đồng bằng không? Nghiên cứu này tiến hành nhằm xác định tỷ lệ nhiễm KSTĐR trên rau sống tại các chợ của TP. Buôn Ma Thuột để có biện pháp can thiệp hợp lý.

*Tác giả liên hệ

Email: nguyentanhuongk49a@gmail.com

Điện thoại: (+84) 906 464 244

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian

- Tiến hành tại các chợ thuộc 18 xã/ phường trên TP. Buôn Ma Thuột

- Từ tháng 4 - 11/2021

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Rau ăn sống: Cải xanh, xà lách cây, rau má, rau diếp cá, rau thơm bán tại các quầy rau

- Tại quầy rau, có bất cứ từ 1-5 loại rau trên sẽ lấy loại rau đó và được gọi là 1 sản phẩm rau.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

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

2.3.2. Cỡ mẫu: Dựa trên công thức tính cỡ mẫu:

$$n = Z^2 \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó, $Z = 1,96$ (ước lượng khoảng tin cậy với $\alpha = 0,05$), p là tỷ lệ nhiễm KSTĐR trên rau sống từ một nghiên cứu tại các chợ TP. Hồ Chí Minh của Nguyễn Đỗ Phúc (2015) với $p = 0,9$; d là sai số cho phép $= 0,05$. Khi đó, cỡ mẫu $n = 138$. Do điều tra sẽ có nguy cơ mất mẫu hoặc mẫu rau không đạt chất lượng, cỡ mẫu được tăng thêm 5%, nên cuối cùng là $n \# 150$ mẫu.

Có 5 loại rau ăn sống được chọn, nên mỗi loại sẽ có $(150:5_{\text{loại rau ăn sống}}) = 30$ mẫu.

2.3.3. Chọn mẫu

- Chọn mẫu ngẫu nhiên hệ thống: Tổng số 302 quầy rau tại 18 xã/ phường, đánh số thứ tự quầy, tính khoảng cách mẫu k dựa vào danh sách quầy, chia cho số mẫu cần điều tra là 150 mẫu; $k = 2$. Bốc thăm ngẫu nhiên r (thỏa $1 \leq r \leq k$). Quầy được chọn mua mẫu đầu tiên là r , quầy tiếp theo mang số thứ tự $r+k$, tiếp tục như thế đến khi đủ 150 mẫu.

- Theo thứ tự, quầy đã chọn sẽ gán 1 loại rau cần thu để đảm bảo có đủ 5 loại rau cần phân tích. Nếu quầy được chọn vắng, sẽ lấy quầy kế bên và quy định rõ cách lấy mẫu rau tiêu chuẩn.

2.4. Thu thập dữ liệu

- Cho mỗi mẫu vào túi nilon, ghi mã, chuyển ngay trong ngày để kiểm nghiệm (trước 24 giờ).

- Mẫu đảm bảo kỹ thuật, ngẫu nhiên, đại diện và đồng nhất theo TCVN 9016:2011;

- **Xét nghiệm** bằng phương pháp Romanenko tại ĐH Tây Nguyên: Cho rau vào thau, đổ nước muối 0,85% vào vừa ngập rau, ngâm trong 12 giờ, rửa lần lượt hết rau. Đảo qua lại nhiều lần đối với rau diếp cá, húng quế trước khi rửa; xà lách và cải xanh rửa kỹ từng lá, từng mặt. Mỗi mẫu rửa thêm 1 lần với nước sạch. Thu hồi số nước ở 2 lần rửa;

- Để lắng 6 giờ, gạn lấy 15 ml nước ở dưới đem ly tâm. Đổ bỏ phần nước ở trên, còn 5 ml cặn, xét nghiệm lượng cặn tìm KSTĐR. Khi xét nghiệm hòa với 1 giọt lugol 5% để nhuộm trứng và ấu trùng;

- Xác định hình thái học theo tài liệu Ký sinh trùng thực hành của ĐH Y dược TP. Hồ Chí Minh [6].

Hình 1. Ngâm rau, rửa sạch và thu cặn lắng để xét nghiệm ký sinh trùng và đơn bào



2.4.3. Kiểm soát sai lệch thông tin

- Định nghĩa biến số rõ ràng, cụ thể cho từng mục tiêu nghiên cứu;



- Tập huấn kỹ cho điều tra viên trước khi tiến hành khảo sát và điền thông tin theo biểu mẫu.

2.5. Phân tích và xử lý số liệu

- Số liệu được nhập liệu và xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản SPSS20;

- Mô tả bằng số lượng, tần suất và tỷ lệ % về nhiễm KSTĐR trên từng loại rau ăn sống.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu

Quá trình thu thập thông tin liên quan đến nghiên cứu không xâm phạm quyền tự do cá nhân hay sức khỏe của

người bán rau, thông tin đã mã hóa và bảo mật. Mục đích nhằm xác định tỷ lệ nhiễm KSTĐR nhằm đề xuất biện pháp can thiệp phù hợp VSATTP.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong số 158 mẫu rau ăn sống (RAS) thu thập tại các quầy bán rau, tỷ lệ nhiễm KSTĐR chung là 56,3% (89/158).

3.1. Tỷ lệ nhiễm KST đa bào và đơn bào trên rau cải xanh

Bảng 3.1. Tỷ lệ nhiễm đa bào và đơn bào trên cải xanh (n=31)

KST đa bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
Trứng giun đũa			
1	Nhiễm	2	6,5
2	Không nhiễm	29	93,5
Trứng giun tóc			
1	Nhiễm	1	3,2
2	Không nhiễm	30	96,8
Trứng giun móc			
1	Nhiễm	2	6,5
2	Không nhiễm	29	93,5

KST đơn bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
<i>E.histolytica</i>			
1	Nhiễm	21	67,7
2	Không nhiễm	10	32,3
<i>B. coli</i>			
1	Nhiễm	5	16,1
2	Không nhiễm	26	83,9
<i>G.lamblia</i>			
1	Nhiễm	17	54,8
2	Không nhiễm	14	45,2

Nhiễm đa bào trên 31 mẫu cải xanh là 16,1% (5/31), trứng giun đũa và giun móc là 6,5% và giun tóc 3,2%. Nhiễm đơn bào (83,9%; 26/31), với *E. histolytica* cao

nhất (67,7%).

3.2. Tỷ lệ nhiễm các KST đa bào và đơn bào trên rau xà lách

Bảng 3.2. Tỷ lệ nhiễm đa bào và đơn bào trên xà lách (n=32)

KST đa bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
Trứng giun đũa			
1	Nhiễm	1	3,1
2	Không nhiễm	31	96,9
Trứng giun tóc			
1	Nhiễm	0	0
2	Không nhiễm	0	0
Trứng giun móc			
1	Nhiễm	2	6,3
2	Không nhiễm	30	93,7

KST đơn bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
<i>E.histolytica</i>			
1	Nhiễm	9	28,1
2	Không nhiễm	23	71,9
<i>B. coli</i>			
1	Nhiễm	13	40,6
2	Không nhiễm	19	59,4
<i>G.lamblia</i>			
1	Nhiễm	4	12,5
2	Không nhiễm	28	87,5

Trong 32 mẫu rau xà lách, tỷ lệ nhiễm đa bào chung 9,4%, nhiều nhất là trứng giun móc (6,3%), giun đũa (3,1%). Đơn bào nhiều nhất là *B. coli* (40,6%), *E. histolytica* (28,1%), *G. lamblia* (12,5%). Tỷ lệ nhiễm

đơn bào chung gấp 6 lần đa bào (56,3%).

3.3. Tỷ lệ nhiễm các loại đa bào và đơn bào trên rau má

Bảng 3.3. Tỷ lệ nhiễm các loại ký sinh trùng đa bào và đơn bào trên rau má (n=31)

KST đa bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
Trứng giun đũa			
1	Nhiễm	1	3,2
2	Không nhiễm	30	96,8
Trứng giun tóc			
1	Nhiễm	0	0
2	Không nhiễm	0	0
Trứng giun móc			
1	Nhiễm	1	3,2
2	Không nhiễm	30	96,8

KST đơn bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
<i>E. histolytica</i>			
1	Nhiễm	5	16,1
2	Không nhiễm	26	83,9
<i>B. coli</i>			
1	Nhiễm	12	38,7
2	Không nhiễm	19	61,3
<i>G. lamblia</i>			
1	Nhiễm	1	3,2
2	Không nhiễm	30	96,8

Trên 31 mẫu, trứng giun móc, giun đũa (3,2%), nhiễm đa bào 6,5%. Tỷ lệ nhiễm *B. coli* cao nhất (38,7%), *E. histolytica* (16,1%) và *G. lamblia* (3,2%) và nhiễm đơn

bào chung 41,9%.

3.4. Tỷ lệ nhiễm KST đa bào và đơn bào trên rau diếp cá

Bảng 3.4. Tỷ lệ nhiễm các KST đa bào và đơn bào trên rau diếp cá (n=33)

KST đa bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
Trứng giun đũa			
1	Nhiễm	2	6,1
2	Không nhiễm	31	93,9
Trứng giun tóc			
1	Nhiễm	0	0
2	Không nhiễm	0	0
Trứng giun móc			
1	Nhiễm	2	6,1
2	Không nhiễm	31	93,9

KST đơn bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
<i>E. histolytica</i>			
1	Nhiễm	10	30,3
2	Không nhiễm	23	69,7
<i>B. coli</i>			
1	Nhiễm	8	24,2
2	Không nhiễm	25	75,8
<i>G. lamblia</i>			
1	Nhiễm	0	0
2	Không nhiễm	0	0

Trên 33 mẫu rau diếp cá, nhiễm đa bào là 12,1%, trong đó trứng giun móc, giun đũa là 6,1%. Nhiễm đơn bào

48,5% và *E. histolytica* 30,3%.

3.5. Tỷ lệ nhiễm đa bào và đơn bào trên rau thơm



Bảng 3.5. Tỷ lệ nhiễm KST đa bào và đơn bào trên rau thơm (n=31)

KST đa bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
Trứng giun đũa			
1	Nhiễm	1	3,2
2	Không nhiễm	30	96,8
Trứng giun tóc			
1	Nhiễm	0	0
2	Không nhiễm	0	0
Trứng giun móc			
1	Nhiễm	1	3,2
2	Không nhiễm	30	96,8

KST đơn bào		Tần số	Tỷ lệ (%)
<i>E.histolytica</i>			
1	Nhiễm	13	41,9
2	Không nhiễm	18	58,1
<i>B. coli</i>			
1	Nhiễm	6	19,4
2	Không nhiễm	25	80,6
<i>G.lamblia</i>			
1	Nhiễm	5	16,1
2	Không nhiễm	26	83,9

Trong 31 mẫu rau thơm, tỷ lệ nhiễm đa bào là 6,5%, trong đó trứng giun đũa là 3,2 %, giun móc 3,2%. Tỷ lệ nhiễm đơn bào chung là 48,5%, amip (41,9%), *G.lamblia* (16,1%).

4. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ nhiễm KST chung trên rau ăn sống tại điểm nghiên cứu

Nhiễm KSTĐR qua rau sống là một vấn đề y tế công cộng do ô nhiễm môi trường đất, nước. Điều tra một số KSTĐR phổ biến trên rau sống thấy tỷ lệ nhiễm chung 56,3%, thấp hơn so với nghiên cứu tại Trà Vinh là 61,6% [7] và Nam Định (85%) [5], thấp hơn có thể trong quá trình canh tác hiện nay đều được bón bằng phân hữu cơ, trước đây rau được bón bằng phân tươi hoặc tưới nguồn nước không vệ sinh, nên nhiễm khi đó cao hơn [7].

4.2. Tỷ lệ nhiễm từng loại đa bào và đơn bào trên rau

Nhóm cải xanh nhiễm đa bào là 16,1%, trứng giun móc (GM) và giun đũa (GĐ) nhiễm ngang nhau (6,5%), trứng giun tóc(GT) là 3,2% và dữ liệu này thấp hơn so với điều tra tại TP. Hồ Chí Minh của Lê Thị Ngọc Kim [4] nhiễm trứng GĐ 15,4%. So với nghiên cứu tại chợ Quận 8 của Nguyễn Đỗ Phúc thì nhiễm đa bào được ghi nhận cao nhất là trứng GĐ (12,6%), GM (11,8%), GT (8,3%). Đặc biệt, trên 31 mẫu cải xanh thấy nhiễm đơn bào cao (83,9%) cao gấp 4 lần đa bào (16,2%) và trong số đơn bào, chiếm cao nhất là amip (67,7%), *G.lamblia* (54,8%), thấp nhất *B.coli* (16,1%). Số liệu này cao hơn so với điều tra của Nguyễn Văn Đề với tỷ lệ nhiễm

chung cao gấp 4 lần (29,1%) [1] và *E.histolytica* (3,6%) và của Nguyễn Đỗ Phúc thấy nhiễm *E.histolytica* (53,8%) và *B. coli* (53,8%).

So với nghiên cứu tại Ai Cập [8] trên 218 mẫu cải thìa, nhiễm trứng giun (15,1%), *E.histolytica* (30,3%), *E.coli* (18,2%) và *G.lamblia* (3%). Lý giải tỷ lệ nhiễm cao có thể thân rau xấp giúp cho sự tồn tại các KSTĐR, tăng khả năng nhiễm khi ăn, GM có thể bám trên bề mặt rau, nên khi xét nghiệm gộp trứng và ấu trùng thành một để dễ so sánh với các nghiên cứu. Nhiễm trong quá trình thu hoạch, vận chuyển, chế biến và nguồn ô nhiễm chính là đất, nước thải, phân người, phân gia súc, nước tưới và quá trình làm sạch rau trước khi đến người tiêu dùng là có thể? ô nhiễm có thể xảy ra khi rau được thu hoạch và tưới bằng nước khi bán đã bị nhiễm từ nguồn nước không sạch.

Trong 32 mẫu xà lách, nhiễm đa bào 9,4%, nhiều nhất là trứng GM (6,3%), GĐ (3,1%). Đồng thời, nhiễm đơn bào 56,3% gấp 6 lần đa bào, cao nhất là *B.coli* (40,6%), *E.histolytica* (28,1%) và *G.lamblia* (12,5%). Nghiên cứu tại Trà Vinh cho tỷ lệ nhiễm GĐ (12,5%), GM (29,7%) [6]. Tương tự, tại chợ Quận 8 cũng cho tỷ lệ cao hơn, với tỷ lệ trứng GĐ (38,5%), GM (15,4%). Nghiên cứu Trần Thị Hồng tại 15 siêu thị tại TP. Hồ Chí Minh với 90 mẫu rau sống phổ biến nhiễm 94,4%, đặc biệt 100% rau gia vị, xà lách xoong, rau má, rau đắng đều nhiễm [2], cao nhất là xà lách nhiễm amip, trùng lông (76,9%). Tại Thái Lan ghi nhận ở xà lách, nhiễm trứng GĐ (15%) và GM (5%). Tại Sudan, nhiễm KSTĐR trên 260 mẫu rau là 13,5% và xà lách cao nhất (36,4%). Vì xà lách có lá rộng, cấu trúc có nhiều lá sắp chồng lên nhau, thuận lợi trứng dính, sống sót. Trong

31 mẫu rau má, trứng GM và GĐ đều 3,2%, nhiễm đơn bào (41,9%) gấp 7 lần so đa bào (6,5%). Nhiễm *B.coli* cao nhất (38,7%), *E.histolytica* (16,1%) và *G.lambliia* (3,2%). Theo Trần Thị Hồng, *E.histolytica* nhiễm 100% và trứng GĐ và GM (25%) [2]. Lê Thị Ngọc Kim phân tích trên 104 mẫu rau ở chợ thấy nhiễm trên rau má cao, amip cao nhất (91,4%) và trong số đa bào thì trứng GĐ cao (78,8%)[4]. Diếp cá nhiễm đa bào (12,1%), trong đó trứng GM và GĐ là 6,1%, *E.histolytica* (30,3%), *B.coli* (24,2%). Trong 31 mẫu rau thơm nhiễm trứng GĐ và GM (3,2%). Nhiễm đa bào chung là 6,5% bằng 1/8 nhiễm đơn bào (48,5%). Amip (41,9%), *B.coli* (19,4%), *G.lambliia* (16,1%), khác với nghiên cứu tại Quận 8 với rau diếp cá nhiễm trứng GM chỉ ½ trứng GĐ (11,8% và 34,7%), *E. histolytica* trên rau diếp cá thấp hơn (18,6%) [4]. Rau thơm cũng nhiễm trứng GM (34,7%) gấp 6 lần so với số liệu này, nhưng *E.histolytica* trên rau thơm tương tự (5,7%). Nghiên cứu tại Tabriz, Iran với 1620 mẫu rau thơm, húng quế, ngò, hẹ, mùi tây, xà lách từ 54 cửa hàng thấy 19,5% mẫu nhiễm KSTĐR, trong đó 8,7% là đa bào và 10,8% đơn bào, trứng GĐ và *E. coli* hiện diện trong hầu hết rau, đơn bào cao hơn đa bào[10]. Nghiên cứu ở Tabuk, Ả Rập trên 400 mẫu của 8 loại rau ăn sống phổ biến ở chợ thấy nhiễm 20,7% [8].

5. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm KSTĐR chung trên 5 loại rau là 56,3%. Trong đó:

- Trên cải xanh: nhiễm đa bào 16,1% (với trứng giun đũa và giun móc 6,5%), giun tóc (3,2%); nhiễm đơn bào là 83,9% (*E.histolytica* 67,7%, *G.lambliia* 54,8%, *B.coli* 16,1%);
- Trên xà lách: nhiễm đa bào 9,4% (trứng giun móc 6,3%, giun đũa 3,1%); nhiễm đơn bào 56,3% (*B.coli* 40,6%, *E.histolytica* 28,1%, *G.lambliia* 12,5%);
- Trên rau má: nhiễm đa bào 6,5% (trứng giun móc và giun đũa 3,2%); nhiễm đơn bào 41,9% (*B.coli* 38,7%, *E.histolytica* 16,1%, *G.lambliia* 3,2%);
- Trên diếp cá: nhiễm đa bào 12,1% (trứng giun móc và giun đũa 6,1%); nhiễm đơn bào 48,5% (*E. histolytica* 30,3%, *B.coli* 24,2%);
- Trên rau thơm: nhiễm đa bào 6,5% (trứng giun đũa 3,2%, giun móc 3,2%); nhiễm đơn bào 48,5%

(*E.histolytica* 41,9%, *B.coli* 19,4%, *G.lambliia* 16,1%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Đề, Bùi Khắc Hùng, Mầm bệnh ký sinh trùng trên rau tươi bằng nước thải tại thành phố và nông thôn tỉnh Đắk Lắk. Tạp chí Y học Thực hành. 914(4), tr.65-67, 2014.
- [2] Trần Thị Hồng, Khảo sát ký sinh trùng trên rau sống bán tại siêu thị TP. Hồ Chí Minh. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, Phụ bản số 2(11), tr.82-86, 2005.
- [3] Lê Thị Mỹ Hương và cs, Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng trên rau ăn sống bán tại chợ địa bàn Quận 8, TP.Hồ Chí Minh. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, 5(2), tr.33-35, 2014.
- [4] Lê Thị Ngọc Kim và cs, Khảo sát ký sinh trùng trên rau sống bán tại chợ địa bàn TP. Hồ Chí Minh. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, Phụ bản số 2(11), tr.130-135, 2007.
- [5] Lê Lợi và cs, Xác định mầm bệnh ký sinh trùng trên rau xanh tại một số chợ, cửa hàng rau tại TP. Nam Định. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh. 1(17), tr.179-183, 2013
- [6] Nguyễn Đỗ Phúc và cs, Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng trên rau sống tại chợ quận 8, TP.Hồ Chí Minh. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh. 20(5), tr.26-36, 2015.
- [7] Trần Thanh Quang và cs, Thực trạng và một số yếu tố liên quan tới nhiễm mầm bệnh KST đường ruột ở người bán rau tại chợ TP.Trà Vinh, 2019. Y học Dự phòng, 30(3), tr.63-71, 2020.
- [8] El Bakri et al, Intestinal parasite detection in assorted vegetables in the United Arab Emirates. Oman Med J. 35(3):e128, 2020.
- [9] Punsawad Chuchard et al, Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in Nakhon Si Thammarat province, southern Thailand. BMC Public Health. 19(1):1-7, 2019.
- [10] Taghipour et al, The occurrence of *Cryptosporidium* sp., eggs of soil-transmitted helminths in market vegetables in the north of Iran. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 12(4): 364-69, 2019.

UPDATE TO ANTIFUNGAL RESISTANCE OF DERMATOPHYTES

Ngo Thi Minh Chau*, Ton Nu Phuong Anh

Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University - 6 Ngo Quyen, Vinh Ninh, Hue city, Thua Thien Hue, Vietnam

Received 05/01/2023

Revised 07/02/2023; Accepted 01/03/2023

ABSTRACT

Background: Drug resistance of dermatophytes has been a concern in the last decade since the increase of antifungal resistance reported and the limitation of the number of antifungal drugs used in treatment. **Objective:** To update of resistance of dermatophytes fungi to antifungal agents, including azole, griseofulvin and terbinafine. **Material and methods:** This review was carried out by collecting and analyzing the results of the international publishes and nation publishes relating to antifungal reistance of dermatophytes. **Results:** In vitro studies showed that high resistance rates to fluconazole, as well as resistance to other azoles, terbinafine, and griseofulvin, were reported. Numerous reports describe the emergence of resistance in dermatophytes, especially in *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* /*Trichophyton interdigitale* species complex. **Conclusions:** Updating dermatophytes' antifungal resistance to the dermatologist in clinical practice should be done. In addition, supporting dermatophytes antimicrobial resistance studies and increasing capacity for antifungal susceptibility testing is necessary to control the spread of drug resistance.

Key words: Dermatophytes fungi, resistance, azole, terbinafine, antifungal susceptibility testing.

*Corresponding author

Email address: ntmchau@huemed-univ.edu.vn

Phone number: (+84) 983 863 426

CẬP NHẬT TÌNH HÌNH KHÁNG THUỐC CỦA NẤM DA DERMATOPHYTES

Ngô Thị Minh Châu*, Tôn Nữ Phương Anh

Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế - 6 Đ. Ngô Quyền, Vinh Ninh, thành phố Huế, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

Ngày nhận bài: 05 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 07 tháng 02 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 01 tháng 03 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Đề kháng thuốc của nấm da dermatophytes là vấn đề đang được quan tâm ở thập kỷ vừa qua do sự báo cáo về kháng thuốc tăng lên và số lượng giới hạn của các loại thuốc dùng điều trị bệnh. **Mục tiêu:** Cập nhật về tình hình kháng thuốc của nấm da dermatophytes với các thuốc kháng nấm bao gồm nhóm azole, griseofulvin và terbinafine. **Đối tượng phương pháp nghiên cứu:** Báo cáo tổng quan này được thực hiện bằng cách tổng hợp, phân tích các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước đã được công bố về kết quả kháng thuốc in vitro của các loài vi nấm thuộc nhóm nấm da dermatophytes với các thuốc kháng nấm. **Kết quả:** Các nghiên cứu in vitro cho thấy tỷ lệ đề kháng cao với fluconazole, ngoài ra đề kháng với một số thuốc khác thuộc nhóm azole, terbinafine, griseofulvin cũng được ghi nhận. Nhiều nghiên cứu cho thấy kháng thuốc thường liên quan đến loài *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*/*T. interdigitales* complex. **Kết luận:** Cần thiết cập nhật kháng thuốc của nấm da dermatophytes từ các kết quả nghiên cứu phòng thí nghiệm cho bác sĩ trong thực hành điều trị. Đồng thời thực hiện các nghiên cứu kháng thuốc của nấm da dermatophytes ở mỗi quốc gia, cũng như nâng cao năng lực phòng thí nghiệm về thực hiện thử nghiệm đánh giá sự nhạy cảm với thuốc kháng nấm để giám sát kháng thuốc.

Từ khóa: Nấm da dermatophytes, đề kháng, azole, terbinafine, thử nghiệm đánh giá sự nhạy cảm với thuốc kháng nấm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dịch tễ của bệnh nấm da dermatophytes

Nấm da dermatophytes là nấm ưa keratin gây bệnh nấm nông da, tóc, lông, móng phổ biến ở người và ảnh hưởng đến khoảng 20-25% dân số thế giới [1]. Đây là những loài vi nấm thuộc một trong 7 giống *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Nannizzia*, *Arthroderma*, *Paraphyton*, và *Lophophyton*

[2]. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy sự đa dạng trong các loài nấm da phân lập được, tùy thuộc vào vùng địa lý và điều kiện kinh tế xã hội [1], [2]. Các loài có tần suất phân lập phổ biến trên toàn thế giới gồm *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton tonsurans* và *Microsporum canis* [1], [2].

