NGHIÊN CỨU CÁC CHỈ SỐ SINH HÓA, HUYẾT THANH HỌC, SINH HỌC PHÂN TỬ BỆNH DO CYTOMEGALOVIRUS Ở TRẺ EM TẠI BỆNH VIỆN SẢN NHI NGHỆ AN

Tăng Xuân Hải, Trần Minh Long, Thái Thị Linh, Cao Thị Linh Chi

Chịu trách nhiệm: Tăng Xuân Hải
Email: bstangxuanhai@gmail.com
ĐT: 0912379853
Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An
Ngày nhận: / /2022
Ngày phản biện: / /2022
Ngày duyệt bài: / /2022

TÓM TẮT:

Mục tiêu: Tìm hiểu sự thay đổi chỉ số kháng thể IgM, IgG, tải lượng virus và các chỉ số sinh hóa bệnh do Cytomegalovirus ở trẻ em và mối liên quan giữa kháng thể IgM, IgG, tải lượng virus và tuổi, giới tính của trẻ tại Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An. **Đối tượng-Phương pháp:** Mô tả cắt ngang 78 bệnh nhi được chẩn đoán nhiễm CMV theo triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm PCR CMV dương tính tại Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An từ tháng 5/2021 đến tháng 5/2022. **Kết quả:** Kháng thể IgG với CMV dương tính chiếm tỷ lệ 85,9%, kháng thể IgM với CMV chỉ dương tính 32,1%. Tải lượng virus trung bình là: 109707 ± 385901 copies/ml (trung vị: 10216 copies/ml). Số lượng bệnh nhân có kết quả PCR ≥ 5000 copies/ml là 64,%. Sau khi điều trị, tỷ lệ PCR âm tính chiếm tỷ lệ 42,1% bệnh nhân. Tìm thấy mối liên quan giữa tuổi với tỷ lệ kháng thể CMV IgG dương tính cũng như nồng độ kháng thể CMV IgG; Nồng độ kháng thể CMV IgM ($p < 0,05$). **Kết luận:** Cần nâng cao công tác chẩn đoán phát hiện sớm bệnh cũng như nhận thức cho các bà mẹ để sớm phát hiện và điều trị cho trẻ.
Từ khóa: Cytomegalovirus (CMV), sinh hóa, huyết thanh học, sinh học phân tử.

SUMMARY:

CHILDREN WITH CYTOMEGALOVIRUS

Objectives: Description of the change of IgM, IgG and biochemical indicators of disease caused by Cytomegalovirus in children and the relationship between IgM, IgG and age, sex of the child at Nghe An Obstetrics and Pediatrics Hospital. **Subjects-methods:** Cross-sectional description 78 pediatric patients diagnosed with Cytomegalovirus at Nghe An Obstetrics and Pediatrics Hospital. **Result:** CMV IgG positive accounts for 85.9%, CMV IgM positive rate is only 32.1%. The mean viral load was: 109707 ± 385901 copies/ml (median: 10216 copies/ml). The number of patients with PCR results ≥ 5000 copies/ml is 64%. After treatment, negative PCR rate accounted for 42.1% of patients. Found an association between age and positive CMV IgG and concentration of CMV IgG, CMV IgM ($p < 0.05$). **Conclusions:** It is necessary to improve the work of early diagnosis and detection of diseases as well as awareness for mothers to early detect and treat children.
Keywords: Cytomegalovirus (CMV), biochemistry, serology, molecular biology.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm Cytomegalovirus (CMV) là loại nhiễm virus thường gặp trong cộng đồng, theo Stuart P.Adler hàng năm có tới 2% trẻ sơ sinh nhiễm CMV trên thế giới [1]. Ở Nhật Bản trung bình có khoảng 1,6/100000 trẻ sinh ra sống có triệu chứng nhiễm CMV bẩm sinh [2]. Những trẻ có triệu chứng nhiễm CMV bẩm sinh có tỷ lệ tử vong cao, có thể lên đến 30% và gần 90% trẻ sơ sinh nhiễm trùng CMV có triệu chứng nhiễm trùng lúc sinh sẽ có những bất thường về thần kinh. Bệnh do nhiễm CMV thường để lại những di chứng muộn như điếc, chậm phát triển tâm thần - vận động, liệt não và giảm thị lực.