Cơ chế tác dụng của các nhóm thuốc điều trị nấm da phổ biến

*Tác giả liên hệ

Email: ntmchau@huemed-univ.edu.vn

Điện thoại: (+84) 983 863 426

Thuốc kháng nấm nhóm azole, allylamines và griseofulvin ở dạng uống và bôi hiện nay đang được sử dụng chủ yếu để điều trị bệnh nấm da dermatophytes [3], [4]. Nhóm azole bao gồm imidazole (clotrimazole, ketoconazole,...) và triazole (fluconazole, itraconazole,...). Cơ chế tác động của nhóm này là tác động đến con đường sinh tổng hợp ergosterol bằng cách ức chế enzyme cytochrome P450 là lanosterol 14 α - demethylase, xúc tác việc chuyển đổi lanosterol thành ergosterol dẫn tới suy giảm ergosterol và tích lũy tiền chất sterol. Các thuốc nhóm azole có thể được sử dụng tại chỗ hoặc có thể dùng đường uống để điều trị nhiễm nấm toàn thân [5]. Nhóm allylamines (terbinafine, naftifine,...) với cơ chế là ức chế squalene epoxidase, một loại enzyme trong quá trình sinh tổng hợp ergosterol dẫn đến sự suy giảm của ergosterol và tích lũy squalene gây ức chế tăng trưởng của vi nấm [6]. Griseofulvin là một chất kháng nấm được phân lập từ *Penicillium griseofulvum*, có tác dụng đối với tất cả các nấm da dermatophytes. Thuốc này gây ức chế tổng hợp thành tế bào sợi nấm, can thiệp vào quá trình tổng hợp và giảm thiểu acid nucleic và ức chế vi ống dẫn đến ngăn chặn nguyên phân [6]. Trong điều trị nấm da thuốc kháng nấm được dùng bôi tại chỗ đơn thuần hoặc kết hợp thuốc bôi với thuốc uống đường toàn thân tùy thuộc vào mức độ thương tổn. Thuốc uống được lựa chọn ưu tiên theo thứ tự là terbinafine, itraconazole, griseofulvin. Với phụ nữ có thai chỉ dùng các thuốc kháng nấm theo đường dùng tại chỗ như clotrimazole, terbinafine, ciclopirox [3].

Cơ chế kháng thuốc của vi nấm

Kháng thuốc của vi nấm có liên quan đến sự phơi nhiễm với thuốc, phản ứng đề kháng và tăng dung nạp thuốc để thích nghi, hoặc cơ chế bơm thuốc ra khỏi tế bào [5]. Hiểu biết về cơ chế kháng thuốc của nấm dermatophytes còn hạn chế. *T. interdigitale* và *T. rubrum* phản ứng với liều lượng dưới mức gây chết vi nấm của một số thuốc kháng nấm bằng cách điều chỉnh sự biểu hiện của các gen liên quan đến các quá trình khác nhau như vận chuyển protein, thải thuốc, chuyển hóa lipid, truyền tín hiệu, dịch mã, hậu dịch mã sửa đổi và oxidative stress tùy thuộc vào loại thuốc và thời gian tiếp xúc [4]. Vấn đề kháng thuốc của nấm da đặc biệt quan tâm với *T. rubrum* và *T. mentagrophytes/T. interdigitales* complex hiện nay là đề kháng với azole và terbinafine. Trong đó kháng terbinafine liên quan đến đột biến của gene squalene epoxidase, và kháng azole liên quan chính đến tăng biểu hiện gene mã hóa

vận chuyển để đẩy thuốc ra khỏi tế bào [7].

Do bệnh nấm da gây bệnh thường không cấp tính nhưng thời gian điều trị kéo dài, dễ lây lan, khả năng tái phát cao nếu không được điều trị triệt nên gây ảnh hưởng tới thẩm mỹ cũng như sức khỏe của bệnh nhân. Hiện nay, do sự thay đổi mô hình bệnh tật, lối sống và việc dùng thuốc kháng nấm có thể liên quan đến sự thay đổi về phân bố loài vi nấm gây cũng như kháng thuốc của vi nấm. Vì vậy mục tiêu của bài báo này là cập nhật về kháng thuốc của nấm da dermatophytes với các thuốc thuộc nhóm azole, griseofulvin và terbinafine từ các kết quả nghiên cứu được công bố, để từ đó có khuyến cáo phù hợp trong điều trị bệnh cũng như kiểm soát lan rộng của kháng thuốc.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các bài báo được lựa chọn tổng hợp phân tích trong báo cáo này có liên quan đến các nghiên cứu về thử nghiệm đánh giá sự nhạy cảm của các loài vi nấm thuộc nhóm nấm da dermatophytes với các thuốc kháng nấm theo một số phương pháp như: khuếch tán trên đĩa (cải tiến quy trình khuếch tán trên thạch CLSI- M51 dành cho nấm mốc, để áp dụng cho nấm da), vi pha loãng theo quy trình của Viện tiêu chuẩn Lâm sàng và Xét nghiệm Hoa Kỳ (CLSI- M38A) hoặc quy trình của Ủy ban Châu Âu về thử nghiệm nhạy cảm với thuốc kháng sinh/kháng nấm (EUCAST E.Def. 9.3.2 và E. Def. 11.0).

3. KẾT QUẢ

Ở thập kỷ đầu của thế kỷ 21 kháng thuốc của nấm da rất ít được quan tâm về mặt thực hành lâm sàng, đặc biệt là kháng terbinafine do hiệu quả điều trị tốt của các loại thuốc được sử dụng. Tuy nhiên kháng terbinafine thứ phát sau dùng thuốc kháng nấm tăng lên gần đây ở một số quốc gia, đặc biệt Ấn Độ là vấn đề được quan tâm nổi trội trong lĩnh vực vi nấm y học và là mối quan tâm của bác sĩ Da liễu. Bên cạnh đó hiện nay kháng thuốc của nấm da với một số thuốc kháng nấm khác thuộc nhóm azole như fluconazole, ketoconazole, clotrimazole..., hoặc griseofulvin cũng được báo cáo [7], [8].

3.1. Kháng azole của nấm da dermatophytes

Đã có nhiều nghiên cứu in vitro về kháng thuốc của nấm da dermatophytes với nhóm azole ở nhiều quốc

gia trên thế giới. Hầu hết các nghiên cứu này ghi nhận sự đề kháng phổ biến với fluconazole, và một tỷ lệ nhất định kháng với các dẫn xuất khác như itraconazole, ketoconazole, clotrimazole, miconazole. Tuy nhiên nhìn chung itraconazole và ketoconazole được đánh giá nhạy cảm tốt với dermatophytes. Nghiên cứu của Manzano-Gayosso và cộng sự (Mexico, 2008) báo cáo các chủng *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, và *T. tonsurans* kháng với fluconazole [9]. Indira và cộng sự (Ấn Độ, 2014), khảo sát sự đề kháng của nấm da với các thuốc ketoconazole, fluconazole, itraconazole cho thấy vi nấm nhạy cảm cao với ketoconazole so với các thuốc còn lại [10]. Silva và cộng sự (Brazil, 2014) báo cáo dermatophytes nhạy cảm với itraconazole, voriconazole, trong khi đó tỷ lệ đề kháng fluconazole cao [11]. Shalaby và cộng sự (Ai Cập, 2016) ghi nhận tỷ lệ đề kháng cao với fluconazole (94,5%), kháng miconazole là 4,5% và không có đề kháng với clotrimazole [8]. Khadka và cộng sự (2017, Nepal) cho thấy có 12,5% chủng nấm da kháng clotrimazole, 5,5% kháng ketoconazole, 4,2% kháng miconazole, 100% kém đáp ứng với fluconazole [12]. Nghiên cứu của Kurup (Ấn Độ, 2021) cho thấy 22,7% nấm da đề kháng fluconazol [13]. Kháng phối hợp thuốc trong nhómazole của nấm da cũng được đề cập đến trong nghiên cứu của Shalaby và cộng sự [8].

3.2. Kháng griseofulvin của nấm da dermatophytes

Kháng griseofulvin cũng được báo cáo ở một số nghiên cứu. Shalaby và cộng sự (Ai Cập, 2016), ghi nhận tỷ lệ đề kháng griseofulvin là 53,6% [8]. Indira và cộng sự (Ấn Độ, 2014), khảo sát sự đề kháng của nấm da với các thuốc ketoconazole, fluconazole, itraconazole, terbinafine và griseofulvin cho thấy vi nấm nhạy cảm cao với terbinafine và ketoconazole so với các thuốc còn lại [10]. Silva và cộng sự báo cáo *T. rubrum* và *T. interdigitale* đề kháng griseofulvin với giá trị MIC cao [11].

3.3. Kháng terbinafine của nấm da dermatophytes

Các nghiên cứu trước đây thấy đa số chủng nấm da nhạy cảm tốt với terbinafine [10], [11]. Tuy nhiên kháng terbinafine đã được báo cáo lần đầu tiên với hai trường hợp nấm móng do *T. rubrum* thất bại trong điều trị với terbinafine ở Bắc Mỹ năm 2003 [7], và kháng terbinafine của *T. rubrum* ở Châu Âu được chú trọng trong khi đó ở Ấn Độ thường gặp ở loài *T. mentagrophytes* [5]. Tuy nhiên các trường hợp đề kháng thuốc này của *T. interdigitale* sau đó cũng được báo cáo [14]. Đến nay

có nhiều báo cáo liên quan đến tỷ lệ kháng cao của *T. mentagrophytes*/*T. interdigitale* complex mà cụ thể là loài *T. indotineae* ở Ấn Độ và một số quốc gia khác [15], [16]. Hiện nay vấn đề nổi trội được báo cáo là kháng terbinafine của *T. interdigitale* / *T. indotineae* liên quan đến đột biến gen squalene epoxidase (SQLE), đặc biệt là các báo cáo ở Ấn Độ, và sau đó là báo cáo ở nhiều quốc gia khác nhau trên thế giới (Châu Âu, Châu Á) [7]. Kháng phối hợp fluconazole và terbinafine của nấm da cũng đã được đề cập tới trong nghiên cứu của Kurup về sự nhạy cảm với thuốc kháng nấm của nấm da cho thấy tỷ lệ đề kháng phối hợp 2 thuốc fluconazole và terbinafine là 9,1% [13].

3.4. Kháng thuốc theo loài vi nấm

Xét về kháng thuốc theo loài nấm da, các kết quả cho thấy sự đề kháng thuốc có thể gặp ở nhiều loài khác nhau, tuy nhiên thường gặp hơn ở loài *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* complex, *T. interdigitale* complex, *N. gypsea* [13], [17].

3.5. Kết quả nghiên cứu kháng thuốc của nấm da dermatophytes ở Việt Nam

Ở Việt Nam, bệnh do nấm da dermatophytes vẫn là bệnh phổ biến trong các bệnh da liễu. Nghiên cứu invitro cho thấy thấy nấm da giảm đáp ứng với thuốc kháng nấm và có tỷ lệ kháng nhất định với một số thuốc. Cụ thể nghiên cứu của Nguyễn Vũ Giang Bắc và cộng sự (2014) cho thấy xu hướng giảm đáp ứng với ketoconazole của một số chủng nấm da phân lập từ bệnh nhân [18]. Theo kết quả nghiên cứu của Chau Van Tro và cộng sự (2018), một số loài *Trichophyton sp.* đề kháng với fluconazole (92,9%), griseofulvin (46,4%), ketoconazole (5,4%); *Microsporum sp.* đề kháng với fluconazole và griseofulvin (100%), ketoconazole (20%) ở Bệnh viện Da liễu TP. Hồ Chí Minh [19]. Nghiên cứu của chúng tôi ở Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế giai đoạn 2020 -2021 cho thấy nấm da *Nannizzia incurvata* đề kháng 100% với fluconazole, tỷ lệ trung gian và đề kháng với griseofulvin là 75%, trong khi đó 100% nhạy cảm itraconazole, terbinafine, clotrimazole và miconazole [20]; trong khi đó đánh giá về kháng thuốc chung của nấm da dermatophytes cho thấy 100% chủng vi nấm nhạy cảm với itraconazole, voriconazole, clotrimazole và miconazole, và đề kháng fluconazole chiếm tỷ lệ cao nhất (65,6%), và tỷ lệ đề kháng ketoconazole, griseofulvin và terbinafin lần lượt là 5,8%, 28,8% và 1,9% (số liệu chưa được công bố).

4. BÀN LUẬN

Từ kết quả các nghiên cứu nói trên cho thấy vấn đề đề kháng quan trọng của nấm da với fluconazole và griseofulvin, trong khi đó các thuốc như itraconazole, voriconazole nhạy cảm tốt với dermatophytes, hoặc tỷ lệ đề kháng thấp như ketoconazole, miconazole, clotrimazole. Đây chính là dữ liệu quan trọng cung cấp cho phác đồ điều trị hiệu quả trong thực hành của bác sĩ Da liễu.

Một số yếu tố liên quan tới kháng thuốc của nấm da dermatophytes được đề cập đến bao gồm lạm dụng thuốc kháng nấm bôi tại chỗ không kê đơn, sử dụng steroid tại chỗ không phù hợp, kê đơn thuốc chống nấm không phù hợp, không tuân thủ đầy đủ các liệu trình thuốc chống nấm theo quy định, du lịch và di cư toàn cầu [21].

(<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/ringworm/dermatophyte-resistance.html>)

Do số lượng giới hạn của các loại thuốc dùng điều trị bệnh hiện đang sử dụng, nên việc nghiên cứu về các dẫn xuất mới thuộc các nhóm thuốc đã biết hoặc nghiên cứu về thuốc có cơ chế tác động mới là cần thiết. Một số thuốc kháng nấm mới thuộc nhóm azoles hoặc một số nhóm thuốc kháng nấm khác đã được báo cáo hiệu quả tác động lên nấm da dermatophytes và đường dùng tại chỗ đã được Cục Thực phẩm và Dược Phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt sử dụng trong thời gian gần đây. Nhóm azole có nhiều thuốc như lanconazole, fenticonazole, oxiconazole, tioconazole, sulconazole, sertaconazole, luliconazole, eberconazole, efinaconazole đã được thử nghiệm và có dạng dùng theo đường tại chỗ để điều trị nấm da [22]. Naftifine thuộc nhóm allylamine cũng được báo cáo về kết quả thử nghiệm với *T. rubrum* [22]. Butenafine thuộc nhóm benzylamine với cơ chế tác dụng tương tự nhóm allylamine được báo cáo có hiệu quả tác động lên nấm da dermatophytes trong điều trị các thể bệnh nấm da thân, nấm bẹn và nấm kẽ chân [22]. Đồng thời cũng có một số thuốc tổng hợp khác đang ở giai đoạn nghiên cứu thử nghiệm trên nấm men và nấm sợi khác nhau (trong đó bao gồm nấm da dermatophytes) đã được báo cáo [4], [22]. Theo báo cáo tổng quan của nhóm tác giả Martinez- Rossi, các thuốc kháng nấm mới kháng nấm da đang trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng gồm mohangamides có tác động lên *T. rubrum*, VT-1161 tác động lên *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* và *Epidermophyton floccosum* [4].

Bên cạnh đó hoạt tính của một số chất được chiết xuất từ các loài thực vật như cỏ roi ngựa (*Lippia gracilis*), cây kha tử (*Terminalia chebula*), cỏ xạ hương (*Thymus vulgaris*), hoa cúc (*Baccharis darwinii*),...được đánh giá có hoạt tính lên nấm da và hứa hẹn có hiệu quả trong bào chế sử dụng điều trị [4].

5. KẾT LUẬN

Tóm lại, đề kháng thuốc của nấm da dermatophytes là vấn đề thực sự cần được quan tâm hiện nay do số lượng giới hạn của các loại thuốc dùng điều trị bệnh hiện đang sử dụng. Các nghiên cứu in vitro cho thấy tỷ lệ đề kháng cao với fluconazole, ngoài ra kháng với một số thuốc khác thuộc nhóm azole, allylamine, griseofulvin cũng được ghi nhận với tỷ lệ nhất định. Kháng thuốc quan trọng thường liên quan đến loài *Trichophyton mentagrophytes/ T. interdigitales complex* hoặc *Trichophyton rubrum*. Vấn đề này cho thấy cần thiết cung cấp và cập nhật về vấn đề kháng thuốc của nấm da dermatophytes cho bác sĩ điều trị, thực hiện nghiên cứu kháng thuốc của các loài vi nấm nhóm này ở mỗi quốc gia, đồng thời nâng cao năng lực phòng thí nghiệm về thực hiện thử nghiệm đánh giá sự nhạy cảm với thuốc kháng nấm để giám sát kháng thuốc. Bên cạnh đó nghiên cứu thuốc kháng nấm mới với cơ chế tác động mới cũng là vấn đề nên được xem xét tới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nenoff P, Kruger C, Ginter-Hanselmayer G et al., Mycology - an update. Part 1: Dermatofungi: causative agents, epidemiology and pathogenesis. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG. 2014;12(3):188-209; quiz 10, 188-211; quiz 2.
- [2] de Hoog GS, Dukik K, Monod M et al., Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. Mycopathologia. 2017;182(1-2):5-31.
- [3] Khurana A, Sardana K, Chowdhary A, Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. Fungal genetics and biology : FG & B. 2019;132:103255.
- [4] Martinez-Rossi NM, Bitencourt TA, Peres NTA

- et al., Dermatophyte Resistance to Antifungal Drugs: Mechanisms and Prospectus. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:1108.
- [5] Bouchara J-P, Nenoff P, Gupta AK et al., Dermatophytes and Dermatophytoses. Bouchara J-P, Nenoff P, Gupta AK, Chaturvedi V, editors: Springer; 2021.
- [6] Durdu M, Ilkit M, Tamadon Y et al., Topical and systemic antifungals in dermatology practice. *Expert review of clinical pharmacology*. 2017;10(2):225-37.
- [7] Sacheli R, Hayette MP, Antifungal Resistance in Dermatophytes: Genetic Considerations, Clinical Presentations and Alternative Therapies. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*. 2021;7(11).
- [8] Shalaby MFM, El-Din AN, El-Hamd MA, Isolation, Identification, and In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes from Clinical Samples at Sohag University Hospital in Egypt. *Electronic physician*. 2016;8(6):2557-67.
- [9] Manzano-Gayosso P, Mendez-Tovar LJ, Hernandez-Hernandez F et al., [Antifungal resistance: an emerging problem in Mexico]. *Gaceta medica de Mexico*. 2008;144(1):23-6.
- [10] Indira G, In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of 5 Antifungal Agents against Dermatophytic Species by CLSI (M38-A) Micro Dilution Method. *Clinical Microbiology: Open Access*. 2014;03.
- [11] Silva LB, de Oliveira DB, da Silva BV et al., Identification and antifungal susceptibility of fungi isolated from dermatomycoses. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2014;28(5):633-40.
- [12] Khadka S, Bahadur SJ, Mani PB et al., Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes by Agar Based Disk Diffusion Assay in Tertiary Care Hospital, Nepal 2017. 1-531827 p.
- [13] Kurup AS, Parambath FC, Khader A et al., Identification and in vitro antifungal susceptibility of dermatophyte species isolated from lesions of cutaneous dermatophytosis: A cross-sectional study. *Journal of Skin and Sexually Transmitted Diseases*. 4:63-7.
- [14] Saunte DML, Hare RK, Jørgensen KM et al., Emerging Terbinafine Resistance in Trichophyton: Clinical Characteristics, Squalene Epoxidase Gene Mutations, and a Reliable EUCAST Method for Detection. 2019;63(10).
- [15] Singh A, Masih A, Khurana A et al., High terbinafine resistance in Trichophyton interdigitale isolates in Delhi, India harbouring mutations in the squalene epoxidase gene. 2018;61(7):477-84.
- [16] Kano R, Kimura U, Kakurai M et al., Trichophyton indotineae sp. nov.: A New Highly Terbinafine-Resistant Anthropophilic Dermatophyte Species. *Mycopathologia*. 2020;185(6):947-58.
- [17] Carrillo-Muñoz AJ, Cárdenes CD, Carrillo-Orive B et al., In vitro antifungal activity of voriconazole against dermatophytes and superficial isolates of Scopulariopsis brevicaulis. *Revista iberoamericana de micologia*. 2005;22(2):110-3.
- [18] Nguyễn Vũ Bắc Giang, Huỳnh Thê Hà, Nguyễn Đình Nga, Xác định sự phân bố theo loài và mức độ nhạy cảm của các chủng nấm da với ketoconazole. *Y học TP Hồ Chí Minh*. 2014;18(2):216-63.
- [19] Van TC, Ngoc KHT, Van TN et al., Antifungal Susceptibility of Dermatophytes Isolated From Cutaneous Fungal Infections: The Vietnamese Experience. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(2):247-9.
- [20] Ngo TMC, Ton Nu PA, Le CC et al., Nannizzia incurvata in Hue city - Viet Nam: Molecular identification and antifungal susceptibility testing. *Journal de mycologie medicale*. 2022;32(3):101291.
- [21] <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/ringworm/dermatophyte-resistance.html>.
- [22] Sahni K, Singh S, Dogra S, Newer Topical Treatments in Skin and Nail Dermatophyte Infections. *Indian dermatology online journal*. 2018;9(3):149-58.



POSSIBLE AFFECTED FACTORS IN INTESTINAL PARASITIC CONTAMINATION OF RAW VEGETABLES IN WHOLESALE MARKETS OF BUON MA THUOT CITY

Nguyen Thi Lan Huong^{1,*}, Nguyen Duy Phong², Huynh Hong Quang³

¹Tay Nguyen Regional General hospital - 184 Tran Quy Cap, Tu An, Buon Ma Thuot city, Dak Lak, Vietnam

²University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Institute of Malariology, Parasitology, and Entomology Quy Nhon - 611B Nguyen Thai Hoc, Nguyen Van Cu, Qui Nhon, Binh Dinh, Vietnam

Received 16/12/2022

Revised 17/01/2023; Accepted 20/02/2023

ABSTRACT

Objetives: To describe some possible related factors in raw vegetable samples were purchased from different wholesale markets in the Buon Ma Thuot city.

Subjects and Methods: A cross-sectional study design on total of 158 raw vegetable samples and all vegetable sellers.

Results: The overall prevalence of parasitic contamination was 56.3% (89/158) in raw vegetables. There was a relationship between parasitic infection and general knowledges of vegetable seller [OR:0.18; 95%CI:0.07-0.47]. On the practical skills of seller, Factors affecting on these contamination were vegetables supply source [OR:0.51; 95%CI:0.26-0.98], and on-site spraying water source for vegetables [OR:0.43; 95%CI:0.22-0.83].

Conclusions: The findings of this study evidenced that consumption of raw vegetables possesses great risk of getting parasitic infections, and some possible involved factors. Hence, instructing the sellers and the consumers about parasitic disease transfer and their hygiene can reduce the infection.

Keywords: Raw vegetables, parasitic contamination, related factors.

*Corresponding author

Email address: nguyenlanhuongk49a@gmail.com

Phone number: (+84) 906 464 244

YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN NHIỄM KÝ SINH TRÙNG ĐƯỜNG RUỘT TRÊN RAU ĂN SỐNG TẠI CÁC CHỢ ĐẦU MỐI Ở THÀNH PHỐ BUÔN MA THUỘT

Nguyễn Thị Lan Hương^{1,*}, Nguyễn Duy Phong², Huỳnh Hồng Quang³

¹Bệnh viện Đa khoa Vùng Tây Nguyên - 184 Trần Quý Cáp, Tụ An, Thành phố Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk, Việt Nam

²DH Y Dược TP. Hồ Chí Minh - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Viện Sốt rét-Ký sinh trùng-Côn trùng Quy Nhơn - 611B Nguyễn Thái Học, Nguyễn Văn Cừ, thành phố Quy Nhơn, Bình Định, Việt Nam

Ngày nhận bài: 16 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 17 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 20 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả yếu tố liên quan đến nhiễm ký sinh trùng đường ruột trên rau ăn sống ở thành phố Buôn Ma Thuột.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả.

Kết quả nghiên cứu: Tỷ lệ nhiễm KST chung trên rau sống là 56,3% (89/158). Có mối liên quan giữa nhiễm KST với kiến thức của người bán rau [OR:0,18; 95%CI:0,07-0,47], nguồn rau cung cấp [OR:0,51; 95%CI:0,26-0,98] và nguồn nước phun, rửa cho rau tại chỗ [OR:0,43; 95%CI:0,22-0,83].

Kết luận: Nghiên cứu chỉ ra bằng chứng tiêu thụ rau sống có nguy cơ nhiễm KST và một số yếu tố liên quan đến nhiễm. Do vậy, cần hướng dẫn cho người bán rau và người tiêu dùng về lây truyền mầm bệnh và cách vệ sinh của họ để làm giảm nhiễm.