Phát hiện và điều trị kịp thời bệnh CMV cũng góp phần làm giảm tỷ lệ tử vong và di chứng lâu dài ở trẻ em. Tại Việt Nam, các nghiên cứu về CMV ở trẻ em không nhiều, vì vậy chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu với mục đích tìm hiểu sự thay đổi chỉ số kháng thể IgM, IgG, tải lượng virus và các chỉ số sinh hóa bệnh do Cytomegalovirus ở trẻ em cũng như tìm hiểu mối liên quan giữa kháng thể IgM, IgG, tải lượng virus và tuổi, giới tính của trẻ.

II. ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân dưới 15 tuổi được chẩn đoán nhiễm CMV theo triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm PCR CMV dương tính loại trừ tất cả những bệnh nhân có tổn thương tương tự do CMV nhưng do các nguyên nhân khác hoặc tổn thương phối hợp cùng CMV tại Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An từ tháng 5/2021 đến tháng 5/2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Mô tả cắt ngang

Cỡ mẫu nghiên cứu

Công thức tính cỡ mẫu:

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

Trong đó:

n: Cỡ mẫu nghiên cứu.

$Z^2_{1-\alpha/2}$: Hệ số tin cậy (ở mức ý nghĩa thống kê 95% bằng 1,96).

p: tỷ lệ IgM dương tính bằng 28.3% (Theo nghiên cứu của Khúc Văn Lập năm 2009 tỷ lệ IgM dương tính bằng 28,3% tức là p = 0,283).

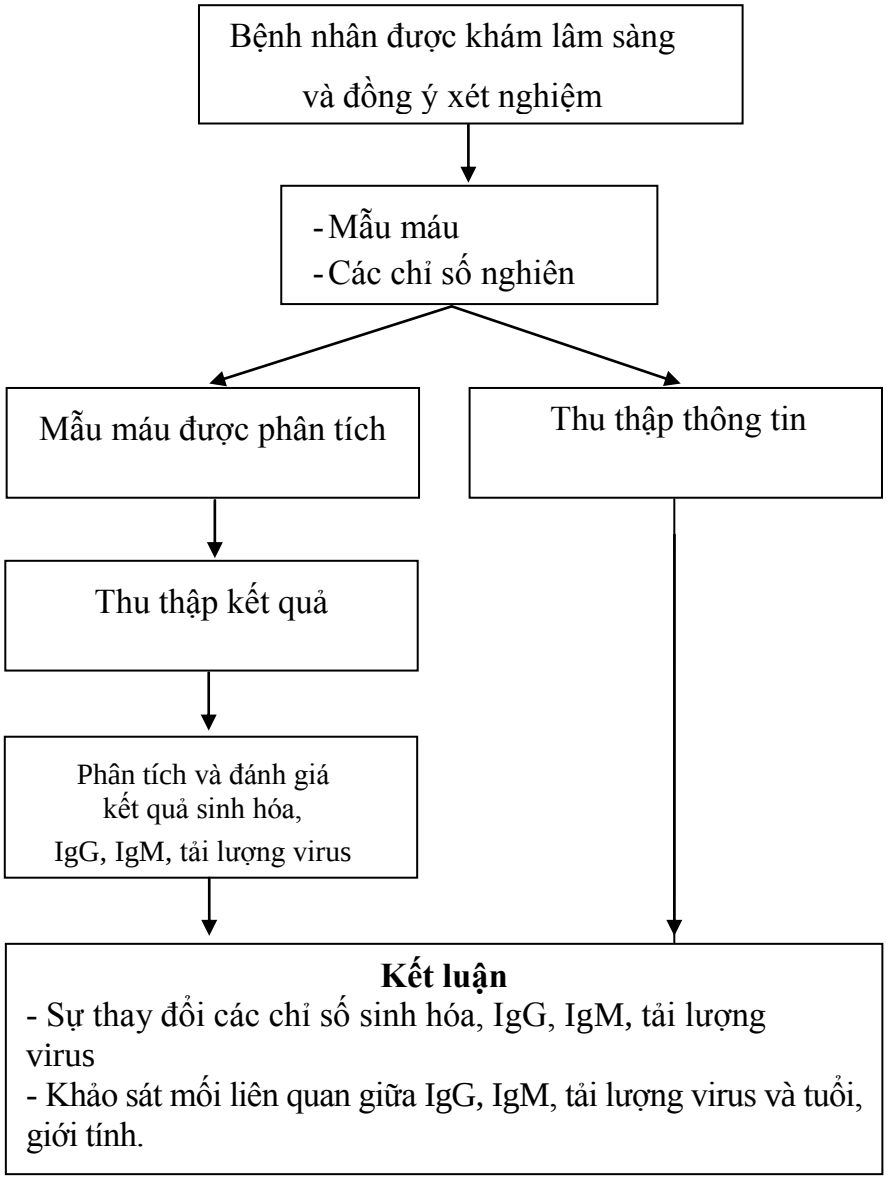
d: sai số tuyệt đối, chọn d = 0,1.