Từ khóa: Rau sống, nhiễm ký sinh trùng, yếu tố liên quan.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rau ăn sống là thực phẩm cần thiết trong khẩu phần ăn, cung cấp vi chất, vitamin và khoáng chất cho cơ thể. Song, chính rau sống cũng là đường lây truyền chính ký sinh trùng đường ruột (KSTĐR) vào người. Đồng thời, KSTĐR là nhóm bệnh phổ biến nhất với khoảng 2 tỷ người trên toàn cầu nhiễm mỗi năm, ảnh hưởng đến sức khỏe và kinh tế ở nhiều nước, nhất là quốc gia không đủ hệ thống quản lý giám sát an toàn thực phẩm, nên việc quản lý chưa đầy [7],[10], nhiễm KSTĐR có liên

quan đến kiến thức, thực hành ở người bán rau. Do đó, nghiên cứu tiến hành nhằm mô tả yếu tố liên quan giữa nhiễm KSTĐR trên rau ăn sống với kiến thức và thực hành ở người bán rau.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian

- Tại các chợ thuộc 18 xã/ phường thuộc TP. Buôn Ma Thuột

*Tác giả liên hệ

Email: nguyentanhuongk49a@gmail.com

Điện thoại: (+84) 906 464 244

- Từ tháng 4 - tháng 11/2021

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Rau ăn sống: Cải xanh, xà lách, rau má, rau diếp cá, rau thơm tại các chợ đầu mối;
- Người trực tiếp bán rau ăn sống.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu ngang mô tả.

2.3.2. Cỡ mẫu: Áp dụng tính cỡ mẫu ước lượng một tỷ lệ:

$$n = Z^2 \frac{p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó, $Z = 1,96$ (ước lượng khoảng tin cậy với $\alpha = 0,05$), p là tỷ lệ nhiễm KSTĐR trên rau sống tại các chợ TP Hồ Chí Minh của Nguyễn Đỗ Phúc (2015) [1] với tỷ lệ $p = 0,9$; d là sai số cho phép $= 0,05$. Khi đó, tính được cỡ mẫu $n = 138$. Trong điều tra sẽ có nguy cơ mất mẫu, mẫu rau không đạt chất lượng, cỡ mẫu được làm tròn # 150 mẫu, đồng thời phỏng vấn 150 người bán rau.

Xét nghiệm KSTĐR trên 5 loại rau ăn sống được chọn. Vì vậy, mỗi loại rau sẽ có cỡ mẫu là $150:5$ loại rau ăn sống = 30.

2.3.3. Chọn mẫu

- Chọn mẫu ngẫu nhiên hệ thống: Chọn 18 xã/ phường có chợ đầu mối hoạt động với tổng số 302 quây bán rau do Ban Quản lý chợ cung cấp, đánh số thứ tự quây bán rau, tính khoảng cách mẫu k dựa vào danh sách quây bán đã lập, chia cho số mẫu cần khảo sát là 150 mẫu; $k = 2$. Chọn ngẫu nhiên r ($1 \leq r \leq k$). Quây chọn mua mẫu đầu tiên là r , quây tiếp theo có số thứ tự $r+k$, chọn đến khi đủ 150 mẫu.

- Theo thứ tự quây được chọn sẽ gán 1 loại rau cần thu thập, đảm bảo đủ 5 loại rau cần phân tích. Nếu quây

được chọn vắng mặt, tiến hành lấy quây rau kế bên và quy định rõ ràng cách thức lấy mẫu rau.

2.4. Biến số trong nghiên cứu

- Giới tính, tuổi, dân tộc, trình độ học vấn, tuổi thâm niên trong nghề;
- Biến số kiến thức về KSTĐR trên rau: Đã từng nghe/nói về KSTĐR, đường truyền, tác nhân KST trên rau ăn sống, tên loại KSTĐR, tác hại cho sức khỏe, nguyên nhân gây nhiễm, nguồn cung cấp rau, quy trình trồng, rau an toàn, nước tưới.

2.5. Thu thập dữ liệu

- Mẫu đảm bảo kỹ thuật TCVN 9016:2011 [3] và phân tích tại Bộ môn Vi ký sinh, ĐH Tây Nguyên;
- Phỏng vấn trực tiếp người bán rau theo danh sách qua bộ câu hỏi có cấu trúc. Khảo sát thử bộ câu hỏi 10 người bán rau (NBR), sau đó điều chỉnh từ ngữ phù hợp với ngôn ngữ và hiểu biết của NBR và kiểm định tính chính xác theo Cronbach's alpha.

2.6. Phân tích số liệu

Số liệu được nhập liệu và xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản SPSS20;

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Thông tin nghiên cứu không ảnh hưởng quyền lợi, sức khỏe NBR, thông tin mã hóa và bảo mật và chỉ nhằm xác định liên quan giữa nhiễm KSTĐR với kiến thức và thực hành của NBR, nhằm đề xuất biện pháp phù hợp nâng cao an toàn thực phẩm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thông tin chung về người bán rau tham gia nghiên cứu

Bảng 3.1 Đặc điểm về dân số của người bán rau (n=158)

Đặc điểm người bán rau		Tần số	Tỷ lệ (%)
Giới tính			
	Nam	14	8,9
	Nữ	144	91,1
Nhóm tuổi			
	≥ 18 - 39 tuổi	16	10,1
	≥ 40 - 59 tuổi	110	69,6
	≥ 60 tuổi	32	20,3
Dân tộc			
	Kinh	152	96,2
	Dân tộc khác	6	3,8
Trình độ học vấn			
	Mù chữ	7	4,4
	Tiểu học	36	22,8
	Trung học cơ sở	74	46,8
	Trung học phổ thông	34	21,5
	Đại học, sau đại học	7	4,4
Nhóm tuổi nghề			
	≤ 1 năm	4	2,5
	≥ 2 – 5 năm	29	18,5
	≥ 6 - 10 năm	21	13,4
	≥ 10 năm	103	65,6

Trong nhóm NBR, nữ cao hơn nam (91,1% và 8,9%), độ tuổi từ 40-59 (69,6%), từ 60 trở lên (20,3%) và từ (18-39) chỉ 10,1%. Hầu hết người Kinh (96,2%); biết chữ, trình độ cấp II (46,8%), cấp I và III tương đương (22,8% và 21,5%). Tuổi nghề trên 10 năm (65,6%), từ

2-5 năm (18,5%), từ 6 -10 năm (13,4%).

3.2. Kiến thức và thực hành về KSTĐR trên rau của người bán rau

3.2.1. Kiến thức về KSTĐR trên rau của NBR



Bảng 3.2. Kiến thức về KSTĐR trên rau của người bán (n=158)

Kiến thức về KSTĐR trên rau		Tần số	Tỷ lệ (%)
Đã từng nghe nói về KSTĐR			
	Đúng	24	15,2
	Chưa đúng	134	84,8
Đường nhiễm KSTĐR			
	Đúng	24	15,2
	Chưa đúng	134	84,8
Biết tên KSTĐR			
	Đúng	24	15,2
	Chưa đúng	134	84,8
KSTĐR gây hại sức khỏe			
	Đúng	24	15,2
	Chưa đúng	134	84,8
Những tác hại do KSTĐR gây ra			
	Đúng	24	15,2
	Chưa đúng	134	84,8
Ăn rau sống có thể bị nhiễm KSTĐR			
	Đúng	21	13,3
	Chưa đúng	137	86,7
Nguyên nhân rau nhiễm KSTĐR			
	Đúng	24	15,2
	Chưa đúng	134	84,8

Tỷ lệ người bán rau có kiến thức đúng thấp, chỉ có 15,2%.

3.2.2. Thực hành về KSTĐR trên rau của NBR

Bảng 3.3. Tỷ lệ thực hành của người bán rau (n=158)

Đặc tính		Tần số	Tỷ lệ (%)
Nguồn cung cấp			
	Trực tiếp	68	43,0
	Trung gian	90	57,0
Nguồn gốc rau bán			
	Nhà trồng	38	24,1
	Từ hộ gia đình	110	69,6
	Khu vực chuyên	10	6,3
Lý do chọn nguồn cấp			
	Giá rẻ	9	5,7
	An toàn	115	72,8
	Khác	34	21,5
Nguồn cung rõ ràng			
	Có	122	77,2
	Không	36	22,8
Quy trình trồng			
	Biết rõ quy trình	19	12,0
	Biết rau sạch	105	66,3
	Không trả lời	34	21,5
Kinh nghiệm			
	Nguồn lâu năm	144	91,1
	Mối quan hệ và khác	14	8,9
Nước dùng tưới rau			
	Nhà, nơi khác	86	54,4
	Chợ	72	45,6

Tỷ lệ NBR lấy rau trực tiếp là 43%, qua khâu trung gian (57%), từ hộ gia đình (72,8%), NBR cho là rau an toàn, chọn nguồn cung rõ ràng (77,2%), lấy rau từ nguồn lâu năm (91,1%).



Bảng 3.4. Quan sát rau ăn sống (n=158)

Đặc tính		Tần số	Tỷ lệ (%)
Quan sát chung về rau			
	Tươi	158	100
	Không	0	0
Nhãn mác rau			
	Không	158	100
	Có	0	0
Dụng cụ chứa nước tưới rau			
	Chai	85	53,8
	Xô, chậu	73	46,2

Rau mua từ chợ về đều tươi (100%) và không nhãn mác (100%), dụng cụ chứa nước tưới rau gồm chai (53,8%), xô và chậu (46,2%).

3.3. Liên quan giữa nhiễm KSTĐR trên rau ăn sống với đặc điểm của NBR

Bảng 3.5. Liên quan giữa nhiễm KSTĐR trên rau ăn sống với đặc tính NBR

Đặc điểm NBR	Nhiễm KSTĐR		Giá trị p	OR	KTC 95%	
	Có (%)	Không (%)				
Giới tính						
	Nam	10	6,9	> 0,05	1,5	0,44 - 5,2
	Nữ	90	93,1			
Nhóm tuổi						
	18 - 39 tuổi	12 (12,0)	4(6,9)	> 0,05	1,8	0,57 - 5,9
	40 - 59 tuổi	69 (69,0)	41(70,7)	> 0,05	0,9	0,5 - 1,8
	≥ 60 tuổi	19 (19,0)	13 (22,4)	> 0,05	1,2	0,6 - 2,7
Dân tộc						
	Kinh	95 (95,0)	57(98,3)	< 0,05		
	Dân tộc	5(5,0)	1(1,7)			
Trình độ học vấn						
	Từ cấp III trở lên	19(19,0)	15 (25,9)	> 0,05	1,4	0,6 - 3,2
	Cấp II	48 (48,0)	26 (44,8)	> 0,05	0,8	0,4 - 1,6
	Cấp I	28 (28,0)	8 (13,8)	< 0,05	0,4	0,1 - 0,9
	Mù chữ	4 (6,9)	3 (3,0)	> 0,05	1,4	0,2 - 7,8

Đặc điểm NBR	Nhiễm KSTĐR		Giá trị p	OR	KTC 95%
	Có (%)	Không (%)			
Nhóm tuổi nghề					
≤ 1 năm	3 (3,0)	2 (3,4)	> 0,05	0,8	0,1 - 5,3
2 – 5 năm	20 (20,2)	9 (15,5)	> 0,05	1,3	0,5 - 3,2
6 – 10 năm	11(11,0)	10 (17,2)	> 0,05	1,6	0,6 - 4,2
> 10 năm	66 (66,0)	37 (63,8)	> 0,05	0,9	0,4 - 1,7

* Test Chi bình phương được sử dụng để kiểm định cấp I về nguồn rau bán nhiễm cao gấp đôi so với nhóm Nhiễm KSTĐR ở nữ (90%) cao hơn nam (10%), không có mối liên quan giữa nhiễm KSTĐR và giới tính hay nhóm tuổi. Có khác biệt trong nhóm trình độ không nhiễm.

3.4. Liên quan giữa nhiễm KSTĐR với kiến thức và thực hành của người bán rau

Bảng 3.6. Liên quan giữa nhiễm KSTĐR với kiến thức chung NBR

Biến số	Nhiễm KSTĐR		Giá trị p	OR	KTC 95%
	Có (%)	Không (%)			
Kiến thức chung					
Đúng	7 (7,0)	17(29,3)	< 0,05	0,18	0,07-0,47
Chưa đúng	93(93,0)	41(70,7)			

*Test Chi bình phương được sử dụng để kiểm định Có mối liên quan giữa nhiễm và kiến thức của NBR với OR là 0,18 (CI95%:0,07-0,47).

Bảng 3.7. Mối liên quan giữa nhiễm KSTĐR với thực hành NBR (n=158)

Biến số Thực hành	Nhiễm KSTĐR		Giá trị p	OR	KTC 95%
	Có (%)	Không (%)			
Nguồn cấp rau					
Trực tiếp	37 (37,0)	31(53,4)	< 0,05	0,51	0,26-0,98
Trung gian	63(63,0)	27 (46,6)			
Nguồn gốc rau					
Nhà trồng	27 (27,0)	11(19,0)	> 0,05	0,6	0,28-1,39
Lấy từ hộ gia đình	70 (70,0)	40 (69,0)	> 0,05	0,9	0,47-1,92
Khu vực chuyên	3 (3,0)	7(12,1)	< 0,05	4,4	1,1-17,8



Biến số Thực hành	Nhiễm KSTĐR		Giá trị P	OR	KTC 95%
	Có (%)	Không (%)			
Lý do chọn nguồn cung					
Giá rẻ	29 (29,0)	9 (15,5)	< 0,05	2,2	0,9 - 5,1
An toàn	71(71,0)	49 (84,5)			
Nguồn cung rõ ràng					
Có	82 (82,0)	40 (69,0)	< 0,05	2,1	0,9 - 4,3
Không	18(18,0)	18 (31,0)			
Quy trình trồng					
Biết rõ quy trình	76 (76,0)	48 (82,8)	> 0,05	0,6	0,2 - 1,5
Không trả lời	24(24,0)	10 (17,2)			
Nguồn nước dùng tại quầy					
Nhà, nơi khác	62 (62,0)	24 (41,4)	< 0,05	0,43	0,22 - 0,83
Chợ	38(38,0)	34 (58,6)			

* Test Chi bình phương được sử dụng để kiểm định

Nhiễm KSTĐR trên nguồn rau được cấp qua trung gian (63%) cao gấp 1,7 lần so với nguồn cấp trực tiếp (37%), có mối liên quan giữa nguồn cung cấp rau và nhiễm KSTĐR với OR là 0,51 (CI95%:0,26-0,98), có mối liên quan giữa nguồn cung và nhiễm KSTĐR với OR là 2,2 (CI95%:0,9-5,1); mối liên quan giữa nhiễm KSTĐR và nguồn nước dùng tại quầy với OR là 0,43 (CI95%:0,22-0,83), chưa thấy liên quan giữa nhiễm KSTĐR và quy trình trồng rau ($p>0,05$).

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm dân số của người bán rau tham gia nghiên cứu

Đa số người bán rau (NBR) là nữ (91,1%) và nam chỉ 8,9%, tỷ lệ nam ở đây cao hơn so với nghiên cứu của Trần Thanh Quang (3%). Độ tuổi chủ yếu từ 40-59 (69,6%), tiếp đến là từ 60 trở lên (20,3%) và thấp nhất ở nhóm 18-39 (10,1%), người Kinh (96,2%) chiếm đa số. Nghiên cứu Trần Thanh Quang [2] với người Kinh (40%) và Khmer (60%) tại Trà Vinh [12] và khác biệt này do địa điểm triển khai nghiên cứu khác nhau với ưu thế thành phần dân tộc tại chỗ. NBR hầu như biết chữ, học vấn chủ yếu THCS (46,8%), tiểu học và THPT xấp

xi nhau (22,8% và 21,5%), tỷ lệ mù chữ (4,4%) và thấp hơn trong điều tra của Trần Thanh Quang (15,8%) [2]. Phần lớn NBR đều có tuổi nghề thâm niên trên 10 năm (65,6%), tuổi nghề từ 2-5 năm (18,5%), từ 6-10 năm (13,4%) và < 1 năm (2,5%) và số liệu này tương đương nghiên cứu của Trần Thanh Quang [2].

4.2. Yếu tố liên quan giữa nhiễm KSTĐR trên rau ăn sống với kiến thức và thực hành ở NBR

Tỷ lệ NBR đã từng nghe về KSTĐR, không biết KSTĐR gây hại cho sức khỏe, biết ăn rau sống có thể bị nhiễm KSTĐR hay không rất thấp. Tỷ lệ nhiễm trên nhóm có kiến thức chưa đúng cao (93%), trong khi tỷ lệ nhiễm ở nhóm có kiến thức đúng chỉ 7%. Phân tích thấy có mối liên quan giữa nhiễm KSTĐR và kiến thức của NBR với tỷ suất chênh (OR) là 0,18 (CI95%:0,07-0,47). Tỷ lệ nhiễm KSTĐR ở nguồn rau được cung cấp qua trung gian (63%), cao gấp 1,7 lần so với nguồn rau được cung cấp trực tiếp (37%), có mối liên quan giữa nguồn cung và nhiễm KSTĐR với OR là 0,51 (CI95%:0,26-0,98), nếu cấp qua trung gian nhiễm cao hơn bởi rau sẽ có thời gian vận chuyển rau không được bảo quản đúng, rau có thể phơi nhiễm, xếp chồng lên vài loại nông sản khác, nên không thể loại trừ nguồn rau bị nhiễm thêm KSTĐR từ nguồn nông sản khác. Do vậy, nâng cao nhận thức về ô nhiễm KSTĐR trên rau sẽ giúp NBR

có thể phòng được bệnh KST truyền nhiễm sang, giúp họ biết cách bảo quản, vận chuyển rau sống, tránh tình trạng nhiễm chéo KST và đảm bảo rau luôn sạch và an toàn đến tay người tiêu dùng.

Tương tự, ở Ethiopia, Brazil và Iran báo cáo nhiễm KSTĐR trên rau bán tại chợ cao hơn siêu thị [6],[7] do vệ sinh kém hoặc là nơi thích hợp cho sự lan truyền [10]. Nghiên cứu tại Nepal, phần lớn NBR dùng nước sông để rửa rau dẫn đến nhiễm KSTĐR, ngoài ra, nhiều báo cáo nêu tình trạng ô nhiễm nguồn nước mặt cũng góp phần nhiễm KSTĐR ở Brazil, Iran, Ba Lan và Tây Ban Nha và mức độ nhiễm trên rau thu thập từ cánh đồng cao hơn đáng kể so với từ nông trại [6],[9]. Do đó, áp dụng quy trình thực hành tốt trồng rau trang trại, thu hái, bảo quản và bán sẽ giảm nhiễm. Nhiễm trên rau hộ gia đình (70%) cao hơn rau nhà trồng (27%), song chưa thể kết luận mối liên quan giữa nhiễm và nguồn gốc rau ($p=0,06$). NBR đều chọn một nhà cung cấp phải an toàn, song tỷ lệ nhiễm trên rau thì NBR cho rằng do trồng, vận chuyển đảm bảo tiêu chí an toàn vệ sinh lại có tỷ lệ nhiễm KSTĐR rất cao (71%), có mối liên quan giữa nguồn cung và nhiễm với OR là 2,2 (CI95%:0,9-5,1). Đồng thời, có sự bất hợp lý giữa trả lời của NBR và nhiễm KSTĐR trên rau: tỷ lệ nhiễm ở rau mà có nguồn cung rõ ràng lại cao (82%) hơn so với nhóm không rõ nguồn gốc (18%), có thể NBR trả lời chưa chính xác hoặc không biết về nguồn cung cấp rau. Dù có liên quan giữa nhiễm và nguồn cung với OR là 2,1 (CI95%:0,9-4,3), nhưng có sai lệch thông tin NBR trả lời.

Tỷ lệ nhiễm trên rau ở NBR biết rõ quy trình trồng (76%) cao hơn nhóm không biết (24%), chưa thấy mối liên quan giữa nhiễm và quy trình trồng; có mối liên quan giữa nhiễm và nguồn nước dùng tại quây với OR là 0,43 (CI95%:0,22-0,83); tỷ lệ nhiễm ở quây dùng nước từ nhà (62%) cao hơn nguồn nước từ chợ (38%) và nước tưới rau ở quây có thể là một nguyên nhân làm tăng nhiễm [4].

5. KẾT LUẬN

- Về kiến thức chung: Có yếu tố liên quan giữa tỷ lệ nhiễm KSTĐR với kiến thức chung của NBR;
- Về thực hành: Có mối liên quan giữa nguồn cấp rau, nước dùng tại quây bán với nhiễm KSTĐR. Nguồn cung trực tiếp làm giảm 49% nguy cơ nhiễm, nguồn

nước lấy từ nhà làm tăng 43% nguy cơ nhiễm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Đỗ Phúc, Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng trên rau sống các chợ Quận 8, TP. Hồ Chí Minh. Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh. 20(5):28-36, 2015.
- [2] Trần Thanh Quang và cs, Thực trạng và yếu tố liên quan nhiễm ký sinh trùng đường ruột ở người bán rau tại các chợ TP. Trà Vinh năm 2019. Y học Dự phòng, 30(3), tr.63-71, 2020.
- [3] Tiêu chuẩn Quốc gia, Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9016:2011 về rau tươi, 2011.
- [4] Berrouch S, Nabila MH, Zeinab AI, Detection methods and prevalence of transmission stages of *T. gondii*, *G. duodenalis* in fresh vegetables: A review. Parasitology. 147(5):516-532, 2020.
- [5] El Bakri, Nabila M, Hussein, Zeinab Abdallah Ibrahim et al., (2020). Intestinal parasite detection in assorted vegetables in the United Arab Emirates. Oman Med J. 35(3):e128.
- [6] Gabre RM, Shakir A, Prevalence of some human enteroparasites in commonly consumed raw vegetables in Tabuk, Saudi Arabia. Journal of food protection. 79(4): 655-658, 2016.
- [7] Karshima, Solomon Ngutor, Parasites of importance for human health on edible fruits and vegetables in Nigeria: A systematic review and meta-analysis of published data. Pathogens and global health. 112(1):47-55, 2018.
- [8] Palle VG, Shiel BA, Soil-transmitted helminth eggs contaminating soils in selected organic and conventional farms in the Philippines. Parasite Epidemiol Control. (7):e00119, 2019.
- [9] Punsawad C, Nonthapan P, Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in Nakhon Si Thammarat province, Southern Thailand. BMC Public Health. 19(1):1-7, 2019.
- [10] Ali T, Ehsan J, Ali H et al., The occurrence of *Cryptosporidium* sp., and eggs of soil-transmitted helminths in market vegetables in the North of Iran. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 12(4):364-69, 2019.



ISOLATION OF MOLDS CONTAMINATION IN SEEDS AT THE MARKETS OF HUE CITY IN 2021

Ngo Thi Minh Chau*, Do Thi Bich Thao, Ton Nu Phuong Anh

Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University - 6 Ngo Quyen, Vinh Ninh, Hue city, Thua Thien Hue, Vietnam

Received 26/12/2022

Revised 31/01/2023; Accepted 20/02/2023

ABSTRACT

Background. Mold infections in the food chain are common, and some molds produce mycotoxins that impact human health. The fungal mycotoxins are mainly produced by three fungal genera, including *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Penicillium*. **Objectives.** 1. To identify the molds that produce mycotoxins in seeds collected from the markets in Hue city. 2. To evaluate the distribution of foodborne mold species following seasons in the year. **Materials and methods.** Types of seeds were collected from five markets in Hue city at different times of the year. The collecting samples were cultivated into the Czapek medium. Fungal identification was based on the morphology characteristics. **Results.** The mold infection prevalence was 34.2%, which is the highest prevalence found in peanuts (60%). Three fungal genera were isolated, including *Aspergillus* (78.2%), *Penicillium* (21.3%), and *Paecilomyces* (0.5%). *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* are two common species in five species of *Aspergillus* isolated. The highest rate of *A. flavus* (37.5%) and *A. niger* (85.9%) infections are found in soybeans and peanuts, respectively. The highest rate of foodborne mold infection was recognized in the rainy season with the common infections of *A. niger* and *A. flavus*. **Conclusion.** *A. niger* and *A. flavus* were two prevailing fungi isolated from the main seeds in Hue city. Food storage measures are the essential issues for controlling mycotoxin.

Keywords: Mold, mycotoxin, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*

*Corresponding author

Email address: ntmchau@huemed-univ.edu.vn

Phone number: (+84) 983 863 426

PHÂN LẬP CÁC LOÀI NẤM MỐC Ở CÁC LOẠI HẠT THỰC PHẨM THU THẬP TẠI MỘT SỐ CHỢ Ở THÀNH PHỐ HUẾ NĂM 2021

Ngô Thị Minh Châu*, Đỗ Thị Bích Thảo, Tôn Nữ Phương Anh

Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế - 6 Đ. Ngô Quyền, Vinh Ninh, thành phố Huế, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

Ngày nhận bài: 26 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 31 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 20 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Nhiễm nấm mốc trên thực phẩm là vấn đề phổ biến và một số nấm mốc có khả năng sinh độc tố (mycotoxins) ảnh hưởng tới sức khỏe con người. Các giống nấm mốc sinh độc tố chính bao gồm *Aspergillus*, *Fusarium* và *Penicillium*. **Mục tiêu:** 1. Định danh các loại nấm mốc sinh độc tố ở các loại thực phẩm thu thập tại một số chợ thuộc thành phố Huế. 2. Khảo sát sự phân bố các loại nấm mốc trên thực phẩm theo mùa trong năm. **Đối tượng, phương pháp nghiên cứu:** Các mẫu hạt thực phẩm được thu thập từ 05 chợ tại thành phố Huế vào các thời điểm khác nhau trong năm. Mẫu thu thập nuôi cấy trên môi trường Czapeck. Định danh vi nấm dựa trên đặc điểm hình thái. **Kết quả:** Tỷ lệ nhiễm nấm mốc chung của các loại hạt thực phẩm là 34,2%, trong đó lạc có tỷ lệ nhiễm mốc cao nhất (60%). Các giống vi nấm phân lập được bao gồm: *Aspergillus* (78,2%), *Penicillium* (21,3%) và *Paecilomyces* (0,5%). Giống *Aspergillus* có 5 loài được phân lập với *A. niger* và *A. flavus* là những loài phổ biến. Đậu tương có tỷ lệ nhiễm *A. flavus* cao nhất (37,5%) và lạc có tỷ lệ nhiễm *A. niger* cao nhất (85,9%). Tỷ lệ mốc thực phẩm xảy ra cao nhất vào mùa mưa với tỷ lệ nhiễm cao của *A. niger*, *A. flavus*. **Kết luận:** *A. niger* và *A. flavus* là 2 loài nấm mốc phân lập phổ biến trên các hạt thực phẩm chính ở địa bàn thành phố Huế. Cần có các biện pháp bảo quản thực phẩm thích hợp để phòng tránh bệnh độc tố nấm mốc.