Thay vào công thức ta có n = 78.

Theo tính toán, cỡ mẫu nghiên cứu tối thiểu là 78 mẫu. Thực tế chúng tôi tiến hành thu thập số liệu trên 78 bệnh nhân.

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện, chọn các đối tượng thỏa mãn điều kiện nghiên cứu cho đến khi lấy đủ cỡ mẫu.

Sơ đồ nghiên cứu quy trình

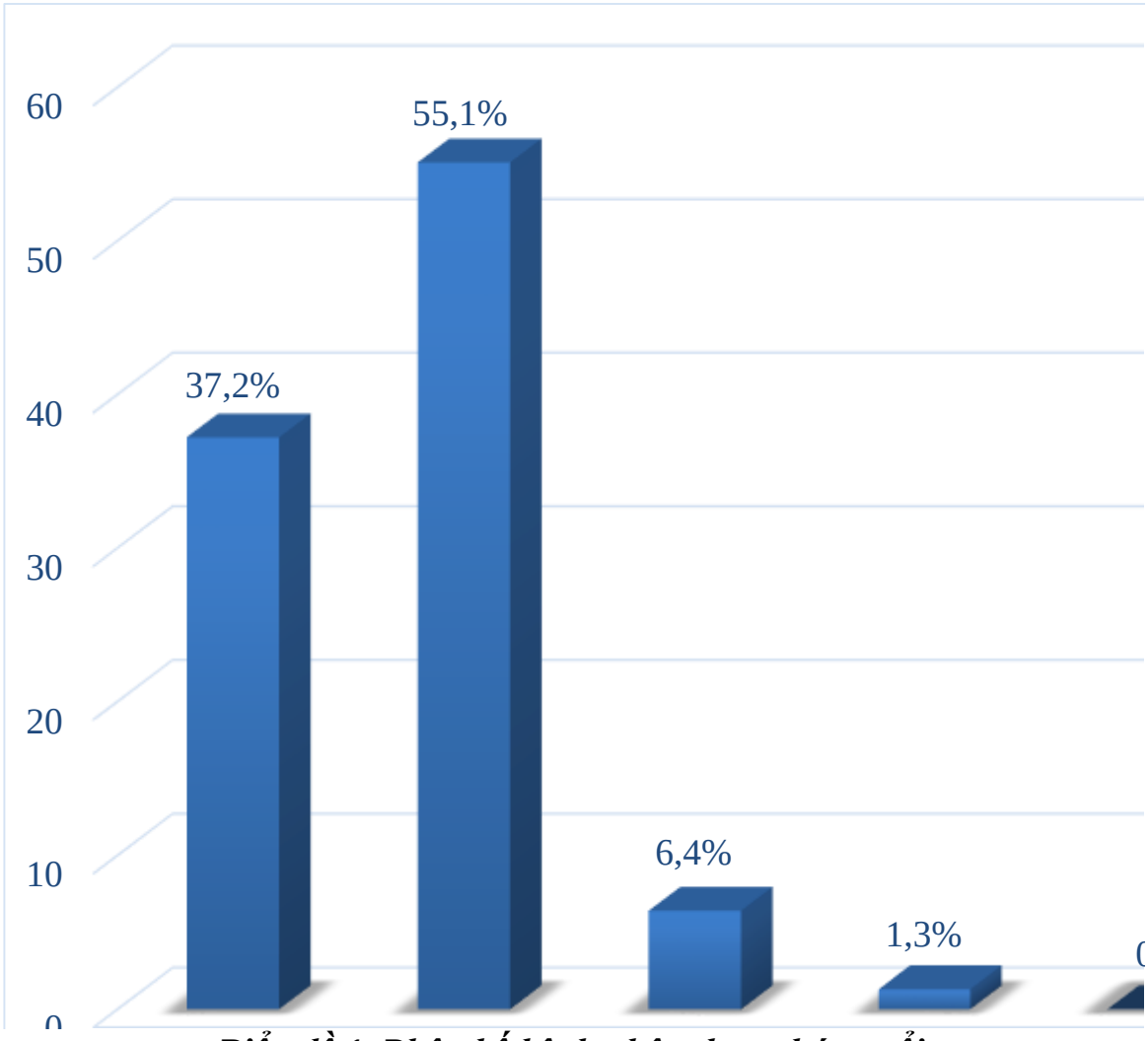


2.5. Phương pháp phân tích số liệu và xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý và nhập bằng phần mềm Excel, phân tích trên phần mềm SPSS 23.0.

III. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm chung của bệnh nhân nghiên cứu



Biểu đồ 1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

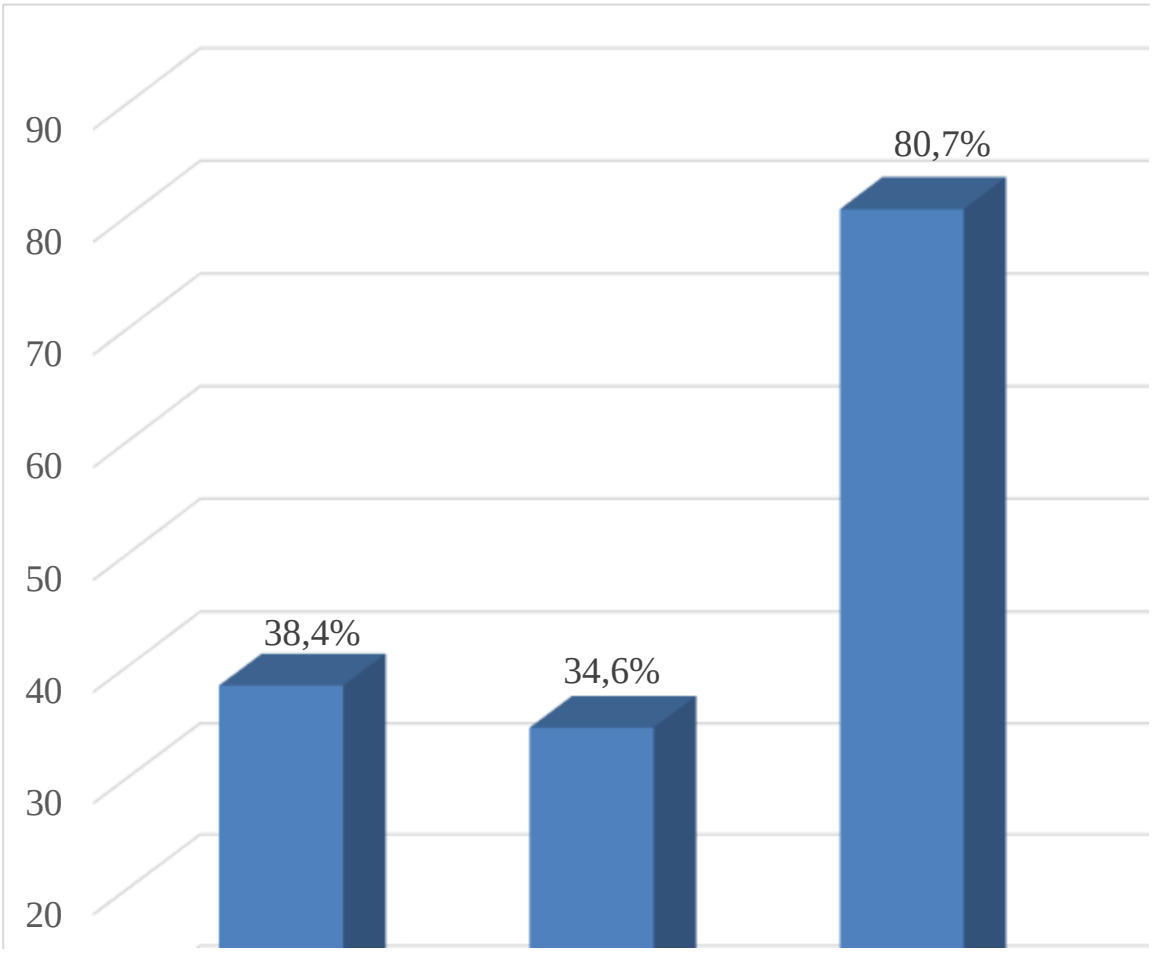
Nhóm tuổi 2 tháng - ≤ 12 tháng có tỷ lệ bệnh nhân nhiễm CMV cao nhất chiếm tỷ lệ 55,1%. Nhóm tuổi 10 - 15 tuổi không có bệnh nhân nào.

Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm CMV ở nam và nữ lần lượt là 55,1% và 44,9%.

Tỷ lệ bệnh nhân nhiễm CMV ở nông thôn chiếm tỷ lệ là 87,2% và thành phố là 12,8%.

3.2. Sự biến đổi chỉ số sinh hoá bệnh do CMV trước và sau điều trị

Các xét nghiệm sinh hóa máu của bệnh nhân khi vào viện



Biểu đồ 2. Các biến đổi sinh hóa máu ở bệnh nhân khi vào viện

Bệnh nhân nhiễm CMV có tỷ lệ tăng men gan (AST, ALT) trong huyết thanh cao (80,7% và 75,6%).

Bảng dưới đây biểu diễn tần suất biến đổi men AST và ALT theo nhóm tuổi của bệnh nhân.

Bảng 3.1. Hoạt độ men AST theo nhóm tuổi

AST	**Nhóm tuổi**										**Tổng**	
	< 2 tháng		**2-12 tháng**		**1-5 tuổi**		**5-10 tuổi**		**10-15 tuổi**			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<2 lần BT	6	7,7	19	24,3	7	9,0	0	0	0	0	32	41,0
2-5 lần BT	3	3,8	21	26,9	3	3,8	1	1,4	0	0	28	35,8
>5 lần BT	0	0	15	19,2	3	3,8	0	0	0	0	18	23,2

Tổng	9	11,5	55	70,4	13	16,7	1	1,4	0	0	78	100

Bệnh nhân vào viện có men gan AST tăng trên 2 lần giá trị bình thường chiếm tỷ lệ 59% trong đó có 18/78 (23,2%) bệnh nhân có giá trị AST tăng cao trên năm lần giá trị bình thường.

Nhóm tuổi dưới 12 tháng tuổi có tỷ lệ tăng men AST cao hơn các nhóm khác. Nhóm này có men gan AST tăng trên 2 lần giá trị bình thường chiếm tỷ lệ 46,1% và men gan AST tăng < 2 lần BT chiếm tỷ lệ 24,3%.