Từ khóa: Nấm mốc, độc tố vi nấm, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy nhiễm nấm mốc trên thực phẩm là vấn đề phổ biến [1], [2], [3]. Theo báo cáo của tổ chức Tổ chức Nông lương Thế giới (Food and Agriculture Organization: FAO), 25% sản lượng lương thực trên toàn thế giới hư hỏng do nấm mốc mỗi năm [1]. Sự lây nhiễm của các nấm mốc trên

thực phẩm gây hư hại, mất giá trị dinh dưỡng của thực phẩm, tốn kém chi phí để bảo quản nên ảnh hưởng đến nền kinh tế. Bên cạnh đó, một tác hại nguy hiểm và lâu dài khác là một số nấm mốc có khả năng sinh độc tố (mycotoxins) ảnh hưởng tới sức khỏe con người [4]. Các giống nấm mốc sinh độc tố quan trọng bao gồm *Aspergillus*, *Fusarium* và *Penicillium*, ngoài ra có thể do *Trichoderma*, *Trichothecium* và *Alternaria*.

*Tác giả liên hệ

Email: ntmchau@huemed-univ.edu.vn

Điện thoại: (+84) 098 3863426



Trong tổng số 300 độc tố vi nấm được xác định, 6 loại có vai trò quan trọng gồm aflatoxins, trichothecenes, zearalenone, fumonisins, ochratoxins, và patulin. Vai trò của aflatoxin thường được nhấn mạnh nhất vì vi nấm sinh độc tố này phân bố phổ biến và gây nhiễm nhiều loại thực phẩm khác nhau, và đây là độc tố gây ung thư gan [4].

Trong các giống nấm mốc thì *Aspergillus* là giống nấm có ảnh hưởng lớn đến sự hư hỏng lương thực do có sự phân bố phổ biến và điều kiện môi trường rất thuận lợi cho nấm phát triển và sinh độc tố. Các loài sinh độc tố quan trọng như *Aspergillus flavus* (*A. flavus*), *A. ochraceus*, *A. niger* [1]. Bên cạnh đó các giống *Penicillium*, *Fusarium* cũng là các tác nhân gây hư hỏng thực phẩm phổ biến và sinh các loại độc tố như cinitrin, fumonisin, trichothecenes,...[1].

Khí hậu nhiệt đới ẩm như Việt Nam là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển và sản xuất độc tố của nấm mốc. Theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hà Bình và cộng sự, 14,3% mẫu thực phẩm có chứa độc tố nấm mốc [5]. Lê Văn Giang và cộng sự ghi nhận 40,7% mẫu ngô ở Hà Giang có độc tố ochratoxin A [6]. Để định lượng độc tố cần kỹ thuật sắc ký khối phổ, đây là kỹ thuật cần trang thiết bị và hóa chất đắt tiền. Trong khi đó có thể sơ bộ đánh giá khả năng có mặt độc tố trong sản phẩm bằng cách đơn giản là phân lập được các chủng vi nấm sinh độc tố. Phân lập các loài nấm mốc từ thực phẩm theo mùa trong năm có ý nghĩa góp phần đề xuất các biện pháp kiểm soát phù hợp. Xuất phát từ các vấn đề đó, chúng tôi thực hiện đề tài: “Phân lập các loài nấm mốc sinh độc tố ở các loại hạt thực phẩm thu thập tại một số chợ ở thành phố Huế năm 2021” nhằm các mục tiêu sau:

1. Định danh các loại nấm mốc sinh độc tố ở các loại hạt thực phẩm thu thập tại một số chợ thuộc thành phố Huế.
2. Khảo sát sự thay đổi về sự phân bố các loài nấm mốc trên các hạt thực phẩm theo mùa trong năm.

2. ĐỐI TƯỢNG PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu phòng thí nghiệm

- Thu thập mẫu thực phẩm: Có 5 loại hạt được thu thập gồm gạo, ngô, đậu lạc, đậu tương, tiêu từ 5 chợ sau: Bến Ngự, Đông Ba, An Cựu, Tây Lộc, An Hòa. Mẫu được thu thập vào 4 đợt trong năm 2021: tháng 1, tháng 4, tháng 8 và tháng 10. Mỗi loại hạt sẽ lấy 5 mẫu/chợ trong mỗi đợt thu thập mẫu. Vì vậy có 100 mẫu mỗi loại hạt được thu thập nên tổng cộng có 500 mẫu thu thập trong thời gian nghiên cứu.

- Kỹ thuật tiến hành:

+ Mẫu thu thập được cho vào các lọ vô khuẩn để bảo quản chống nhiễm các vi nấm hoại sinh trong không khí nhiễm vào.

+ Dùng pince vô khuẩn chọn mẫu nhiên 3 hạt từ mỗi mẫu thu thập để nuôi cấy, rửa bề mặt hạt bằng nước muối sinh lý vô trùng.

+ Hạt sau khi rửa xong sẽ được nuôi cấy trên đĩa môi trường Czapek theo kỹ thuật cấy 3 điểm.

+ Quan sát mẫu cấy mỗi ngày để ghi nhận vi nấm có mọc hay không, ghi nhận các đặc điểm đại thể khuẩn nấm.

+ Khi vi nấm có đường kính 1 -1,5 cm, tiến hành phân lập, làm tiêu bản vi thể với dung dịch Lacto-phenol cotton blue để quan sát kính hiển vi.

Trong trường hợp nhiễm nhiều loại vi nấm ở một mẫu cấy, tiến hành cấy chuyển để tách rông khuẩn nấm trước khi định danh.

+ Định danh vi nấm dựa trên sự kết hợp quan sát đại thể và vi thể, dựa vào Atlas định danh của Bioforma: đối với *Aspergillus* định danh các loài phổ biến: *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. clavatus* vì môi trường Czapek là môi trường chuyên biệt để định danh giống nấm này, trong khi đó với các giống nấm mốc khác chỉ định danh giống vi nấm.

- Xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê y học: Thống kê tỷ lệ phần trăm tỷ lệ nhiễm mốc, tần xuất phân lập của mỗi loài vi nấm.

3. KẾT QUẢ

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm nấm mốc của mẫu khảo sát

Tình trạng mẫu	Số lượng	Tỷ lệ %
Có nấm mốc	171	34,2
Không có nấm mốc	329	65,8
Tổng	500	100

Nhận xét. Tỷ lệ nhiễm nấm mốc chung của các loại hạt khảo sát tại thành phố Huế là 34,2%.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm nấm mốc theo từng loại hạt theo tháng phân lập

Loại hạt \ Địa điểm	Tháng 1 N (%)	Tháng 4 N (%)	Tháng 8 N (%)	Tháng 10 N (%)	Tổng N (%)
Lạc	13 (52)	11 (44)	11 (44)	25 (100)	60 (60)
Đậu tương	7 (28)	6 (24)	4 (16)	8 (32)	25 (25)
Bắp	13 (52)	7(28)	7 (28)	25 (100)	52 (52)
Gạo	10 (40)	1 (4)	5 (20)	2 (8)	18 (18)
Tiêu	8 (32)	2(8)	0	6 (24)	16 (16)
Tổng	51	27	27	66	171

Nhận xét. Lạc có tỷ lệ nhiễm mốc cao nhất (60%), tiếp theo là bắp (52%), tiêu có tỷ lệ nhiễm thấp nhất (16%). Lạc, đậu tương, bắp có tỷ lệ nhiễm mốc cao nhất vào tháng 10, trong khi gạo và tiêu có tỷ lệ mốc cao nhất vào tháng 1.

Bảng 3. Số loài nấm mốc phân lập được và đặc điểm phát triển của các nấm mốc này trên thực phẩm

Loài nấm mốc	Tần suất phân lập	Tỷ lệ %
<i>A.niger</i>	110	58,5
<i>A.flavus</i>	33	17,6
<i>A.fumigatus</i>	1	0,5
<i>A.clavatus</i>	1	0,5
<i>A.versicolor</i>	2	1,1
<i>Penicillium spp.</i>	40	21,3
<i>Paecilomyces sp.</i>	1	0,5
Tổng	188	100

Nhận xét. Có 3 giống nấm mốc phân lập được gồm *Aspergillus* (78,2%), *Penicillium* (21,3%) và *Paecilomyces* (0,5%). Trong đó giống *Aspergillus* có 5 loài với *A. niger* và *A. flavus* là những loài phổ biến.



Bảng 4. Phân bố loài nấm mốc theo loại thực phẩm

Loài vi nấm (tần suất phân lập)	Loại hạt				
	Lạc N (%)	Đậu tương N (%)	Bắp N (%)	Gạo N (%)	Tiêu N (%)
<i>A.niger</i> (n=110)	55 (85,9)	7 (21,9)	38 (69,1)	1 (4,5)	9 (60)
<i>A.flavus</i> (n=33)	4 (6,3)	12(37,5)	16 (21,1)	1 (4,5)	0
<i>Penicillium</i> (n=40)	4 (6,3)	12 (37,5)	1 (1,8)	17 (77,5)	6 (40)
<i>A.fumigatus</i> (1)	1 (1,5)	0	0	0	0
<i>A. clavatus</i> (1)	0	0	0	1 (4,5)	0
<i>A. versicolor</i> (2)	0	1 (3,1)	0	1 (4,5)	0
<i>Paecilomyces</i> (1)	0	0	0	1 (4,5)	0

Nhận xét. Lạc và bắp có tỷ lệ nhiễm *A. niger* cao nhất, đậu tương có tỷ lệ nhiễm *A.flavus* cao nhất, gạo có tỷ lệ nhiễm *Penicillium* cao nhất, và tiêu nhiễm *A.niger* cao hơn *Penicillium*.

Bảng 5. Tỷ lệ đơn nhiễm và đồng nhiễm các loài vi nấm trên các loại hạt

Loại hạt (số mẫu nhiễm mốc)	Nhiễm 1 loài N (%)	Nhiễm 2 loài N (%)	Nhiễm 3 loài N (%)
Lạc (60)	58 (96,6)	1 (1,7) <i>(A.niger+A.flavus)</i>	1 (1,7) <i>A.niger+A.flavus + Penicillium</i>
Đậu tương (25)	20 (80)	5 (20) <i>A.flavus + Penicillium (3)</i> <i>A.niger+A.flavus(2)</i>	0
Bắp (52)	47 (90,4)	5 (9,6) <i>A.niger + Penicillium (1)</i> <i>A.niger+A.flavus (4)</i>	0
Gạo (18)	18 (100)	0	0
Tiêu (16)	15 (93,8)	1 (6,2) <i>A.niger + Penicillium</i>	0
Tổng (171)	158 (92,4%)	12 (7%)	1 (0,6%)

Nhận xét. Đa số các loại hạt nhiễm 1 loài nấm mốc (92,4%). Đậu tương có tỷ lệ nhiễm 2 loài nấm mốc phối hợp cao nhất trong các hạt khảo sát (20%).

Bảng 6. Phân bố tần suất các loài nấm mốc theo tháng phân lập

Loại hạt \ Tháng	Tháng	Tháng 1 N (%)	Tháng 4 N (%)	Tháng 8 N (%)	Tháng 10 N (%)
<i>A.niger</i> (n=110)		17 (15,5)	16 (14,5)	23 (20,9%)	54 (49,1)
<i>A.flavus</i> (n=33)		4 (12,1)	6 (18,2)	7 (21,2)	16 (48,5)
<i>Penicillium</i> (n=40)		6 (15)	24 (60)	10 (25)	0

Nhận xét. Nấm *Aspergillus* có tỷ lệ phân lập cao vào mùa mưa (tháng 10), trong khi đó *Penicillium* có tỷ lệ cao vào tháng 4.

4. BÀN LUẬN

Vai trò của độc tố nấm mốc được đề cập trước tiên là nguy cơ ảnh hưởng trực tiếp lên sức khỏe con người, đặc biệt là sức khỏe cộng đồng không những ở các nước đang phát triển mà cả những nước phát triển trên thế giới [4]. Bên cạnh đó, độc tố nấm mốc còn là nguyên nhân chính gây thiệt hại kinh tế nông nghiệp với ảnh hưởng đến tất cả các khâu của chuỗi cung ứng thực phẩm. Ảnh hưởng này còn bao gồm sự hư hỏng thức ăn của gia súc, gia cầm và ảnh hưởng đến ngành chăn nuôi. Bên cạnh đó độc tố mốc tích lũy trong động vật có thể ảnh hưởng đến các sản phẩm tiêu thụ ở người như sữa, trứng, thịt [4]. Do các tác hại rất nguy hiểm mà độc tố này gây ra cho người và động vật nên giới hạn cho phép của độc tố trong thực phẩm rất thấp ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Trong các độc tố nấm mốc thì độc tố aflatoxin là quan trọng nhất do các loài *Aspergillus* spp. sinh độc tố này là tác nhân gây mốc thực phẩm phổ biến và độc tố này bền với nhiệt, có khả năng gây ung thư gan.

Nhiễm nấm mốc ở thực phẩm là vấn đề được báo cáo phổ biến ở các quốc gia có khí hậu nhiệt đới ở nhiều châu lục trên thế giới. Nghiên cứu của Wagara I. và cộng sự về ô nhiễm nấm mốc ở ngô và các loại hạt ở Kenya cho thấy *Aspergillus*, *Penicillium* và *Fusarium* có tỷ lệ lần lượt là 91%, 86% và 71%, trong đó 86% thực phẩm nhiễm ít nhất 2 loại nấm mốc [2]. Al-Kahtani DFM. nghiên cứu về nhiễm mốc ở thực phẩm ở Arab Saudi ghi nhận tỷ lệ nhiễm *Alternaria*, *Aspergillus* và *Fusarium* lần lượt là 68%, 24% và 6,9% [3]. Trong khi đó nghiên cứu của Toxalim và cộng sự về tình hình ô nhiễm nấm mốc tại các chợ Lebanon cho thấy *A. flavus* là loại thường gặp nhất, chiếm đến 80% các mẫu bị ô nhiễm mốc và 80% chủng vi nấm sinh độc tố trong đó

aflatoxin là 47% [7]. Nghiên cứu của Gao J. ở Đông Bắc Trung Quốc về nhiễm nấm mốc ở bắp khô, tỷ lệ nhiễm *A. flavus* là 55,8% [8]. Nghiên cứu của Mamo FT và cộng sự với mẫu đậu lạc, ngô và gạo thu thập từ nhiều vùng ở Trung Quốc cho thấy trên 95% mẫu nhiễm *A. flavus* và tỷ lệ vi nấm sinh độc tố là 32% [9]. Tỷ lệ nhiễm mốc trên các loại hạt thực phẩm lưu hành ở các chợ ở thành phố Huế trong nghiên cứu của chúng tôi 34,2% là thấp hơn các nghiên cứu nói trên. Sự khác biệt này liên quan đến điều kiện khí hậu ở mỗi vùng địa lý, quốc gia, điều kiện bảo quản thực phẩm và thời gian lưu hành của các loại hạt thực phẩm.

Kết quả nghiên cứu chúng tôi có 3 giống nấm mốc phân lập được gồm *Aspergillus* (78,2%), *Penicillium* (21,3%) và *Paecilomyces* (0,5%). Trong đó giống *Aspergillus* có 5 loài được phân lập với *A. niger* và *A. flavus* là những loài phổ biến. Một số nghiên cứu về độc tố nấm mốc trên thực phẩm ở Việt Nam cũng cho thấy sự phổ biến của các giống nấm mốc *Aspergillus*, *Penicillium* và độc tố của các vi nấm này trên thực phẩm. Nghiên cứu của Nguyễn Thị Hà Bình và cộng sự về tình trạng nhiễm độc tố vi nấm trong thực phẩm ở miền Bắc (2019) ghi nhận 14,3% mẫu thực phẩm có chứa độc tố nấm mốc, chủ yếu tập trung vào nhóm ngũ cốc chưa qua chế biến [5]. Lê Văn Giang và cộng sự nghiên cứu về độc tố của nấm mốc *Aspergillus ochraceus* và *Penicillium verrucosum* trên mẫu ngô ở Hà Giang ghi nhận 40,7% có chứa độc tố ochratoxin A, trong đó 1,6% vượt mức theo quy định của Bộ Y tế [6]. Khảo sát của nhóm nghiên cứu Đỗ Thị Kim yến và cộng sự trên các mẫu ớt khô tại địa bàn 5 tỉnh phía Nam cho thấy 100% mẫu có sự hiện diện của aflatoxin, trong đó 33% mẫu nhiễm aflatoxin B1 vượt quá giới hạn cho phép [10]. Nghiên cứu tại thành phố Huế của Phạm Thị Ngọc Lan và cộng sự ghi nhận tỷ lệ nhiễm nấm của kẹo và nhóm tôm- cá mực lần lượt là 13,6% và 19% [11].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi, ngoài sự phổ biến của *Aspergillus flavus* và *A. niger* ở các mẫu hạt thực

phẩm, còn ghi nhận có các loài nấm mốc khác với tỷ lệ là *Penicillium*. Giống vi nấm này cùng với *Aspergillus* được cho là sản xuất độc tố patulin. Tác hại gây độc cấp của loại độc tố này đã được ghi nhận ở động vật với ảnh hưởng đến gan, thận, hệ miễn dịch. Ở người thường gặp biểu hiện như nôn, buồn nôn, hội chứng dạ dày ruột, tuy nhiên chưa có bằng chứng độc tố này có tác động gây ung thư [1].

Vậy từ khảo sát bước đầu về tình hình nhiễm nấm mốc trên các loại hạt thực phẩm lưu hành ở các chợ thuộc thành phố Huế cho thấy có mặt loài nấm mốc sinh độc tố aflatoxin trên các loại hạt, đặc biệt là đậu tương, mùa mà *Aspergillus* nhiễm thực phẩm cao nhất là mùa mưa. Bên cạnh đó gạo có tỷ lệ nhiễm *Penicillium* cao, đây là loại vi nấm cũng có khả năng sinh một số loại độc tố ảnh hưởng sức khỏe con người. Điều này cho thấy cần có các biện pháp bảo quản, đóng gói các loại hạt thực phẩm cũng như hạn dùng nhất định để tránh nhiễm mốc ở thực phẩm ảnh hưởng đến sức khỏe người tiêu dùng. Giới hạn của đề tài này là chưa xác định và định lượng loại độc tố, vì vậy cần tiếp tục nghiên cứu về lĩnh vực này để có thể đánh giá chính xác hơn tác động của nấm mốc thực phẩm tới sức khỏe người Việt Nam.

5. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm nấm mốc chung của các loại hạt thực phẩm tại một số chợ ở thành phố Huế năm 2021 là 34,2%, trong đó lạc có tỷ lệ nhiễm mốc cao nhất (60%). Có 3 giống vi nấm phân lập được với tỷ lệ là *Aspergillus* (78,2%), *Penicillium* (21,3%) và *Paecilomyces* (0,5%). Giống *Aspergillus* có 5 loài được phân lập với *A. niger* và *A. flavus* là những loài phổ biến. Tỷ lệ mốc thực phẩm xảy ra cao nhất vào mùa mưa với tỷ lệ nhiễm cao của *A. niger*, *A. flavus*, và đây là 2 hai loài nấm mốc phân lập phổ biến nhất. Từ kết quả nghiên cứu này cho thấy cần có các biện pháp bảo quản và quản lý thực phẩm thích hợp để phòng tránh bệnh độc tố nấm mốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Adeyeye SAO, Fungal mycotoxins in foods: A review. Cogent Food & Agriculture. 2016;2(1):1213127.

[2] Wagara I, Matasyoh J, Nakavuma J, Isolation of Mycotoxigenic Moulds Contaminating Maize and Groundnuts in Selected Districts of Kenya. Research Journal of Microbiology. 2014;9:177-88.

[3] Al-Kahtani DFM, Isolation of Fungi and their Mycotoxin Extract from Stored Wheat and Other Grains Importer in Saudi Arabia. American Journal of Food Technology. 2014;9:370-6.

[4] Abrunhosa L, Morales H, Soares C et al., A Review of Mycotoxins in Food and Feed Products in Portugal and Estimation of Probable Daily Intakes. Critical reviews in food science and nutrition. 2016;56(2):249-65.

[5] Nguyễn Thị Hà Bình, Nguyễn Ngọc Sơn, Nguyễn Thị Lan et al., Tình trạng nhiễm độc tố vi nấm trong thực phẩm tại một số tỉnh, thành phố địa phương miền Bắc Việt Nam năm 2019. Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm. 2020;3(3):183-90.

[6] Lê Văn Giang, Phan Thị Kim, Đánh giá tình trạng ô nhiễm độc tố vi nấm Ochratoxin A trong ngô tại xã Cán Tỷ và xã Lũng Tám, huyện Quán bả, tỉnh Hà Giang. Y học Dự phòng. 2011;778(8):14-5.

[7] Makhlof J, Carvajal-Campos A, Querin A et al., Morphologic, molecular and metabolic characterization of *Aspergillus* section Flavi in spices marketed in Lebanon. Scientific Reports. 2019;9(1):5263.

[8] Gao J, Liu Z, Yu J, Identification of *Aspergillus* section Flavi in maize in northeastern China. Mycopathologia. 2007;164(2):91-5.

[9] Mamo FT, Shang B, Selvaraj JN et al., Isolation and characterization of *Aspergillus flavus* strains in China. Journal of Microbiology. 2018;56(2):119-27.

[10] Đỗ Thị Kim Yến, Nguyễn Thị Cẩm Hồng, Dương Ngọc Diễm và cộng sự, Y học Dự phòng. 2017;11(27):366-73.

[11] Phan Thị Ngọc Lan, Ngô Thị Tuyết Mai, Khảo sát ô nhiễm vi sinh vật trong một số thực phẩm trên địa bàn thành phố Huế năm 2010 - 2011. Tạp chí Khoa học, Đại học Huế. 2012;4(73):137-45.

EVALUATING SUSCEPTIBILITY OF AEDES TO INSECTICIDE USED IN THE DENGUE FEVER CONTROL PROGRAM BY MEASURING ENZYMATIC ACTIVITY METHOD

Huynh Kha Thao Hien^{1,*}, Le Thanh Dong¹, Nguyen Thi Hong Nhung¹, Duong Phuoc An²

¹Institute of Malarialogy-Parasitology-Entomology Ho Chi Minh City - 685 Tran Hung Dao, 1 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

²University of Medicine and Pharmacy at HCMC - 217 Hong Bang, 11 ward, 5 district, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 04/01/2023

Revised 06/02/2023; Accepted 01/03/2023

ABSTRACT

Background: Dengue is emerging as a serious public health. The *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* is the primary vector for dengue. Climate changes and the using of insecticide in agriculture make increasing insecticide resistance in *Aedes* populations .

Objectives: This study was conducted to evaluate the sensitivity of Dengue hemorrhagic fever vectors based on enzyme quantification techniques related to insecticide resistance in Tay Ninh, Dong Nai and Ben Tre provinces. **Methods:** The larvae, collected in research sites, were transferred to the insectarium and fed into adult mosquitoes (called F1 generation). Susceptibility test was conducted on adult mosquitoes (F1 generation) using paper impregnated with 0.05% Deltamethrine or Permethrin 0.75%, Malathion 5% and Propoxur. The mosquitoes, alived after susceptibility tests, were used to quantify activity of Esterase, Monooxygenase va GST. (WHO / CDS / CPC / MAL / 98.6).

Results: The results showed that 03 mosquito populations at the study sites were all resistant or gain resistace to Pyrethroid group (Deltamethrin and Permethrin). Both of Tay Ninh and Ben Tre mosquito populations resistant to pyrethroid chemicals. But most of them are susceptible to Malathion and Propoxur. Compared to the susceptibility species, all of the mosquito populations increase the enzyme activity against insecticides.

Keywords: *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, insecticide resistance.

*Corresponding author

Email address: thaohienhuynh@gmail.com

Phone number: (+84) 909 317 936



ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ NHẠY CẢM CỦA MUỖI AEDES VỚI HÓA CHẤT SỬ DỤNG TRONG CHƯƠNG TRÌNH PHÒNG CHỐNG SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE BẰNG KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG ENZYM

Huỳnh Kha Thảo Hiền^{1,*}, Lê Thành Đồng¹, Nguyễn Thị Hồng Nhung¹, Dương Phước An²

¹*Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng TP. HCM - 685 Đ. Trần Hưng Đạo, phường 1, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

²*Đại học Y dược TP.HCM - 217 Đ. Hồng Bàng, phường 11, quận 5, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam*

Ngày nhận bài: 04 tháng 01 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 06 tháng 02 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 01 tháng 03 năm 2023

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh sốt xuất huyết đang nổi lên như một vấn đề y tế công cộng nghiêm trọng. Muỗi *Aedes aegypti* và *Aedes albopictus* là vector chính truyền bệnh sốt xuất huyết. Thay đổi của khí hậu và môi trường đang làm tăng số lượng và sự lan truyền của muỗi *Aedes* trên toàn thế giới. Sự thay đổi của môi trường sống, việc sử dụng các hóa chất diệt côn trùng gia dụng và tình trạng kháng hóa chất trong quần thể muỗi.

Mục tiêu: Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá độ nhạy cảm của véc tơ sốt xuất huyết Dengue dựa trên kỹ thuật định lượng enzyme liên quan đến tính kháng hóa chất diệt côn trùng tại 3 tỉnh Tây Ninh, Đồng Nai và Bến Tre. **Phương pháp nghiên cứu:** Bọ gậy thu thập được vận chuyển về phòng nuôi côn trùng và nhân nuôi thành muỗi *Aedes* trưởng thành. Sau đó, thu được thế hệ F1 để thử nghiệm đánh giá độ nhạy cảm của muỗi với hóa chất diệt côn trùng bằng phương pháp thử sinh học thực hiện theo qui trình của Tổ chức Y tế thế giới (WHO/CDS/CPC/MAL/98.12). Muỗi sống sót sau thử nghiệm đánh giá độ nhạy cảm được sử dụng để định lượng hoạt tính enzym Esterase, Monooxygenase và GST. (WHO / CDS / CPC / MAL / 98.6).

Kết quả: Kết quả cho thấy 03 quần thể muỗi ở các điểm nghiên cứu đều kháng hoặc tăng sức chịu đựng với hóa chất nhóm Pyrethroid (Permethrin và Deltamethrin). Trong đó, 02 quần thể muỗi ở Tây Ninh và Bến Tre đều kháng với hóa chất nhóm Pyrethroid. Tuy nhiên, cả 03 quần thể muỗi vẫn còn nhạy cảm với Malathion và Propoxur. Các cá thể sống trong quần thể muỗi nghiên cứu đều có sự gia tăng hoạt tính enzym so với cá thể chết.

Từ khóa: *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, tính nhạy kháng.

*Tác giả liên hệ

Email: thaohienhuynh@gmail.com

Điện thoại: (+84) 909 317 936

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sốt xuất huyết là một vấn đề y tế công cộng mang tính toàn cầu và được Tổ chức Y tế thế giới đánh giá là một trong những bệnh do véc tơ truyền quan trọng nhất. Ước tính mỗi năm có khoảng 390 triệu trường hợp mắc bệnh sốt xuất huyết dengue và số người mắc đã tăng 30 lần trong 50 năm qua. Tổ chức Y tế thế giới đã xác định có 14 dịch bệnh chính liên quan đến sự biến đổi khí hậu: bệnh sốt xuất huyết, sốt rét, viêm não mô cầu [1,2,3].

Các nghiên cứu cho thấy sự thích nghi và kháng hóa chất của muỗi *Aedes* là kết quả của việc sử dụng lặp lại một hoá chất. Về lâu dài có thể dẫn tới việc muỗi *Aedes* tăng sức chịu đựng và kháng lại hóa chất đó, lâu dần trong một quần thể nhất định số cá thể kháng sẽ trội hơn số cá thể nhạy. Muỗi cũng có thể thay đổi tập tính trú đậu như: né tránh liều chết của hoá chất, giảm xu hướng bay vào vùng hoá chất, tránh xa khỏi bề mặt có hoá chất [4,5,6]. Tất cả những vấn đề trên đã gây trở ngại cho chương trình phòng chống vector sốt xuất huyết.

Hiện tại chưa có vaccine hay thuốc điều trị đặc hiệu cho bệnh SXH. Hoạt động kiểm soát véc tơ truyền bệnh sốt xuất huyết Dengue nhằm mục đích giảm mật độ muỗi trong môi trường. Biện pháp phòng chống véc tơ sốt xuất huyết Dengue chủ yếu là loại bỏ các nơi sinh sản của muỗi và sử dụng hóa chất để diệt muỗi. Sử dụng lặp lại một hoá chất về lâu dài tuy vẫn loại bỏ các cá thể nhạy nhưng tỷ lệ các cá thể kháng sẽ tăng và cuối cùng số cá thể kháng sẽ trội lên trong quần thể. Theo thông báo của Tổ chức Y tế thế giới (WHO), trong số 200 loài động vật chân đốt có tầm quan trọng về y học kháng với hóa chất thì có tới 50% là muỗi truyền bệnh sốt rét, sốt xuất huyết và giun chỉ [2,3]. Vì vậy, việc tiến hành nghiên cứu đánh giá độ nhạy cảm dựa trên kỹ thuật định lượng enzyme liên quan đến tính kháng hóa chất diệt côn trùng véc tơ sốt xuất huyết Dengue là cần thiết nhằm đề xuất các lựa chọn hóa chất thích hợp, tránh lãng phí và gây ô nhiễm môi trường. Nhằm đánh giá mức độ nhạy cảm của muỗi *Aedes* với hóa chất sử dụng trong chương trình phòng chống sốt xuất huyết Dengue bằng kỹ thuật định lượng enzyme với các mục tiêu cụ thể sau: Đánh giá nhạy cảm của muỗi *Aedes* tại các điểm nghiên cứu bằng phương pháp thử nghiệm hóa chất của Tổ chức Y tế thế giới. Định lượng hoạt

tính các enzym Esterase và Glutathione S-transferase và Monooxygenase bằng kỹ thuật định lượng enzym.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu:

Bọ gậy *Ae.aegypti* và *Ae. Albopictus* được thu thập tại 3 tỉnh Tây Ninh, Đồng Nai và Bến Tre.

Bốn hoá chất đánh giá mức độ nhạy cảm là: Propoxur 0.1%, Malathion 5%, Permethrin 0,75%, Deltamethrin 0,05%

Thời gian: Nghiên cứu được thực hiện năm 2022

Phương pháp nghiên cứu:

Xác định mức độ kháng hóa chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes* bằng Phương pháp thử nghiệm nhạy kháng ở muỗi của Tổ chức Y tế Thế giới [7].

Định lượng hoạt tính enzym loại Esterase và Glutathione S-transferase và Monooxygenase (WHO/CDS/CPC/MAL/98.6) [8].

Phân tích và xử lý số liệu:

- Sử dụng phần mềm Excel và số liệu được biểu diễn dưới dạng Mean \pm SD. Số liệu được phân tích bằng phân tích ANOVA kèm theo phép kiểm Fisher. Ý nghĩa thống kê được xác định khi $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả thử nghiệm đánh giá độ nhạy cảm của muỗi với hóa chất.

Kết quả nghiên cứu cho thấy 03 quần thể muỗi đều kháng hoặc tăng sức chịu đựng với hóa chất nhóm Pyrethroid là Permethrin (tỷ lệ chết từ 44% đến 96%) và Deltamethrin (tỷ lệ chết từ 46% đến 92%). Trong đó, 02 quần thể muỗi ở Tây Ninh và Bến Tre đều kháng với hóa chất nhóm Pyrethroid. Tuy nhiên, cả 03 quần thể muỗi vẫn còn nhạy cảm với Malathion và Propoxur (tỷ lệ chết từ 98-100%). Đối với lô đối chứng, tỷ lệ muỗi *Aedes* chết sau 24 giờ đều bằng 0, cho thấy các cá thể muỗi dùng thử nghiệm khỏe mạnh, đủ tiêu chuẩn để thực hiện các thử nghiệm đánh giá độ nhạy cảm với hóa chất. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lê Thành Đồng (2013) và Vũ Sinh Nam (2010).



Bảng 1. Mức độ nhạy cảm của muỗi với hóa chất

Loài muỗi	Địa điểm thu thập	Per	Del	Mal	Pro
		Tỷ lệ muỗi chết sau 24 giờ sau tx với giấy thử (%)			
<i>Aedes aegypti</i>	ĐN			S	
<i>Aedes aegypti</i>		R	R	S	S
<i>Aedes aegypti</i>		R	R	S	S
<i>Aedes aegypti</i>	TN	R			
<i>Aedes aegypti</i>		T	T	S	S
<i>Aedes aegypti</i>					
<i>Aedes aegypti</i>	BT	R	R	S	S
<i>Aedes albopictus</i>		R	R	S	S

R - Resistance: Kháng; T - Tolerance: Tăng sức chịu đựng; S – Sensitive

Tại Việt Nam, hóa chất thuộc nhóm pyrethroid đặc biệt là Deltamethrin và Permethrin đã được sử dụng rộng rãi trong ba thập kỷ qua để phòng chống muỗi và một số côn trùng khác, đặc biệt trong phòng chống véc tơ sốt rét và sốt xuất huyết. Các kết quả nghiên cứu của cho thấy hiện tượng muỗi kháng hóa chất nhóm pyrethroids đã lan rộng. Theo nghiên cứu của Vũ Đức Hương và cộng sự, quần thể muỗi *Aedes aegypti* ở Việt Nam đã kháng với hóa chất nhóm pyrethroids và vẫn nhạy cảm với hóa chất thuộc nhóm phospho hữu cơ (Nguyen TBN, 2004). Côn trùng kháng với hóa chất thuộc nhóm Pyrethroids sẽ gây ra trở ngại lớn trong chương trình

phòng chống véc tơ. Hiện tại, chưa tìm thấy nhóm hóa chất thích hợp để có thể thay thế cho hóa chất nhóm pyrethroids. Các kết quả nghiên cứu đều chỉ ra rằng *Aedes aegypti* ở Việt Nam nhạy cảm với hóa chất thuộc nhóm phospho hữu cơ (Nguyen TBN, 2004), (Khoa Phạm Thi, 2016). Do đó, việc sử dụng nhóm phospho hữu cơ (OP) thay thế nhóm pyrethroids trong phòng chống véc tơ khi có dịch xảy ra có thể mang đến hiệu quả tạm thời.

3.2. Kết quả định lượng hoạt tính các enzym Esterase và Glutathione S-transferase và Monooxygenase bằng kỹ thuật định lượng enzym

3.2.1. Kết quả định lượng hoạt tính enzym Monooxygenase

Bảng 2: Kết quả định lượng hoạt tính Monooxygenase trên muỗi Aedes sau 24 giờ

STT	ĐN		TN		BT				Chủng nhạy
	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>		
	S	C	S	C	S	C	S	C	S
1	183,921	29,522	84,351	41,301	57,762	51,724	54,296	64,649	26,309
2	147,429	43,846	138,185	42,459	54,250	42,016	70,047	50,228	31,998
3	91,580	39,339	53,487	27,664	51,860	31,998	62,441	52,487	27,664
4	93,571	36,797	85,239	34,235	62,111	42,447	65,654	38,028	29,443
5	153,872	47,341	98,125	38,735	55,674	39,784	67,325	43,562	28,884
6	132,324	35,876	89,349	41,437	58,325	38,654	68,875	56,238	28,364

STT	ĐN		TN		BT				Chủng nhảy
	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>		
	S	C	S	C	S	C	S	C	S
Trung bình	133,783	38,787	91,456	37,638	56,664	41,104	64,773	50,865	28,777
SD	36,07	6,28	27,43	5,72	3,56	6,42	5,78	9,38	1,91
Giá trị P	p = 0.000082		p= 0.00083		p = 0.0004		p = 0.011		
P so sánh với chủng nhảy	p= 0.000032		p= 0.00023		p < 10 ⁻⁷		p= 4.91.10 ⁻⁸		

S: sồng; C: chết; ĐN: Đồng Nai; TN: Tây Ninh; BT: Bến Tre

Kết quả định lượng enzym tại 3 điểm nghiên cứu cho thấy hoạt tính enzym Monooxygenase tăng so với chủng nhảy trong phòng thí nghiệm. Mức độ gia tăng hoạt tính enzym so với chủng nhảy tại các điểm nghiên

cứ tương ứng như sau: ĐN - 3,6 lần, TN - 2,17 lần và BT - 0,96 và 1,25 lần. Như vậy, so với chủng nhảy cảm, hoạt tính enzym Monooxygenase của quần thể muỗi tại các điểm nghiên cứu gia tăng có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

3.2.2. Kết quả định lượng hoạt tính enzym Esterase

Bảng 3: Kết quả định lượng hoạt tính Esterase trên muỗi Aedes sau 24 giờ

TT	ĐN		TN		BT				Chủng nhảy
	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>		
	S	C	S	C	S	C	S	C	S
1	458,155	250,913	564,671	252,261	538,208	468,159	1022,934	879,904	345,174
2	1079,653	353,919	1100,927	302,193	631,105	337,904	714,024	583,108	250,913
3	975,186	455,030	941,429	422,648	307,253	246,781	1100,809	577,629	307,253
4	2182,457	537,254	983,736	376,478	639,375	422,232	1064,564	564,129	297,329
5	2216,963	459,353	989,635	356,742	536,142	365,643	986,798	652,721	275,355
6	1435,247	367,736	785,479	298,645	475,546	236,750	762,897	597,352	310,945
TB	1391,277	404,034	894,313	334,828	521,271	346,245	942,004	642,474	297,828
SD	700,09	100,68	191,05	61,84	122,00	92,70	163,00	120,32	32,28
P	p = 0.00655		p= 0.000045		p = 0.018		p = 0.0046		
P ss với CN	p= 0.003364		p= 0.000019		p= 0.0014		p= 0.0000025		

S: sồng; C: chết; ĐN: Đồng Nai; TN: Tây Ninh; BT: Bến Tre

Kết quả định lượng enzym tại 3 điểm nghiên cứu cho thấy hoạt tính enzym Esterase tăng so với chủng nhảy trong phòng thí nghiệm. Mức độ gia tăng hoạt tính enzym so với chủng nhảy tại các điểm nghiên cứu

tương ứng như sau: ĐN - 3,67 lần, TN - 2,02 lần và BT - 0,75 và 2,16 lần. Nhìn chung, so với chủng nhảy cảm, hoạt tính enzym Esterase của quần thể muỗi tại các điểm nghiên cứu gia tăng có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

3.2.3. Kết quả định lượng hoạt tính enzym Glutathione-S-transferase

Bảng 4: Kết quả định lượng hoạt tính Glutathione-S-transferase trên muỗi Aedes sau 24 giờ

TT	ĐN		TN		BT				Chủng nhạy
	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>		
	S	C	S	C	S	C	S	C	S
1	331,428	40,172	343,682	132,531	215,717	179,278	309,031	95,126	80,979
2	359,079	90,532	329,360	135,670	98,903	38,797	124,454	92,238	56,643
3	340,453	95,354	345,453	127,497	65,802	48,809	256,432	38,547	45,639
4	323,981	60,598	329,463	122,984	105,615	104,288	275,321	89,664	54,732
5	358,458	78,834	335,342	139,543	128,470	48,776	298,643	84,625	65,783
6	290,564	74,361	320,324	125,687	118,532	77,693	198,678	75,394	72,375
TB	333,994	73,309	333,937	130,652	122,173	82,940	243,760	79,266	62,692
SD	25,54	20,37	9,55	6,34	50,59	53,00	70,28	21,12	12,87
P	p= 2.68x 10 ⁻⁹		p = 10 ⁻¹²		p = 0.2189		p = 0.000265		
P ss với CN	p = 4.93x 10 ⁻¹⁰		p < 10 ⁻¹²		p= 0.019		p= 0.0001		

S: sống; C: chết; ĐN: Đồng Nai; TN: Tây Ninh; BT: Bến Tre

Kết quả định lượng enzyme tại 3 điểm nghiên cứu cho thấy hoạt tính enzyme Glutathione-S-transferase có tăng so với chủng nhạy trong phòng thí nghiệm. Mức độ gia tăng hoạt tính enzyme so với chủng nhạy tại các điểm nghiên cứu tương ứng như sau: ĐN - 4,327 lần, TN - 4,326 lần và BT - 0,948 và 2,888 lần. Như vậy, so với chủng nhạy cảm, hoạt tính enzyme Glutathione-S-transferase của quần thể muỗi tại các điểm nghiên cứu gia tăng có ý nghĩa thống kê (P<0,05).

Theo nguyên tắc đánh giá mức độ nhạy cảm của muỗi bằng phương pháp giấy thử của WHO, các cá thể muỗi sống sau 24 giờ thử nghiệm là những cá thể có khả năng kháng với hoá chất, các cá thể muỗi chết là còn nhạy cảm với hoá chất. Để có cơ sở so sánh, đối chiếu, nghiên cứu đã tiến hành định lượng song song các hoạt tính enzyme của các cá thể muỗi chết sau 24 giờ thử nghiệm. Kết quả cho thấy ở các cá thể muỗi sống sót sau 24 giờ đều có sự gia tăng hoạt tính enzyme. Cụ thể, tại các điểm nghiên cứu: hoạt tính enzyme Monooxygenase ở các cá thể sống cao hơn so với cá thể muỗi chết (P < 0,05). Tương tự, cũng có sự gia tăng hoạt tính enzyme Esterase ở các cá thể sống so với cá thể muỗi chết. Tuy nhiên, quần thể muỗi *Aedes aegypti* ở BT có giá trị P = 0.018, cao hơn so với các điểm nghiên cứu còn lại

(P < 0,01), như vậy sự khác biệt giữa 2 nhóm sống và chết tại quần thể *Aedes aegypti* BT không lớn. Tương tự, hoạt tính enzyme Glutathione-S-transferase cũng thể hiện sự gia tăng đáng kể ở các cá thể sống so với cá thể chết (P < 0,05), tuy nhiên, sự gia tăng hoạt tính giữa cá thể muỗi chết và sống của quần thể muỗi *Aedes aegypti* ở BT không có ý nghĩa thống kê (P = 0.2189 > 0,05). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Rapeeporn Yaicharoen (2005).

4. KẾT LUẬN

Mức độ nhạy cảm của muỗi Aedes với giấy thử hóa chất của WHO:

Cả 03 quần thể muỗi nghiên cứu đều kháng hoặc tăng sức chịu đựng với hóa chất nhóm Pyrethroid (Permethrin và Deltamethrin). Trong 03 quần thể có 02 quần thể muỗi ở Tây Ninh và Bến Tre đều kháng với hóa chất nhóm Pyrethroid. Cả 03 quần thể muỗi vẫn còn nhạy cảm với Malathion và Propoxur.

Định lượng hoạt tính enzyme Esterase và Glutathione S-transferase và Monooxygenase bằng kỹ thuật định lượng enzyme (WHO/CDS/CPC/MAL/98.6):

Có sự gia tăng hoạt tính enzyme giữa các cá thể muỗi sống sót sau 24 giờ so với chủng nhạy trong phòng thí

nghiệm. Hoạt tính enzym Monooxygenase, Esterase và Glutathione-S-transferase đều tăng so với chứng. Các cá thể sống trong quần thể muỗi nghiên cứu đều có sự gia tăng hoạt tính enzym so với cá thể chết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Jan A, Rozendaal, Phòng chống vật truyền bệnh, Nhà xuất bản Y học, Tr 35.
- [2] WHO, A global strategy for malaria control, Geneva, 1993.
- [3] WHO, A global strategy for malaria control, Geneva, 1993.
- [4] Nguyễn Tuấn Ruyện, Lê Xuân Hùng, Bước đầu áp dụng kỹ thuật sinh hoá để đánh giá mức độ nhạy cảm của muỗi An, minimus với hoá chất diệt côn trùng, Đề tài nghiên cứu khoa học cấp cơ sở, Viện SR-KST-CT TW, 2003.
- [5] Hemingway J, Karunaratne SHPP, Mosquito carboxyl esterase: a review of molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism, Medical and Veterinary Entomology, 12,1-12, 1998.
- [6] Chusak P, Andjapazidze AG, Vijay K, “Current status of Dengue/dengue haemorrhagic fever In WHO South East Pacific Region”, Dengue bulletin, WHO (22), 1998.
- [7] Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes (2018), Second edition,WHO.
- [8] Techniques to detect insecticide resistance mechanisms field and laboratory manual (1998), WHO/CDS/MAL/98,6.
- [9] Nguyen TBN, Nguyen TBL, Vu DH, Susceptibility of Aedes aegypti to insecticide in Viet Nam, Dengue Bulletin, vol, 28: 179-183, 2004.
- [10] Janet Hemingway and Hilary Ranson (2000), Insecticide Resistance in insect vectors of Human Disease, Annual reviews Entomology, vol, 45, pp, 371-391.
- [11] Lê Thành Đồng, Lê Tấn Kiệt, Đánh giá nhạy, kháng của muỗi Aedes aegypti tại một số tỉnh khu vực Nam bộ - Lâm đồng, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, Số 2, Tr 68-75, 2013.
- [12] Low VL, Chen CD, Lee HL et al., Enzymatic characterization of insecticide resistance mechanisms in field populations of Malaysian Culex quinquefasciatus Say (Diptera: Culicidae), PLoS ONE, 2013.
- [13] Joko P, Ahmad G, Anja T et al., Aedes aegypti resistance development to commonly used insecticides in Jakarta, Indonesia, PLOS ONE, pp, 11, 2017.
- [14] Vũ Sinh Nam, Đánh giá độ nhạy cảm với hóa chất diệt côn trùng của muỗi Ae,aegypti truyền bệnh sốt Dengue/sốt xuất huyết Dengue ở một số tỉnh Miền Nam Việt Nam, 2007-2009, Tạp chí Y học Thực hành, 715 (5/2010), 84-90, 2010.
- [15] Hồ Viết Hiếu, Nguyễn Thị Duyên, Mức độ kháng hóa chất diệt côn trùng nhóm pyrethroides của nhóm loài muỗi Anopheles maculatus, Công bố Quốc gia / Năm công bố 2015.
- [16] Sajad K, Mechanism of Insecticide Resistance in Insects/Pests, Pol. J. Environ. Stud. Vol. 29, No. 3 (2020), 2023-2030, 2019.



ANOPHELES SPECIES COMPOSITION AND SUSCEPTIBILITY OF MALARIA VECTORS TO INSECTICIDES IN SOME COMMUNES WITH MALARIA IN MUONG TE DISTRICT, LAI CHAU PROVINCE

Nguyen Van Dung*, Nguyen Quang Thieu, Vu Duc Chinh, Dao Minh Trang, Thai Khac Nam, Vu Viet Hung, Bui Le Duy

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

Received 22/12/2022

Revised 14/01/2023; Accepted 17/02/2023

ABSTRACT

Objectives: Study on composition of Anopheles mosquitoes and susceptibility of malaria vectors to some insecticides in Muong Te district, Lai Chau province.

Methods: Anopheles mosquitoes collected at the study site were conducted in October 2021 at Pa U, Pa Ve Su, Ta Ba, Bum To, Vang San, Thu Lum communes of Muong Te District, Lai Chau Province. Some species tested sensitive to alphacypermethrin, lambdacyhalothrin, permethrin, deltamethrin according to WHO method

Results: The results showed that, 10 Anopheles species were collected. *An. minimus* accounted for 0.9% and 0.6% were only collected in Pa U and Pa Ve Su communes. *An. maculatus* caught in all survey sites. Mosquito *An. maculatus* was susceptible to alphacypermethrin, lambdacyhalothrin, deltamethrin in Pa U, Ta Ba, Pa Ve Su commune.

Conclusions: There are 10 species of Anopheles in Muong Te district. *An. maculatus* sensitive to insecticides at the study sites.

Keywords: Anopheles, composition, density, susceptibility.

*Corresponding author

Email address: nguyenvandung@outlook.com

Phone number: (+84) 986 898 528

THÀNH PHẦN LOÀI, ĐỘ NHẠY CẢM CỦA MUỖI ANOPHELES VỚI HÓA CHẤT DIỆT CÔN TRÙNG TẠI MỘT SỐ XÃ LƯU HÀNH SỐT RÉT THUỘC HUYỆN MƯỜNG TÈ, TỈNH LAI CHÂU, NĂM 2021

Nguyễn Văn Dũng*, Nguyễn Quang Thiều, Vũ Đức Chính, Đào Minh Trang, Thái Khắc Nam, Vũ Việt Hưng, Bùi Lê Duy

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

Ngày nhận bài: 22 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 14 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 17 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu thành phần loài muỗi Anopheles và mức độ nhạy cảm của véc tơ sốt rét với một số hóa chất diệt côn trùng tại huyện Mường Tè, tỉnh Lai Châu.

Phương pháp: Muỗi Anopheles thu thập tại điểm nghiên cứu được tiến hành tháng 10 năm 2021 tại Xã Pa Ủ, Pa Vệ Sủ, Tá Bạ, Bum Tở, Vàng San, Thu Lũm của huyện Mường Tè, tỉnh Lai Châu. Thử nhạy cảm với alphacypermethrin, lambdacyhalothrin, permethrin, deltamethrin của *An. maculatus* theo phương pháp của WHO.

Kết quả: Đã thu thập được 10 loài Anopheles. Véc tơ chính *An. minimus* chỉ được thu thập tại xã Pa Ủ và xã Pa Vệ Sủ. Véc tơ phụ *An. maculatus* được thu thập ở tất cả các điểm nghiên cứu. Muỗi *An. maculatus* còn nhạy cảm với alphacypermethrin, lambdacyhalothrin, deltamethrin tại xã Pa Ủ, xã Tá Bạ và xã Pa Vệ Sủ.

Kết luận: Huyện Mường Tè thu thập được 10 loài Anopheles. Muỗi *An. maculatus* còn nhạy cảm với hóa chất diệt côn trùng thử nghiệm tại các điểm nghiên cứu.

Từ khóa: Anopheles, thành phần loài, mật độ, độ nhạy cảm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo báo cáo đánh giá công tác phòng chống sốt rét năm 2021 ở Việt Nam cho thấy, năm 2021 tình hình sốt rét đã giảm mạnh so với cùng kỳ năm 2020 với số lượng ca bệnh có ký sinh trùng sốt rét giảm trên 67%, cả *P. falciparum* và *P. vivax*. Tuy nhiên, một số vùng

sốt rét vẫn còn tồn tại dai dẳng, ngay cả khi có sự bao phủ rộng khắp của màn tồn lưu lâu và phun hóa chất tồn lưu trong nhà trong cộng đồng có nguy cơ. Tuy vậy, huyện Mường Tè, tỉnh Lai Châu có số lượng ca bệnh sốt rét tăng 74,14% (101/58) so với cùng kỳ 2020, chủ yếu tại các xã Pa Ủ (35 ca), Pa Vệ Sủ (32), Tá Bạ (22) [1].

*Tác giả liên hệ

Email: nguyenvandung@outlook.com

Điện thoại: (+84) 986 898 528



Có nhiều nguyên nhân tự nhiên và xã hội đã làm cho sốt rét dai dẳng như điều kiện thời tiết, khí hậu thuận lợi cho véc tơ phát triển, tập quán canh tác, đi rừng, ngủ rẫy... làm cho khả năng dễ tiếp cận của muỗi với người.

Để có thể tiến hành loại trừ sốt rét tại khu vực như vậy cần phải xác định được sự phân bố, mật độ của véc tơ sốt rét, cũng như mức độ nhạy cảm của chúng với hóa chất diệt côn trùng, từ đó đưa ra các biện pháp can thiệp phù hợp và hiệu quả.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Các loài muỗi Anopheles thu tại điểm nghiên cứu.
- Hóa chất diệt côn trùng: alphacypermethrin, lambdacyhalothrin, deltamethrin.

2.2. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tháng 10/2021.

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Xã Pa Ủ, Pa Vệ Sủ, Tá Bạ, Bum Tở, Vàng San, Thu Lũm của huyện Mường Tè, tỉnh Lai Châu, là các xã có tình hình sốt rét phức tạp.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

- **Cỡ mẫu:** Toàn bộ các loài muỗi Anopheles thu thập được tại điểm điều tra.

- Điều tra muỗi Anopheles

Thu thập muỗi gồm 5 phương pháp cho mỗi điểm điều tra: mỗi người trong nhà đêm; mỗi người ngoài nhà đêm; soi chuồng gia súc ban đêm; bẫy đèn trong nhà đêm; soi trong nhà ngày.

Định loại muỗi dựa vào đặc điểm hình thái theo Bảng định loại muỗi Anopheles ở Việt Nam của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương, năm 2008.

- Thử nhạy cảm

Muỗi thử nhạy cảm là muỗi thu thập từ các phương pháp mỗi người trong nhà, ngoài nhà và soi chuồng gia súc ban đêm. Trước khi thử nghiệm phải lựa chọn những con muỗi khỏe, đủ chân cánh. Quy trình thử nghiệm được tiến hành theo hướng dẫn của WHO (2013) [2].

- Phân tích và xử lý số liệu

Số liệu sau khi thu thập được nhập và phân tích bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Thành phần loài và phân bố muỗi Anopheles tại huyện Mường Tè

Điều tra cắt ngang vào tháng 10/2021 tại 6 xã có tỷ lệ người dân mắc sốt rét cao tại huyện Mường Tè, kết quả thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần loài và phân bố muỗi Anopheles tại huyện Mường Tè

TT	Tên loài muỗi	Pa Ủ		Pa Vệ Sủ		Tá Bạ		Thu Lũm		Vàng San		Bum Tở		Tổng	
		SL (con)	TL (%)	SL (con)	TL (%)	SL (con)	TL (%)	SL (con)	TL (%)	SL (con)	TL (%)	SL (con)	TL (%)	SL (con)	TL (%)
1	<i>An. annularis</i>	128	8,1											128	3,1
2	<i>An. kochi</i>	2	0,1	14	1,2			53	26,0			24	5,5	93	2,3
3	<i>An. maculatus</i>	1366	86,8	942	78,8	292	91,0	16	7,8	263	72,3	69	15,8	2948	72,0
4	<i>An. minimus</i>	14	0,9	7	0,6									21	0,5
5	<i>An. peditaeniatus</i>			11	0,9									11	0,3
6	<i>An. philippinensis</i>	18	1,1	33	2,8					36	9,9	23	5,3	110	2,7
7	<i>An. sinensis</i>	27	1,7	115	9,6	23	7,2	91	44,6	20	5,5	259	59,1	535	13,1
8	<i>An. splendidus</i>			4	0,3					9	2,5			13	0,3
9	<i>An. tessellatus</i>			13	1,1					2	0,5			15	0,4
10	<i>An. vagus</i>	19	1,2	56	4,7	6	1,9	44	21,6	34	9,3	63	14,4	222	5,4
	Tổng	1574	100	1195	100	321	100	204	100	364	100	438	100	4096	100

Ghi chú: SL: số lượng; TL: tỷ lệ

Có 10 loài Anopheles thu được ở 6 xã của huyện Mường Tè, chiếm tỷ lệ 15,6% (10/64 loài) so với cả nước. Trong đó véc tơ chính *An. minimus* chỉ thu được tại xã Pa Ủ và Pa Vệ Sủ. Theo báo cáo tổng kết năm 2021, đây là 2 xã có số lượng ký sinh trùng cao nhất huyện Mường Tè [1]. Véc tơ phụ *An. maculatus*,

An. sinensis và *An. vagus* bắt được ở tất cả các điểm điều tra.

3.2. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Pa Ủ

Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Pa Ủ được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Thành phần loài, mật độ Anopheles tại xã Pa Ủ, năm 2021

T T	Tên loài muỗi	MNTNĐ		MNNNĐ		SCGSD		BĐTNĐ		STNN	
		SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/g/n)	SL (con)	MĐ (c/đ/đ)	SL (con)	MĐ (c/n)
1	<i>An. annularis</i>	0	0	0	0	128	3,5	0	0	0	0
2	<i>An. kochi</i>	0	0	0	0	2	0,05	0	0	0	0
3	<i>An. maculatus</i>	3	0,25	4	0,33	1354	37,6	5	0,83	0	0
4	<i>An. minimus</i>	0	0	0	0	14	0,38	0	0	0	0
5	<i>An. philippinensis</i>	0	0	0	0	18	0,5	0	0	0	0
6	<i>An. sinensis</i>	0	0	3	0,25	24	0,66	0	0	0	0
7	<i>An. vagus</i>	0	0	2	0,16	17	0,47	0	0	0	0

Ghi chú: MĐ: mật độ; MNTNĐ: mỗi người trong nhà đêm; MNNNĐ: mỗi người ngoài nhà đêm; SCGSD: soi chuồng gia súc ban đêm; BĐTNĐ: bẫy đèn trong nhà đêm; STNN: soi trong nhà ngày; c/n/đ: con/người/đêm; c/g/n: con/giờ/người; c/đ/đ: con/đèn/đêm; c/n: con/nhà

Tại xã Pa Ủ, năm 2021 đã thu thập được 07 loài Anopheles. Véc tơ chính *An. minimus* chỉ thu thập được bằng phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm với mật độ là 0,38 con/giờ/người. Véc tơ phụ *An. maculatus* thu được ở 4 phương pháp điều tra và có mật độ cao nhất ở chuồng gia súc đêm (37,6 con/giờ/người) (bảng 2). Tương tự như kết quả nghiên cứu tại xã Pa Ủ, huyện Mường Tè năm 2020 cho thấy đã thu thập được 7 loài

muỗi Anopheles qua 2 đợt điều tra tháng 5 và tháng 10 năm 2020. Trong đó, véc tơ chính là *An. minimus* thu thập được bằng phương pháp soi chuồng gia súc đêm và bẫy đèn trong nhà với mật độ thấp tương ứng là 0,03 con/giờ/người và 0,07con/đèn/đêm. *An. maculatus* thu thập được bằng tất cả các phương pháp điều tra, trong đó mật độ thu thập cao nhất bằng phương pháp soi chuồng gia súc đêm [4].

3.3. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Pa Vệ Sủ

Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Pa Vệ Sủ được thể hiện trong Bảng 3.



Bảng 3. Thành phần loài, mật độ Anopheles tại xã Pa Vệ Sủ, năm 2021

T T	Tên loài muỗi	MNTNĐ		MNNNĐ		SCGSĐ		BĐTNĐ		STNN	
		SL (con)	MĐ (c/n/d)	SL (con)	MĐ (c/n/d)	SL (con)	MĐ (c/g/n)	SL (con)	MĐ (c/d/d)	SL (con)	MĐ (c/n)
1	<i>An. kochi</i>	0	0	0	0	14	0,39	0	0	0	0
2	<i>An. maculatus</i>	28	2,33	47	3,91	835	23,19	32	5,33	0	0
3	<i>An. minimus</i>	0	0	0	0	7	0,19	0	0	0	0
4	<i>An. philippinensis</i>	0	0	4	0,33	29	0,81	0	0	0	0
5	<i>An. pediniteatus</i>	0	0	0	0	11	0,31	0	0	0	0
6	<i>An. sinensis</i>	2	0,17	12	1	93	2,58	2	0,33	6	0,2
7	<i>An. splendidus</i>	0	0	0	0	4	0,22	0	0	0	0
8	<i>An. tessellatus</i>	0	0	0	0	13	0,72	0	0	0	0
9	<i>An. vagus</i>	0	0	0	0	56	3,11	0	0	0	0

Tại xã Pa Vệ Sủ đã thu được 09 loài muỗi Anopheles. Muỗi *An. minimus* chỉ thu thập được bằng phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm với mật độ là 0,19 con/giờ/người. Véc tơ phụ *An. maculatus* thu thập được ở 4 phương pháp điều tra, trong đó có mật độ cao ở phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm 23,19 con/giờ/người, loài này cũng bắt được ở các phương pháp

môi người trong nhà, ngoài nhà và bẫy đèn trong nhà đêm nhưng có mật độ thấp hơn (bảng 3).

3.4. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Tá Bạ

Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Tá Bạ được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4. Thành phần loài, mật độ Anopheles tại xã Tá Bạ, năm 2021

T T	Tên loài muỗi	MNTNĐ		MNNNĐ		SCGSĐ		BĐTNĐ		STNN	
		SL (con)	MĐ (c/n/d)	SL (con)	MĐ (c/n/d)	SL (con)	MĐ (c/g/n)	SL (con)	MĐ (c/d/d)	SL (con)	MĐ (c/n)
1	<i>An. maculatus</i>	0	0	0	0	292	12,17	0	0	0	0
2	<i>An. sinnensis</i>	1	0,17	3	0,5	16	0,67	2	0,67	1	0,03
3	<i>An. vagus</i>	0	0	0	0	5	0,21	0	0	1	0,03

Tại xã Tá Bạ chỉ thu được 03 loài muỗi Anopheles. Muỗi thu thập được chủ yếu bằng phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm. Tại điểm điều tra này có số lượng loài thấp và chưa bắt được véc tơ chính *An. minimus*. *An. maculatus* chỉ bắt được ở phương pháp soi chuồng gia súc đêm với mật độ 12,17 con/giờ/người

(bảng 4).

3.5. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Thu Lũm

Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Thu Lũm được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Thu Lũm, năm 2021

T T	Tên loài muỗi	MNTNĐ		MNNNĐ		SCGSD		BDTNĐ		STNN	
		SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/g/n)	SL (con)	MĐ (c/đ/đ)	SL (con)	MĐ (c/n)
1	<i>An. kochi</i>	0	0	0	0	45	5,63	8	8	0	0
2	<i>An. maculatus</i>	0	0	0	0	16	2,00	0	0	0	0
3	<i>An. sinensis</i>	0	0	2	1	67	8,38	19	19	3	0,3
4	<i>An. vagus</i>	0	0	0	0	35	4,38	2	2	7	0,7

Tại xã Thu Lũm chỉ thu được 4 loài muỗi Anopheles. Trong đó, *An. maculatus* chỉ thu được bằng phương pháp soi chuồng gia súc đêm với mật độ 2 con/giờ/người (bảng 5).

3.6. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Vàng San

Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Vàng San được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Vàng San, năm 2021

T T	Tên loài muỗi	MNTNĐ		MNNNĐ		SCGSD		BDTNĐ		STNN	
		SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/g/n)	SL (con)	MĐ (c/đ/đ)	SL (con)	MĐ (c/n)
1	<i>An. maculatus</i>	0	0	2	1	261	32,63	0	0	0	0
2	<i>An. philippinensis</i>	0	0	0	0	36	4,5	0	0	0	0
3	<i>An. sinensis</i>	0	0	0	0	20	2,5	0	0	0	0
4	<i>An. splendidus</i>	0	0	0	0	9	1,13	0	0	0	0
5	<i>An. tessellatus</i>	0	0	0	0	2	0,25	0	0	0	0
6	<i>An. vagus</i>	0	0	0	0	34	4,25	0	0	0	0

Tại xã Vàng San đã thu được 06 loài muỗi Anopheles. Các loài thu thập được chủ yếu bằng phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm. *An. maculatus* thu thập được ở phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm có mật độ cao (32,63 con/giờ/người) (bảng 6).

3.7. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Bum Tở

Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Bum Tở được thể hiện trong Bảng 7



Bảng 7. Thành phần loài, mật độ muỗi Anopheles tại xã Bum Tờ, năm 2021

T T	Tên loài muỗi	MNTND		MNNND		SCGSĐ		BĐTND		STNN	
		SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/n/đ)	SL (con)	MĐ (c/g/n)	SL (con)	MĐ (c/đ/đ)	SL (con)	MĐ (c/n)
1	<i>An. kochi</i>	0	0	0	0	24	2,0	0	0	0	0
2	<i>An. maculatus</i>	0	0	0	0	69	5,75	0	0	0	0
3	<i>An. philippinensis</i>	0	0	2	0,5	21	1,75	0	0	0	0
4	<i>An. sinensis</i>	0	0	0	0	257	21,42	2	0,1	0	0
5	<i>An. vagus</i>	0	0	0	0	63	5,25	0	0	0	0

Tại xã Bum Tờ, đã thu thập được 05 loài muỗi Anopheles. Tương tự như các xã trên, các loài thu thập được chủ yếu bằng phương pháp soi chuồng gia súc ban đêm. Điểm khác biệt của xã này là muỗi *An. sinensis* có mật độ cao hơn so với các loài còn lại (bảng 7)

Trong nghiên cứu này, ở 6 xã điều tra muỗi đều có đặc điểm chung là thu thập được muỗi chủ yếu ở chuồng gia súc ban đêm, thành phần loài và mật độ đốt người ở trong nhà và ngoài nhà thấp. Tương tự nghiên cứu tại

khu vực thủy điện Tuyên Quang các loài muỗi bắt được chủ yếu ở chuồng trâu ban đêm, mật độ đốt người cả trong nhà và ngoài nhà đều thấp [3].

3.8. Độ nhạy cảm của véc tơ với hóa chất diệt côn trùng

Kết quả thử nhạy cảm của *An. maculatus* với hóa chất diệt côn trùng tại xã Pa Ủ, xã Pa Vệ Sủ và xã Tá Bạ, huyện Mường Tè tháng 10 năm 2021 được hiện trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả thử nhạy cảm của *An. maculatus* với hóa chất diệt côn trùng tại các điểm nghiên cứu

TT	Địa điểm	Tỷ lệ muỗi chết sau 24 giờ (%)		
		Alphacypermethrin (0,05%)	Lambdacyhalothrin (0,05%)	Deltamethrin (0,05%)
1	Xã Pa Ủ	100	100	100
2	Xã Pa Vệ Sủ	100	100	100
3	Xã Tá Bạ	100	-	-

Kết quả nghiên cứu thấy rằng, muỗi *An. maculatus* vẫn còn nhạy cảm với alphacypermethrin; lambdacyhalothrin và deltamethrin, tỷ lệ muỗi chết sau 24 giờ là 100% với cả 3 hóa chất thử nghiệm (bảng 8).

Tương tự kết quả nghiên cứu năm 2020 tại xã Pa Ủ, huyện Mường Tè cũng cho thấy muỗi *An. maculatus* còn nhạy cảm với các hóa chất diệt côn trùng thử nghiệm [4]. Muỗi *An. maculatus* có môi trường sống tương tự như véc tơ chính *An. minimus* và *An. dirus* qua các kết quả nghiên cứu trước đây cũng còn nhạy với một số hóa chất diệt côn trùng như Tại Lào (2017) [5]. Cũng tương tự như vậy, *An. maculatus* ở giai đoạn 2013 – 2018 cũng còn nhạy cảm với hầu hết với các hóa chất thử nghiệm ở các điểm nghiên cứu [6]. Điều này giúp ích rất nhiều cho

việc lựa chọn hóa chất trong phòng chống muỗi truyền bệnh sốt rét ở những vùng có sốt rét lưu hành. Như vậy, sử dụng hóa chất nhóm Pyrethroid phòng chống véc tơ sốt rét tại huyện Mường Tè là phù hợp.

4. KẾT LUẬN

- Huyện Mường Tè thu thập được 10 loài Anopheles, chiếm tỷ lệ 15,6% so với cả nước (10/64 loài). *An. minimus* chiếm tỷ lệ 0,9% và 0,6% chỉ thu thập được xã Pa Ủ và Pa Vệ Sủ. Véc tơ phụ *An. maculatus* bắt được ở tất cả các điểm điều tra, trong đó cao nhất là Pa Ủ (86,8%), Pa Vệ Sủ (78,8%), Tá Bạ (91,0%) và Vàng San (72,3%).

- Muỗi *An. maculatus* còn nhạy cảm với alphacypermethrin, lambdacyhalothrin deltamethrin, tỷ lệ chết đạt 100% tại xã Pa Ủ, xã Tá Ba, xã Pa Vệ Sù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Viện Sốt rét, ký sinh trùng, côn trùng Trung ương, Báo cáo đánh giá công tác năm 2021, triển khai kế hoạch phòng chống và loại trừ sốt rét năm 2022, 2022.
- [2] WHO, Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes, 2013.
- [3] Bùi Lê Duy, Hồ Đình Trung, Vũ Việt Hưng và cs, “Diễn biến thành phần loài, đặc điểm sinh thái của một số loài muỗi anopheles và *An. minimus* trong quá trình thay đổi môi trường ở khu vực thủy điện Tuyên Quang, giai đoạn 2010 - 2012”, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 1, tr.9-17, 2015.
- [4] Đào Minh Trang, Vũ Đức Chính, Ngô Đức Thắng và cs, “Xác định thành phần loài, mật độ, hoạt động đốt người, độ nhạy cảm với hóa chất diệt côn trùng của muỗi Anopheles tại xã Pa Ủ, huyện Mường Tè, tỉnh Lai Châu, năm 2020”, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 1, tr.10-16, 2021.
- [5] Marcombe S, Bobichon J, Somphon B et al., “Insecticide resistance status of malaria vectors in Lao PDR”, Plos One, [org/10.1371/journal.pone.0175984](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175984), 2017
- [6] Nguyễn Thị Anh, Vũ Đức Chính, Vũ Việt Hưng và cs, “Tình hình kháng hóa chất diệt côn trùng của các véc tơ sốt rét chính ở Việt Nam giai đoạn 2013 - 2018”, Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 2, tr.49-55, 2019.



COMPOSITION AND MALARIA TRANSMISSION POTENTIAL OF ANOPHELES MOSQUITOES IN IA MLA COMMUNE, KONG PA DISTRICT, GIA LAI PROVINCE

Pham Thu Ha¹, Bui Le Duy², Vu Viet Hung², Nguyen Van Dung^{2,*}

¹Ha Dong General Clinic, Hanoi - Quang Trung, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

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

Received 22/12/2022

Revised 14/01/2023; Accepted 15/02/2023

ABSTRACT

Objectives: This study was conducted to quantify the abundance, composition and distribution, and biting behaviour of the mosquito population, and the proportion of Plasmodium infected in mosquitoes collected from forest and farm sites in Ia MLá commune, Krong Pa district, Gia Lai province.

Methods: Forest and agricultural farm sites in Gia Lai province were selected for mosquito collections (total eight sites). At each site, mosquito collection by Human baited Double Net Trap (HDNT), animal baited traps (ABT) using cattle, and CDC light traps was performed. Plasmodium infection was determined by PCR.

Results: A total of 1,815 *Anopheles* mosquitoes belonging to 19 species were collected by ABT (n=431), HDNT (n=354) and CDC light trap (n=85). Primary vectors *Anopheles dirus* and *Anopheles minimus* were found at low densities comparative to other species. Peak capture by HDNT for primary and secondary vector species occurred from early evening onwards. Only two samples *An. dirus* in the forest infected with *P. vivax*.

Conclusions: 13 species of Anopheles mosquitoes were collected, the rate of mosquitoes infected with malaria parasites was low, only 02 samples of *An. dirus* infects sporozoite Plasmodium.

Keywords: Anopheles, Plasmodium, vector, malaria.

*Corresponding author

Email address: nguyenvandung@outlook.com

Phone number: (+84) 986 898 528

THÀNH PHẦN LOÀI VÀ VAI TRÒ TRUYỀN BỆNH SỐT RÉT CỦA MUỖI *ANOPHELES* TẠI XÃ IA MLÁ, HUYỆN KRONG PA, TỈNH GIA LAI, NĂM 2022

Phạm Thu Hà¹, Bùi Lê Duy², Vũ Việt Hưng², Nguyễn Văn Dũng^{2,*}

¹Phòng khám Đa khoa Hà Đông, Hà Nội - Quang Trung, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

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

Ngày nhận bài: 22 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 14 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 15 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thực hiện để xác định thành phần loài, tập tính đốt môi và vai trò truyền bệnh sốt rét của muỗi *Anopheles* thu thập tại xã Ia MLá, huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai.

Phương pháp nghiên cứu: chọn 4 điểm điều tra muỗi ở trong rừng và bìa rừng. Tại mỗi điểm, thu thập muỗi bằng bẫy màn đôi có môi người (HDNT), bẫy gia súc (ABT) và bẫy đèn CDC. Ký sinh trùng sốt rét trong muỗi được xác định bằng PCR.

Kết quả: Tổng số 870 muỗi *Anopheles* thuộc 19 loài đã được thu thập bằng bẫy gia súc ABT (n=431), bẫy màn kép môi người HDNT (n=354) và bẫy đèn CDC (n=85). Véc tơ sốt rét chính *Anopheles dirus* và *Anopheles minimus* được tìm thấy có mật độ thấp so với các loài khác. Véc tơ chính và phụ được bắt bằng phương pháp HDNT bắt đầu chập choạng tối (khoảng hơn 17h). Chỉ có hai mẫu *An. dirus* trong rừng nhiễm *P. vivax*.

Kết luận: thu được 13 loài muỗi *Anopheles*, tỷ lệ muỗi nhiễm ký sinh trùng sốt rét thấp, chỉ có 02 mẫu *An. dirus* nhiễm thoa trùng Plasmodium.

Từ khóa: *Anopheles*, Plasmodium, véc tơ, sốt rét.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, tỷ lệ mắc và tử vong do sốt rét đã giảm đáng kể ở Việt Nam, từ 224.923 năm 1992 xuống xuống dưới 500 các mắc những năm 2021-2022. Do vậy, Việt Nam đang tiến tới mục tiêu chiến lược là loại trừ bệnh sốt rét vào năm 2030.

Ký sinh trùng sốt rét Plasmodium được lan truyền bởi muỗi *Anopheles*. Muỗi *Anophen* chủ yếu tập trung ở

vùng núi, rừng các tỉnh miền Nam và miền Trung [1]. Có ba véc tơ chính và ít nhất sáu véc tơ phụ truyền bệnh sốt rét ở Việt Nam. Mật độ của *An. dirus* thường cao hơn vào cuối mùa mưa (tháng 10 – 11) trong khi *An. minimus* cũng phát triển mạnh vào cuối mùa khô (tháng 4 – 5).

Mặc dù số trường hợp mắc và tử vong do sốt rét đã giảm trong thời gian gần đây nhưng sốt rét vẫn tồn tại ở một số khu vực Tây Nguyên và Đông Nam Bộ của Việt

*Tác giả liên hệ

Email: nguyenvandung@outlook.com

Điện thoại: (+84) 986 898 528



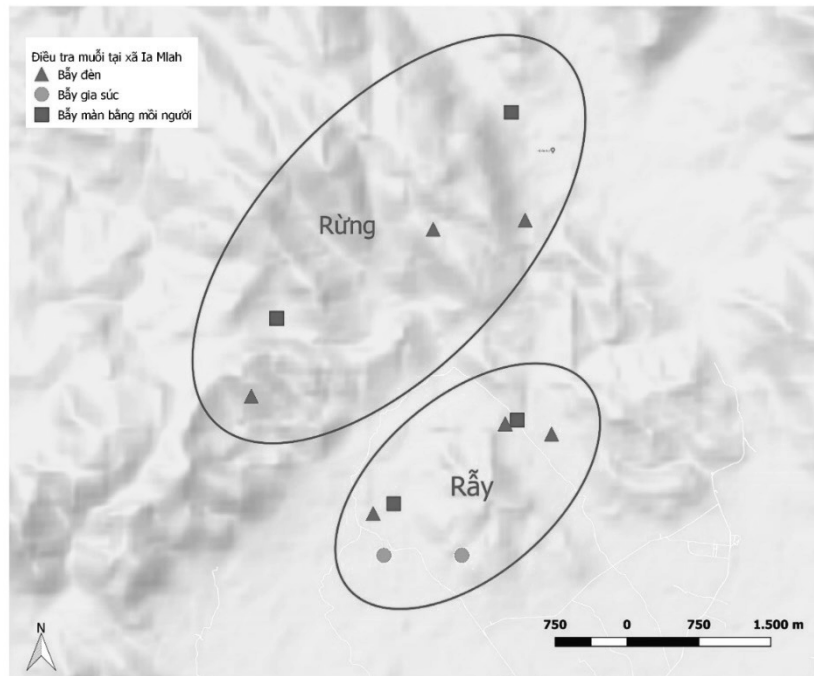
Nam [2, 3]. Những người mắc chủ yếu là người đi rừng, ngủ rẫy [3, 4], nơi mật độ muỗi *Anopheles* truyền sốt rét chính thường cao [5]. Hiểu về đặc điểm sinh học, sinh thái và vai trò truyền bệnh của muỗi *Anopheles* ở những vùng có sự lan truyền sốt rét dai dẳng như vùng Tây nguyên của Việt Nam là cần thiết để lựa chọn các biện pháp phòng chống véc tơ hiệu quả ở những nơi dân cư làm việc hoặc cư trú ngoài trời, nơi mà có nguy cơ tiếp xúc với véc tơ sốt rét cao hơn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Địa điểm nghiên cứu

Muỗi được thu thập tại sinh cảnh rừng, rẫy thuộc xã Ia Mlah, huyện Krong Pa, tỉnh Gia Lai. Xã Ia Mlah, huyện Krong Pa, tỉnh Gia Lai là vùng sốt rét lưu hành, người dân có tập quán ngủ rừng, rẫy (Hình 1).

Hình 1: Vị trí của các phương pháp bắt muỗi tại điểm nghiên cứu



Thu thập muỗi *Anopheles*

Tại mỗi địa điểm, việc thu muỗi bằng bẫy màn đôi có mỗi người (HDNT) được thực hiện bởi các nhóm gồm ba người tình nguyện tại mỗi địa điểm (hai nhóm trong rừng và hai nhóm trong rẫy, tổng cộng 12 người thu thập muỗi), mỗi nhóm thực hiện trong 8 giờ, thời gian cụ thể là (06:00-14:00, 14:00-22:00 hoặc 22:00-06:00) mỗi ngày, trong mười hai ngày liên tục. Người dân trong độ tuổi từ 18-60, có sức khỏe tốt và đồng ý tham gia vào nghiên cứu là đủ điều kiện để làm tình nguyện viên. Những người tình nguyện được đào tạo một ngày về quy trình, phương pháp thu thập và lưu trữ mẫu trước khi thu thập. Tại tất cả các địa điểm, người

thu thập muỗi đã có kinh nghiệm sẽ giám sát các hoạt động thu thập do các tình nguyện viên thực hiện.

Bẫy màn đôi có mỗi người

Muỗi được thu thập bằng bẫy màn đôi có mỗi người (HDNT) theo Tangena [6]. Màn bên trong và bên ngoài cách nhau 50 cm và người thu thập đi vào khoảng trống cứ sau 60 phút để thực hiện bắt muỗi. Những người tình nguyện viên luân phiên nhau tám giờ một lần trong tổng số 24 giờ. Việc thu thập muỗi từ phía ngoài của màn ngoài cũng được thực hiện bằng cách sử dụng đèn pin và ống tuýp. Tất cả các mẫu được lưu trữ riêng theo giờ thu thập (Hình 2).

Hình 2. Mồi người bằng bẫy màn kép



Bẫy màn với mồi là động vật

Hai bẫy mồi động vật (ABT) sử dụng gia súc được đặt tại các địa điểm trong rẫy. Bẫy màn gia súc được treo bên ngoài, khoảng cách giữa lưới và mặt đất là 30 cm. Góc được cọc vào trung tâm màn. Việc thu thập

muỗi được thực hiện hàng giờ bởi một tình nguyện viên 18:00 đến 06:00 giờ trong 12 ngày. Sử dụng đèn pin, tình nguyện viên bắt những con muỗi trú đậu trong màn vào các ống. Các mẫu riêng lẻ được lưu trữ riêng theo giờ thu thập (Hình 3).

Hình 3. Bẫy gia súc



Bẫy đèn

Các bẫy đèn CDC được treo cách mặt đất 1,5 mét tại ba điểm trong rừng và ba điểm tại rẫy (tổng cộng sáu bẫy), điểm treo bẫy đèn cách xa ít nhất 100 mét so với các hoạt động thu thập muỗi khác (ví dụ: HDNT). Muỗi bị ánh sáng thu hút đến bị mắc kẹt bởi lực hút xuống của quạt trong bẫy đèn. Bẫy được đặt từ 18:00 đến 06:00 trong 12 ngày. Các mẫu được thu thập và lưu trữ theo địa điểm thu thập vào cuối mỗi lần thu thập.

Định loại muỗi

Tất cả muỗi bắt được đều được định loại hình thái bằng lupa cầm tay theo Khóa định loại muỗi Anopheline ở Việt nam của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương).

Xác định Plasmodium spp. bằng PCR

ADN được chiết xuất từ đầu/ngực đã được mô tả từ các véc tơ chính và phụ để xác định nhiễm Plasmodium bằng PCR [12].

Xác định nguồn gốc máu vật chủ

DNA được chiết xuất từ ruột giữa của Anopheles cái để xác định nguồn gốc của máu vật chủ bằng PCR theo các phương pháp đã mô tả của Kent [7].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Việc thu thập muỗi được thực hiện tại bốn địa điểm đại diện cho sinh cảnh rừng và rẫy của xã Ia Mlah, huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai. Tổng số 870 muỗi Anopheles



được thu thập, tổng cộng 13 loài đã được xác định (Bảng 1). Phần lớn mẫu muỗi Anopheles được thu thập từ ABT (n=431), tiếp theo là HDNT (n=354) và bẫy đèn CDC (n=85).

Mật độ và thành phần loài muỗi Anopheles

Ở điểm nghiên cứu, mật độ véc tơ phụ *An. aconitus* và *An. maculatus* là cao nhất, bất kể vị trí hay phương pháp thu thập. Các véc tơ chính *An. dirus* và *An. minimus* được tìm thấy với mật độ thấp ở cả hai huyện so với các loài khác (Bảng 1).

Bảng 1: Thành phần và mật độ muỗi Anopheles theo sinh cảnh và phương pháp thu thập

TT	Tên loài muỗi Anopheles	Trong rừng - số lượng (mật độ)		Rẫy - số lượng (mật độ)		
		Mỗi người trong màn kép	Bẫy đèn	Mỗi người trong màn kép	Bẫy đèn	Bẫy gia súc
1	<i>An. dirus</i>	20 (0,83)	8 (0,22)	3 (0,13)	8 (0,22)	
2	<i>An. minimus</i>			3 (0,13)		
3	<i>An. aconitus</i>	111 (4,63)	35 (0,97)	188 (7,83)	25 (0,69)	192 (8,00)
4	<i>An. barbirostris</i>					11 (0,46)
5	<i>An. jeyporiensis</i>					2 (0,08)
6	<i>An. maculatus</i>	7 (0,29)	1 (0,03)	11 (0,46)	1 (0,03)	3 (0,13)
7	<i>An. philippinensis</i>				1 (0,03)	
8	<i>An. sinensis</i>					12 (0,50)
9	<i>An. vagus</i>	1 (0,04)		1 (0,04)	2 (0,06)	69 (2,88)
10	<i>An. jamesi</i>					32 (1,33)
11	<i>An. kochi</i>				1 (0,03)	19 (0,79)
12	<i>An. splendidus</i>	2 (0,08)		7 (0,29)	3 (0,08)	75 (3,13)
13	<i>An. tessellatus</i>					16 (0,67)
Số lượng loài		5	3	6	7	10

Tại điểm nghiên cứu, thu được 13 loài Anopheles, trong đó, phần lớn bằng phương pháp bẫy gia súc tại rẫy (n = 431, 10 loài). Mật độ cao nhất là của véc tơ phụ *An. aconitus* (8,00 con/bẫy/đêm), tiếp theo là *An. splendidus* (3,13 con/bẫy/đêm) và *An. vagus* (2,88 con/bẫy/đêm). Các véc tơ chính *An. dirus* và *An. minimus* không thu thập được bằng phương pháp ABT. Thành phần loài và mật độ muỗi thu thập bằng HDNT gần như tương đương giữa các địa điểm trong rừng và rẫy. Tại khu vực rẫy, 6 loài Anopheles đã được thu thập bằng HDNT, bao gồm véc tơ chính *An. dirus* (0,13 con/người/ngày) và *An. minimus* (0,13 con/người/ngày) và mật độ cao nhất là véc tơ phụ *An. aconitus* (7,83 con/người/ngày). Trong rừng, bằng phương pháp HDNT đã bắt được 5

loài muỗi Anopheles, trong đó có véc tơ chính *An. dirus* có mật độ 0,83 con/người/ngày. Tương tự như ở rẫy, mật độ muỗi cao nhất là véc tơ phụ *An. aconitus* (4,63 con/người/ngày) ở cả hai phương pháp ABT và HDNT. Bằng phương pháp bẫy đèn, tổng cộng 41 cá thể muỗi thuộc bảy loài Anopheles đã được thu thập tại rẫy và tổng cộng 44 con muỗi thuộc ba loài Anopheles đã thu thập được trong rừng. Ở cả rừng và rẫy, mật độ của véc tơ phụ *An. aconitus* là cao nhất (lần lượt là 0,69 và 0,97 con/bẫy/đêm), tiếp theo là véc tơ chính *An. dirus* (0,22 con/bẫy/đêm ở cả hai điểm) (Bảng 1).

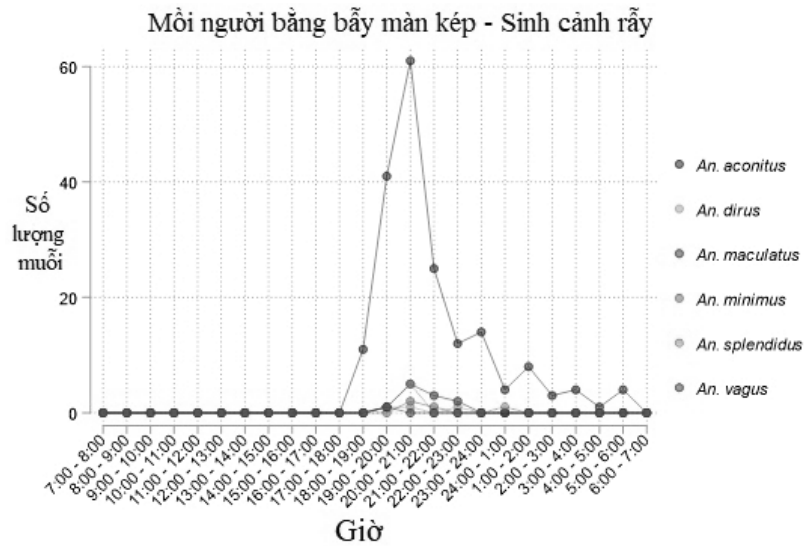
Hoạt động tìm mồi của Anopheles

Muỗi Anopheles được thu thập bằng HDNT trong

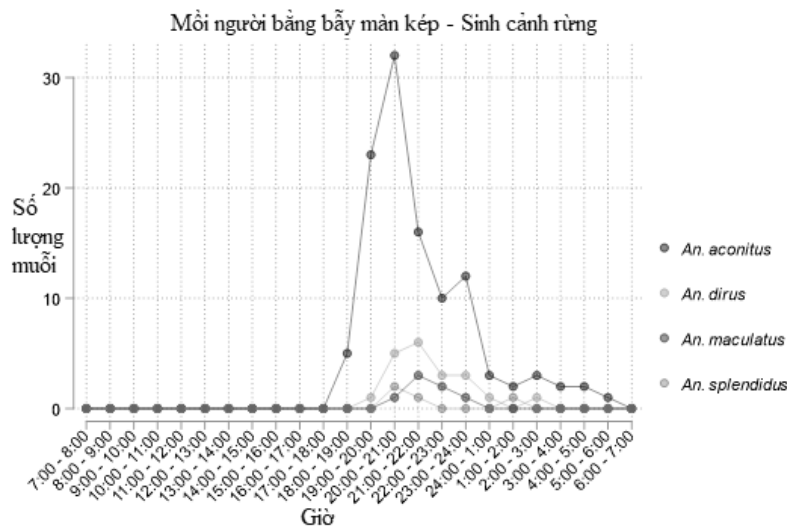
khoảng thời gian từ 18:00 đến 06:00, với số lượng nhiều nhất vào khoảng thời gian từ 19:00 đến 24:00. Cả véc tơ chính chính *An. dirus* và véc tơ phụ *An. Aconitu*, *An. maculatus* đều đốt môi từ đầu buổi tối đến sáng sớm. Chỉ bắt được *An. dirus* tại các điểm trong rừng từ 18:00 đến 02:00, với mật độ cao nhất trong khoảng thời gian từ 20:00 đến 21:00. Muỗi *An.*

aconitus thu thập được tại rừng rẫy trong khoảng thời gian từ 18:00 đến 06:00, với mật độ cao nhất trong khoảng thời gian từ 20:00 đến 21:00. *An. maculatus* được thu thập từ 19:00 đến 23:00 tại rẫy và từ 18:00 đến 23:00 ở trong rừng. Ở cả hai khu vực rừng và rẫy, mật độ *An. maculatus* cao nhất trong khoảng từ 20:00 đến 21:00 (Hình 4, 5).

Hình 4: Số lượng muỗi Anopheles thu thập được tại sinh cảnh rẫy bằng HDNT



Hình 5: Số lượng muỗi Anopheles thu thập được tại sinh cảnh rừng bằng HDNT



Tỷ lệ nhiễm thoa trùng sốt rét Plasmodium trên muỗi Anopheles

400 mẫu được xác định là véc tơ chính và phụ đã được

kiểm tra nhiễm ký sinh trùng bằng PCR, và đã phát hiện được hai mẫu muỗi nhiễm *P. vivax*. Cả hai mẫu dương tính đều được xác định ở muỗi *An. dirus*, thu thập bằng phương pháp HDNT trong rừng.



Nguồn gốc máu của vật chủ ở các muỗi Anopheles

Việc xác định nguồn gốc máu của vật chủ được thực hiện bằng PCR trong các mẫu được xác định là véc tơ

chính và phụ, phát hiện có máu trong ruột giữa (n=186) (Bảng 2). Kết quả cho thấy, máu gia súc và lợn được phát hiện ở phần lớn ở các loài, trong khi đó, máu người chỉ phát hiện ở *An. dirus* (1/5) (Bảng 2).

Bảng 2: Nguồn gốc máu vật chủ ở muỗi Anopheles xác định bằng PCR (n=186)

STT	Loài muỗi	Nguồn gốc máu vật chủ % (n/N)		
		Người	Gia súc	Lợn
1	<i>An. aconitus</i>	0 (0/44)	59,09 (26/44)	40,91 (18/44)
2	<i>An. dirus</i>	5,71 (2/35)	22,86 (25/35)	71,43 (25/35)
3	<i>An. jeyporiensis</i>	0 (0/2)	50 (1/2)	50 (1/2)
4	<i>An. maculatus</i>	0 (0/10)	20 (2/10)	80 (8/10)
5	<i>An. minimus</i>	0 (0/3)	0 (0/3)	100 (3/3)

Hiểu về sinh học, sinh thái của muỗi truyền sốt rét ở các khu vực có sự lan truyền sốt rét dai dẳng là điều cần thiết để cung cấp các biện pháp phòng chống véc tơ hiệu quả cho các đối tượng có nguy cơ nhiễm sốt rét cao như nhóm đi rừng, ngủ rẫy. Đặc biệt là tại xã Ia MLá, huyện Krong Pa, tỉnh Gia Lai, nơi có sốt rét vẫn đang lưu hành [2]. Mật độ của véc tơ chính *An. dirus* và *An. minimus* thấp và thoa trùng Plasmodium chỉ được tìm thấy trong hai mẫu *An. dirus*, cho thấy tỷ lệ muỗi nhiễm bệnh rất thấp trong khu vực tại thời điểm khảo sát. *An. dirus* đã được xác định là véc tơ sốt rét quan trọng trong rừng và ven rừng ở Đông Nam Á và Việt Nam, đặc biệt là trong mùa mưa. Ngay cả ở mật độ thấp, *An. dirus* là véc tơ quan trọng trong khu vực do xu hướng ưa đốt người và thời gian sống lâu [8, 9]. Mặc dù được tìm thấy ở mật độ thấp nhưng *An. dirus* là loài duy nhất nhiễm thoa trùng Plasmodium, điều đó nhấn mạnh tầm quan trọng của việc tiếp tục theo dõi vai trò của loài muỗi này đối với sự lây truyền Plasmodium trong khu vực và để xác định tập tính đốt muỗi có thể được ngăn chặn bằng các biện pháp can thiệp hiện có.

Thu thập muỗi bằng phương pháp HDNT đã chứng minh rằng phần lớn các hoạt động ưa đốt người ở sinh cảnh rừng và rẫy xảy ra sau 20:00, khi người dân có nhiều khả năng ở trong nhà và được bảo vệ bởi màn tẩm hóa chất tồn lưu lâu (LLINs). Tuy nhiên, hiện tượng đốt người vào đầu giờ tối đã được quan sát thấy ở cả hai địa điểm. Những phát hiện này phù hợp với các cuộc điều tra trước đây được thực hiện ở miền Trung

Việt Nam [2, 5], và chứng minh rằng ở một số khu vực có ký sinh trùng sốt rét lan truyền, các biện pháp bảo vệ bổ sung có thể được bổ sung để ngăn chặn việc đốt muỗi vào đầu buổi tối và để bảo vệ các đối tượng có nguy cơ cao như những người đi rừng, rẫy. Bằng chứng gần đây đã chứng minh rằng các biện pháp can thiệp như sử dụng hóa chất diệt côn trùng tại chỗ có thể làm giảm nguy cơ nhiễm *P. falciparum* ở những đối tượng có nguy cơ cao [10, 11], và do đó có thể là hỗ trợ bổ sung phù hợp cho việc sử dụng LLINs để phòng chống muỗi truyền bệnh.

Với phương pháp thu thập HDNT, mật độ và số lượng loài thấp hơn đáng kể so với ABT, có lẽ phản ánh sự ưa thích hút máu động vật ở các loài muỗi đã thu thập trong khu vực nghiên cứu. Số lượng loài và mật độ mẫu được thu thập là tương đương giữa phương pháp thu thập HDNT và LT, tuy nhiên, dữ liệu thu thập hàng giờ không được thực hiện đối với LT ngăn cản việc xác định thời gian đốt muỗi đối với phương pháp này. HDNT rất hữu ích cho việc thu thập các loài ưa đốt người và vai trò truyền bệnh sốt rét ở người. HDNT cũng cung cấp một giải pháp thay thế an toàn hơn cho các kỹ thuật bắt truyền thống, chẳng hạn như mời người trực tiếp [6].

4. KẾT LUẬN

Thu được 13 loài Anopheles tại điểm nghiên cứu, trong đó chỉ có 2 mẫu *A. dirus* nhiễm ký sinh trùng sốt rét.

Véc tơ sốt rét chính *A. dirus* ưa đốt người, đốt mò từ chập tối đến sáng sớm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Goldlust SM, Thuan PD, Giang DDH, Thang ND, Thwaites GE, Farrar J, Thanh NV, Nguyen TD, Grenfell BT, Boni MF, Hien TT: The decline of malaria in Vietnam, 1991-2014. *Malar J* 2018, 17:226.
- [2] Edwards HM, Chinh VD, Le Duy B, Thanh PV, Thang ND, Trang DM, Chavez I, Hii J: Characterising residual malaria transmission in forested areas with low coverage of core vector control in central Viet Nam. *Parasit Vectors* 2019, 12:454.
- [3] Erhart A, Ngo DT, Phan VK, Ta TT, Van Overmeir C, Speybroeck N, Obsomer V, Le XH, Le KT, Coosemans M, D'Alessandro U: Epidemiology of forest malaria in central Vietnam: a large scale cross-sectional survey. *Malar J* 2005, 4:58.
- [4] Erhart A, Thang ND, Hung NQ, Toi le V, Hung le X, Tuy TQ, Cong le D, Speybroeck N, Coosemans M, D'Alessandro U: Forest malaria in Vietnam: a challenge for control. *Am J Trop Med Hyg* 2004, 70:110-118.
- [5] Nguyen TQ, Nguyen MD, Pham VX, Ro HM, Edstein MD, Chow WK, Martin NJ, Hertz JC, Motoki MT: Entomological survey in two communes with residual malaria transmission in Gia Lai Province in the central highlands of Vietnam. *Malar J* 2021, 20:403.
- [6] Tangena JA, Thammavong P, Hiscox A, Lindsay SW, Brey PT: The Human-Baited Double Net Trap: An Alternative to Human Landing Catches for Collecting Outdoor Biting Mosquitoes in Lao PDR. *PLoS One* 2015, 10:e0138735.
- [7] Kent RJ, Norris DE: Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome B. *Am J Trop Med Hyg* 2005, 73:336-342.
- [8] Obsomer V, Defourny P, Coosemans M: The *Anopheles dirus* complex: spatial distribution and environmental drivers. *Malar J* 2007, 6:26.
- [9] Trung HD, Bortel WV, Sochantha T, Keokenchanh K, Briët OJ, Coosemans M: Behavioural heterogeneity of *Anopheles* species in ecologically different localities in Southeast Asia: a challenge for vector control. *Trop Med Int Health* 2005, 10:251-262.
- [10] Tripura R, von Seidlein L, Sovannaroth S, Peto TJ, Callery JJ, Sokha M, Ean M, Heng C, Conradis-Jansen F, Madmanee W, et al: Antimalarial chemoprophylaxis for forest goers in southeast Asia: an open-label, individually randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2022.
- [11] Agius PA, Cutts JC, Han Oo W, Thi A, O'Flaherty K, Zayar Aung K, Kyaw Thu H, Poe Aung P, Mon Thein M, Nyi Zaw N, et al: Evaluation of the effectiveness of topical repellent distributed by village health volunteer networks against *Plasmodium* spp. infection in Myanmar: A stepped-wedge cluster randomised trial. *PLoS Med* 2020, 17:e1003177.
- [12] Viện sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng trung ương (2020), Quy trình xác định ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium* spp. Bằng phương pháp Real time PCR, NIMPE. HD 03.PP/61.



THREE-YEAR EFFICACY AND SAFETY OF TAKEDA'S DENGUE VACCINE CANDIDATE (TAK-003)

Summary of findings published by Rivera L et al. in Clin Infect Dis 2022;75:107–17 [1]

Medical writing support was provided by Juliet Fawcett, PhD, Leonie Huitema, PhD, and Steven D. Stockton, Jr., PhD, of Excel Medical Affairs, funded by Takeda

Received 22/12/2022

Revised 14/01/2023; Accepted 15/02/2023

ABSTRACT

- Takeda's live attenuated tetravalent dengue vaccine candidate (TAK-003) is undergoing evaluation in the long-term phase 3 TIDES trial in participants aged 4–16 years in 8 dengue-endemic countries (NCT02747927).

- Results from year 3 evaluation showed that cumulative vaccine efficacy (VE) against virologically confirmed dengue (VCD) was 62.0% (54.3% for baseline seronegative participants and 65.0% for seropositive participants), and against hospitalized VCD was 83.6% (77.1% for baseline seronegative participants and 86.0% for seropositive participants).

VE against VCD during the third year declined to 44.7%, whereas efficacy against hospitalized VCD was sustained at 70.8%.

- The previously reported lack of efficacy against dengue virus-3 (DENV-3) in baseline seronegative participants continued through to year 3; there were limited data for DENV-4 due to small number of cases.

- Assessment of age groups found no clear age effect in either the year 3 or cumulative data.

- Rates of serious adverse events were 2.9% in TAK-003 group and 3.5% in placebo group during the ongoing long-term follow-up (ie, second half of the 3 years following vaccination), but none were related. No important safety risks were identified during the study.

Keywords: Children, dengue, efficacy, safety, vaccine.

HIỆU QUẢ VÀ TÍNH AN TOÀN TRONG 03 NĂM CỦA ỨNG CỬ VIÊN VẮC-XIN SỐT XUẤT HUYẾT CỦA TAKEDA (TAK-003)

Tóm tắt các phát hiện được công bố bởi Rivera L và cộng sự trên Tạp chí Clin Infect Dis 2022;75:107–17 [1]

Juliet Fawcett, PhD, Leonie Huitema, PhD, and Steven D. Stockton, Jr., PhD, của Excel Medical Affairs đã hỗ trợ viết bài tóm tắt, được tài trợ bởi Takeda

Ngày nhận bài: 22 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 14 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 15 tháng 02 năm 2023

TÓM TẮT

- Ứng cử viên vắc-xin sốt xuất huyết tứ giá sống giảm độc lực của Takeda (TAK-003) đang được đánh giá trong thử nghiệm TIDES giai đoạn 3 dài hạn ở những người tham gia từ 4-16 tuổi tại 8 quốc gia lưu hành dịch sốt xuất huyết (NCT02747927).

- Kết quả từ đánh giá năm thứ 3 cho thấy hiệu quả tích lũy của vắc-xin (VE) chống lại sốt xuất huyết được xác nhận về mặt vi-rút (VCD) là 62,0% (54,3% đối với những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu và 65,0% đối với những người tham gia có huyết thanh dương tính), và hiệu quả chống lại VCD gây nhập viện là 83,6% (77,1% đối với những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu và 86,0% đối với những người tham gia có huyết thanh dương tính)

Hiệu quả của vắc-xin (VE) chống lại VCD trong năm thứ 3 giảm xuống còn 44,7%, trong khi hiệu quả chống lại VCD gây nhập viện được duy trì ở mức 70,8%.

- Sự suy giảm hiệu quả chống lại vi-rút sốt xuất huyết tuýp 3 (DENV-3) được báo cáo trước đây ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu tiếp tục cho đến năm thứ 3; dữ liệu của tuýp DENV-4 còn hạn chế do số lượng nhỏ của các trường hợp nhiễm.

- Không ghi nhận ảnh hưởng rõ ràng của độ tuổi trong năm thứ 3 hoặc dữ liệu tích lũy khi phân tích theo nhóm tuổi.

- Tỷ lệ các biến cố ngoại ý nghiêm trọng là 2,9% ở nhóm TAK-003 và 3,5% ở nhóm giả dược trong quá trình theo dõi dài hạn đang diễn ra (thời gian theo dõi là nửa sau của 3 năm sau khi tiêm chủng), nhưng không có biến cố nào liên quan vắc-xin. Không có nguy cơ an toàn quan trọng nào được xác định trong quá trình nghiên cứu.

Từ khóa: Trẻ em; sốt xuất huyết; hiệu quả; tính an toàn; vắc-xin



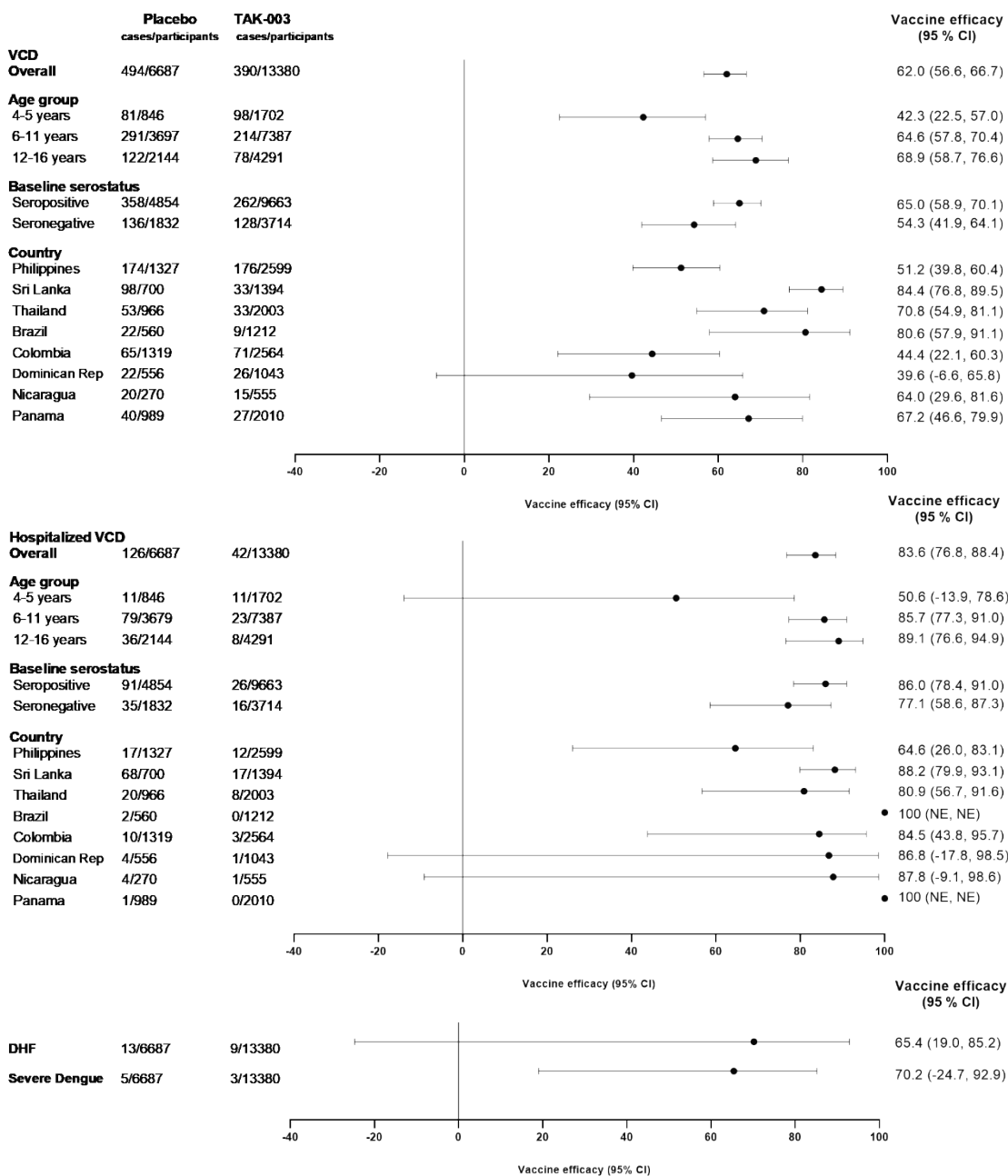
1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Takeda đã phát triển một ứng cử viên vắc-xin sốt xuất huyết tứ giá sống giảm độc lực (TAK-003), dựa trên xương sống của vi-rút sốt xuất huyết tuýp 2 (DENV-2) [2], đã được đánh giá trong một số nghiên cứu [3-14]. TAK-003 hiện đang được đánh giá trong thử nghiệm TIDES dài hạn giai đoạn 3 (NCT02747927) ở những người tham gia từ 4–16 tuổi tại 8 quốc gia lưu hành dịch sốt xuất huyết ở châu Á và châu Mỹ Latinh (Brazil, Colombia, Cộng hòa Dominica, Nicaragua, Panama, Philippines, Sri Lanka và Thái Lan) [9, 10, 13]. Chi tiết đầy đủ về thiết kế nghiên cứu, và các tiêu chí thu nhận và loại trừ đối tượng tham gia đã được công bố trước đây [9, 10, 13]. Những người tham gia đủ điều kiện được chọn ngẫu nhiên 2:1 để nhận 2 liều TAK-003 hoặc giả dược vào tháng 0 và tháng 3, với sự phân tầng ngẫu nhiên theo khu vực và nhóm tuổi. Nghiên cứu đang diễn ra có khoảng 4–4,5 năm theo dõi sau liều thứ hai (1 năm ở phần 1, 6 tháng ở phần 2 và 2,5–3 năm ở phần 3) cho những cá nhân tham gia. Kết quả từ phần 1 và 2 đã được công bố trước đó [9, 10, 13]. **Tiêu chí nghiên cứu chính (hiệu quả của vắc-xin [VE] chống lại sốt xuất huyết được xác nhận về mặt virus học [VCD] 1 năm sau khi hoàn thành 2 liều TAK-003 được tiêm vào tháng 0 và 3):** Nghiên cứu đã đạt được tiêu chí nghiên cứu chính được đánh giá một năm sau khi hoàn thành 2 liều (được tiêm vào tháng 0 và 3), với VE tổng thể chống lại VCD là 80,2% (khoảng tin cậy 95% [95% CI], 73,3–85,3) [10]. Tiêu chí nghiên

cứ thứ yếu, được đánh giá tại thời điểm 18 tháng, cho thấy VE là 76,1% (68,5–81,9) ở những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu, 66,2% (49,1–77,5) ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu và 90,4% (82,6–94,7) chống lại VCD gây nhập viện. Hiệu suất của vắc-xin chống lại các tuýp huyết thanh riêng lẻ (DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4) có thể khác nhau, với phân tích thăm dò cho thấy sự suy giảm hiệu quả chống lại DENV-3 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính ban đầu, gợi ý nên tiếp tục theo dõi trong thời gian dài hơn. Sau 2 năm theo dõi, sự suy giảm về hiệu quả đã được quan sát thấy, với sự suy giảm lớn nhất ở nhóm tuổi trẻ nhất (4 - 5 tuổi). Tiếp theo đây, chúng tôi cung cấp thông tin cập nhật về những phát hiện sau 3 năm theo dõi.

2. PHÁT HIỆN QUA 3 NĂM THEO DÕI

Tổng cộng có 20 071 trong số 20 099 người tham gia được chọn ngẫu nhiên đã nhận được liều đầu tiên TAK-003 hoặc giả dược từ tháng 9 năm 2016 đến tháng 3 năm 2017 và 94,6% hoàn thành 3 năm theo dõi sau liều thứ hai. Theo số liệu tích lũy, 23 693 trường hợp bệnh sốt đã được báo cáo và 895 trường hợp VCD đã được xác định. Ở cấp độ nghiên cứu, DENV-1 là tuýp huyết thanh phổ biến nhất (39%) và DENV-4 ít phổ biến nhất (3,4%). Trong nhóm giả dược, cả 4 tuýp huyết thanh đều được xác định ở châu Á, trong khi chỉ có DENV-1 và DENV-2 được xác định ở Mỹ Latinh.



Dữ liệu nhóm giả dược: Trong nhóm giả dược, tỷ lệ nhập viện lần lượt là 16.3% (32/196), 41.9% (75/179), 14.4% (16/111) và 17.6% (3/17) đối với DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4. Tỷ lệ nhập viện cũng khác nhau giữa các quốc gia (nhóm giả dược: Mỹ Latinh, từ 2,5% [1/40] ở Panama đến 20% [4/20] ở Nicaragua; Châu Á, từ 9,4% [17/181] ở Philippines đến 68% ở Sri Lanka [68/100]). Trong so sánh từng năm, số ca nhiễm VCD cao nhất trong nhóm giả dược đã được báo cáo trong năm thứ 3.

VE tích lũy từ liều đầu tiên của TAK-003 đến 3 năm sau liều thứ hai: Hiệu quả vắc xin tích lũy chống lại VCD là 62% (95% CI, 56,6 – 66,7) và hiệu quả vắc xin chống lại VCD gây nhập viện là 83,6% (76,8 – 88,4). Ở những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu, VE chống lại VCD là 65,0% (52,3–83,4% trên 4 týp huyết thanh DENV). Giới hạn dưới dương của CI 95% (16,0–81,6) được quan sát thấy lần đầu tiên, với VE là 60,7% chống lại DENV-4 ở những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu. Ở những người tham gia có huyết thanh âm tính ban đầu,

VE chống lại VCD là 54,3% (43,5%; 21,5–59,3 đối với DENV-1 và 91,9%; 83,6–96,0 đối với DENV-2, nhưng không quan sát thấy hiệu quả đối với DENV-3–23,4%; -125,3 đến 32,4). Chưa có cách diễn giải thuyết phục nào về DENV-4 là khả thi, vì chỉ có 10 trường hợp nhiễm được báo cáo, hầu hết trong số đó xảy ra phù hợp với tuýp huyết thanh lưu hành đang chiếm ưu thế và thời gian giữa các trường hợp nhiễm và tiêm chủng. Ở tất cả các quốc gia, VE chống lại VCD nhập viện cao hơn so với VCD. Mặc dù VE tích lũy dường như thấp hơn ở nhóm tuổi trẻ nhất, nhưng không có ảnh hưởng nhất quán nào về độ tuổi được ghi nhận rõ ràng khi được phân tích theo độ tuổi riêng lẻ.

VE trong năm thứ 3: Hiệu quả vắc xin chống lại VCD tiếp tục giảm trong năm thứ 3, như đã quan sát thấy trong năm trước (nghĩa là năm thứ 2) của nghiên cứu [13], nhưng mức độ thay đổi theo tuýp huyết thanh. Hiệu quả chống lại VCD gây nhập viện vẫn giữ ở mức cao với tất cả các tuýp huyết thanh ở những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu, và chống lại DENV-1 và DENV-2 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu. Dữ liệu từ năm thứ 3 không cho thấy tác động của tuổi tác, với các kiểu hình khác nhau khi so sánh 3 nhóm tuổi (4-5 tuổi, 6-11 tuổi và 12-16 tuổi) theo tình trạng huyết thanh lúc ban đầu.

VE chống lại DENV-3 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu: Sự suy giảm hiệu quả được báo cáo trước đây đối với DENV-3 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu tiếp tục cho đến năm thứ 3. Trong giai đoạn tích lũy, có 36 trường hợp VCD trong nhóm TAK-003 và 15 trường hợp trong nhóm giả dược, phù hợp với tỉ lệ chọn ngẫu nhiên người tham gia 2:1. Tương tự, số người nhập TAK-003 đã nhập viện cao hơn so với nhóm nhận giả dược (11 người nhập TAK-003 so với 2 nhận giả dược). Như những năm trước, hầu hết các trường hợp DENV-3 (11/17) xảy ra ở Philippines vào năm thứ 3, trong khi 6 trường hợp còn lại xảy ra tại một địa điểm duy nhất ở Sri Lanka và tất cả đều phải nhập viện phù hợp với tỷ lệ nhập viện cao cho các trường hợp sốt xuất huyết được quan sát tại địa phương đó.

Tính an toàn (từ tháng 19 đến tháng 36): 07 trường hợp tử vong đã được báo cáo (5 ở người nhận TAK-003; 2 ở người nhận giả dược) và các biến cố ngoại nghiêm trọng (SAEs) được báo cáo ở 2,9% người nhận TAK-003 và 3,5% người nhận giả dược trong nửa đầu của phân 3 (2.5–3 năm sau liều thứ hai). Không có

trường hợp tử vong hoặc SAE nào được xem là liên quan đến vắc-xin nghiên cứu. Không có nguy cơ an toàn quan trọng nào được xác định trong quá trình nghiên cứu.

Tính sinh miễn dịch: Hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu vẫn giữ tương tự ở tháng 27, như đã báo cáo trước đó [13]. Vào tháng 39, tỷ lệ huyết thanh dương tính tứ giá là 80,5% ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu và 98,4% ở những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu. Phân tích sơ bộ không cho thấy ngưỡng rõ ràng của hiệu giá kháng thể trung hòa vào tháng thứ 4 để phân biệt những người tham gia đã trải qua VCD (tức là các trường hợp bị nhiễm) với các nhóm đối chứng, mặc dù hiệu giá thấp hơn trong các trường hợp bị nhiễm bỏ dấu phẩy phân lớn được tạo ra bởi dữ liệu từ những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu.

3. BÀN LUẬN

Do việc theo dõi 3 tới 5 năm sau tiêm chủng được khuyến nghị cho các ứng cử viên vắc xin sốt xuất huyết để cho phép đánh giá trong nhiều mùa sốt xuất huyết, nên những phát hiện này đánh dấu một cột mốc quan trọng trong chương phát triển nghiên cứu lâm sàng của TAK-003. Sau những phát hiện qua 2 năm từ nghiên cứu TIDES, những điểm thảo luận chính cần xem xét là: (a) sự bền vững về hiệu quả, (b) tác động của tuổi tác và (c) hiệu suất chống lại DENV-3 và DENV-4 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu.

Về tính bền vững của VE chống lại VCD, trong năm thứ 3 đã có sự suy giảm ở một mức độ khác nhau nhưng VE chống lại VCD gây nhập viện vẫn ổn định. Điều đáng lưu ý là, mặc dù có sự suy giảm hiệu quả ở một mức độ khác nhau chống lại VCD với DENV-1 và -2 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu khi so sánh từng năm, nhưng không có sự thay đổi lớn về VE chống lại VCD gây nhập viện ở nhóm TAK-003. Điều này chỉ ra rằng sự suy giảm hiệu quả có thể không liên quan đến tăng cường mức độ bệnh. Hơn nữa, mặc dù tỷ lệ nhập viện khác nhau giữa các quốc gia thử nghiệm, sự nhất quán về hiệu quả cao chống lại VCD gây nhập viện đã được quan sát thấy. Một liều tăng cường có thể có khả năng làm đảo ngược một số hiệu quả suy giảm đã được quan sát, và do đó, một liều

tăng cường được lên kế hoạch sử dụng khoảng 4 năm sau liều thứ 2 trong thử nghiệm này, đây là thời gian khả thi sớm nhất về mặt thực hiện nghiên cứu.

Đánh giá các nhóm tuổi cho thấy không có ảnh hưởng rõ ràng về độ tuổi trong năm thứ 3 hoặc dữ liệu tích lũy. Các phân tích trước đây cho nhóm tuổi 4–5 đã báo cáo VE là 46,4% (–12,7 đến 74,5) ở những người tham gia có huyết thanh dương tính lúc ban đầu và –23,7% (–219,1 đến 52,0) ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu trong năm thứ 2 [13], trong khi trong năm thứ 3 thì VE lần lượt là 2,5% (–76,6 đến 46,2) và 47,4% (–4,3 đến 73,4). Những ước tính dao động này nhấn mạnh sự cần thiết phải thận trọng trong việc diễn giải các phân tích dưới nhóm.

Sự phân bố địa lý của các trường hợp DENV-3 không thay đổi nhiều trong năm thứ 3 so với những năm trước đó với phần lớn trường hợp được báo cáo ở Philippines. Sáu trường hợp DENV-3 đã được xác định ở những người tiêm vắc-xin có huyết thanh âm tính lúc ban đầu ở Sri Lanka, nơi thực hành địa phương cho phép nhập viện hầu hết các trường hợp sốt xuất huyết dựa trên xác nhận sốt xuất huyết của phòng thí nghiệm địa phương, dẫn đến sự phức tạp trong việc diễn giải dữ liệu và làm lệch một số tiêu chí nghiên cứu thăm dò. Việc nhập viện và quản lý ca bệnh tuân theo hướng dẫn của địa phương và nguồn lực sẵn có, dẫn đến tính không đồng nhất về tỷ lệ nhập viện như quan sát thấy ở nhóm giả dược. Theo dữ liệu tích lũy qua năm thứ 3, các trường hợp nhiễm vẫn có tỉ lệ tương ứng với tỷ lệ chọn ngẫu nhiên 2:1 (36 trong nhóm TAK-003 so với 15 trong nhóm giả dược); tuy nhiên, tính phân phối của các trường hợp nhập viện bị ảnh hưởng bởi những người được xác định ở Sri Lanka (11 [5 bên ngoài Sri Lanka] trong TAK-003 so với 2 [cả 2 ở bên ngoài Sri Lanka] trong giả dược). Việc đánh giá hiệu suất của vắc xin chống lại DENV-4 ở những người tham gia có huyết thanh âm tính lúc ban đầu bị hạn chế bởi số lượng nhỏ các trường hợp nhiễm, mặc dù thử nghiệm đang diễn ra ở 8 quốc gia. Không có nguy cơ an toàn quan trọng nào được xác định trong quá trình theo dõi dài hạn, phù hợp với các báo cáo trước đây của chúng tôi.

Tóm lại, nghiên cứu giai đoạn 3 đang tiến hành chứng minh rằng TAK-003 có hiệu quả chống lại bệnh sốt xuất huyết có triệu chứng ở trẻ em và thanh thiếu niên tại 8 quốc gia lưu hành sốt xuất huyết ở châu Á và châu Mỹ Latinh. Mặc dù hiệu quả của TAK-003 có giảm theo thời gian, và thay đổi tùy theo tuýp huyết thanh, hiệu quả chống lại sốt xuất huyết gây nhập viện vẫn duy

trì bền vững. Những dữ liệu này hỗ trợ cho lợi ích của TAK-003 trong việc kiểm soát sốt xuất huyết.

4. KẾT LUẬN

TAK-003 đã chứng minh hiệu quả chống lại sốt xuất huyết có triệu chứng qua thời gian nghiên cứu 3 năm. Mặc dù hiệu quả có giảm theo thời gian, nhưng vẫn duy trì hiệu quả cao chống lại sốt xuất huyết gây nhập viện. Việc đánh giá liều tăng cường đang được lên kế hoạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Rivera L, Biswal S, Sáez-Llorens X et al., Three-year Efficacy and Safety of Takeda's Dengue Vaccine Candidate (TAK-003). *Clin Infect Dis* 2022; 75: 107-17.
- [2] Huang CY, Kinney RM, Livengood JA et al., Genetic and phenotypic characterization of manufacturing seeds for a tetravalent dengue vaccine (DENVax). *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2243.
- [3] Osorio JE, Velez ID, Thomson C et al., Safety and immunogenicity of a recombinant live attenuated tetravalent dengue vaccine (DENVax) in flavivirus-naive healthy adults in Colombia: a randomised, placebo-controlled, phase 1 study. *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 830-8.
- [4] George SL, Wong MA, Dube TJ et al., Safety and Immunogenicity of a Live Attenuated Tetravalent Dengue Vaccine Candidate in Flavivirus-Naive Adults: A Randomized, Double-Blinded Phase 1 Clinical Trial. *J Infect Dis* 2015; 212: 1032-41.
- [5] Rupp R, Luckasen GJ, Kirstein JL et al., Safety and immunogenicity of different doses and schedules of a live attenuated tetravalent dengue vaccine (TDV) in healthy adults: A Phase 1b randomized study. *Vaccine* 2015; 33: 6351-9.
- [6] Sirivichayakul C, Barranco-Santana EA, Esquilin-Rivera I et al., Safety and Immunogenicity of a Tetravalent Dengue Vaccine Candidate in Healthy Children and Adults in Dengue-Endemic Regions: A Randomized, Placebo-Controlled Phase 2 Study. *J Infect Dis* 2016; 213: 1562-72.



- [7] Sáez-Llorens X, Tricou V, Yu D et al., Safety and immunogenicity of one versus two doses of Takeda's tetravalent dengue vaccine in children in Asia and Latin America: interim results from a phase 2, randomised, placebo-controlled study. *Lancet Infect Dis* 2017; 17: 615-25.
- [8] Sáez-Llorens X, Tricou V, Yu D et al., Immunogenicity and safety of one versus two doses of tetravalent dengue vaccine in healthy children aged 2-17 years in Asia and Latin America: 18-month interim data from a phase 2, randomised, placebo-controlled study. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 162-10.
- [9] Biswal S, Reynales H, Saez-Llorens X et al., Efficacy of a Tetravalent Dengue Vaccine in Healthy Children and Adolescents. *N Engl J Med* 2019; 381: 2009-19.
- [10] Biswal S, Borja-Tabora C, Martinez Vargas L et al., Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in healthy children aged 4-16 years: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2020; 395: 1423-33.
- [11] Tricou V, Sáez-Llorens X, Yu D et al., Safety and immunogenicity of a tetravalent dengue vaccine in children aged 2-17 years: a randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2020; 395: 1434-43.
- [12] Turner M, Papadimitriou A, Winkle P et al., Immunogenicity and safety of lyophilized and liquid dengue tetravalent vaccine candidate formulations in healthy adults: a randomized, phase 2 clinical trial. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 16: 2456-64.
- [13] López-Medina E, Biswal S, Saez-Llorens X et al., Efficacy of a Dengue Vaccine Candidate (TAK-003) in Healthy Children and Adolescents 2 Years after Vaccination. *J Infect Dis* 2022; 225: 1521-32.
- [14] Tricou V, Gottardo R, Egan MA et al., Characterization of the cell-mediated immune response to Takeda's live-attenuated tetravalent dengue vaccine in adolescents participating in a phase 2 randomized controlled trial conducted in a dengue-endemic setting. *Vaccine* 2022; 40: 1143-51.