Bảng 3.2. Hoạt độ men ALT theo nhóm tuổi

ALT	**Nhóm tuổi**										**Tổng**	
	< 2 tháng		**2-12 tháng**		**1-5 tuổi**		**5-10 tuổi**		**10-15 tuổi**			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<2 lần BT	8	10,2	25	32,05	5	6,4	1	1,28	0	0	39	49,93
2-5lần BT	0	0	24	30,7	3	3,8	0	0	0	0	27	34,5
>5 lần BT	1	1,2	6	7,69	5	6,4	0	0	0	0	12	15,57
Tổng	9	11,4	55	70,44	13	16,6	1	1,28	0	0	78	100

Bệnh nhân vào viện có men gan ALT tăng trên 2 lần giá trị bình thường chiếm tỷ lệ 50%; trong đó 12/78 (15,7%) bệnh nhân có giá trị ALT tăng cao trên năm lần giá trị bình thường.

Nhóm tuổi dưới 12 tháng tuổi có tỷ lệ tăng men ALT cao hơn các nhóm khác. Nhóm này có men gan ALT tăng trên 2 lần giá trị bình thường chiếm tỷ lệ 38,39% và men gan ALT tăng < 2 lần BT chiếm tỷ lệ 32,05%.

Đa số bệnh nhân đều có điện giải bình thường (Na^+: 92,4%; K^+: 89,7%; Cl^-: 92,4%). Có 5/78 (6,4%) bệnh nhân có biểu hiện hạ Na^+ máu qua xét nghiệm và 1/78 (1,3%) bệnh nhân tăng Na^+ máu. 6/78 (7,7%) bệnh nhân có biểu hiện hạ K^+ máu; 2/78 (2,6%) bệnh nhân có biểu hiện tăng K^+ máu qua

xét nghiệm. 7,6% bệnh nhân có Cl^- máu giảm.

Phản ứng huyết thanh chẩn đoán bệnh do CMV

Kháng thể IgG với CMV dương tính chiếm tỷ lệ 85,9%, kháng thể IgM với CMV dương tính 32,1% bệnh nhân.

Sự hiện diện của kháng nguyên CMV trong các dịch cơ thể (Tải lượng virus trong máu):

Trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi cả 78 bệnh nhân được đo tải lượng virus trong máu. Tải lượng virus trung bình là: 109707 ± 385901 copies/ml (trung vị: 10216 copies/ml). Tải lượng virus thấp nhất là 539 copies/ml; tải lượng virus cao nhất là 2543573 copies/ml.

Số lượng bệnh nhân có kết quả Realtime PCR ≥ 5000 copies/ml là 64,1%, kết quả Realtime PCR <5000 copies/ml là 35,9%.

Kết quả sinh hóa và PCR sau điều trị:

Bảng 3.3. Kết quả sinh hóa sau điều trị

Chỉ số	Trước điều trị		Sau điều trị		P
	n	$\overline{X} \pm SD$	n	$\overline{X} \pm$ SD	
Bilirubin TP (µmol/l)	25	126,8 ± 123,2	25	58,1 ± 64,9	< 0,05
Bilirubin TT (µmol/l)	25	77,7 ± 88,1	25	36,8 ± 49,5	
AST (U/L)	78	181,6 ± 275,8	78	131,5 ± 295,4	
ALT (U/L)	78	127,7 ± 144,9	78	79,1 ± 114,3	

Các chỉ số Bilirubin (TP, TT, GT) và men Transaminase (AST, ALT) đều giảm rõ rệt sau quá trình điều trị. Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Trong 78 bệnh nhân được điều trị kháng virus thì có 19 bệnh nhân được làm xét nghiệm Realtime PCR CMV sau khi điều trị. Sau khi điều trị, tỷ lệ âm tính chiếm tỷ lệ 42,1% bệnh nhân. (8/19 bệnh nhân)

3.3. Mối liên quan giữa kháng thể IgM, IgG, tải lượng virus và tuổi, giới

tính

Nhóm 2 tháng - ≤ 12 tháng có tỷ lệ kháng thể CMV IgG dương tính cao nhất (55,2%), tiếp theo là nhóm < 2 tháng (37,2%), nhóm 1 - ≤ 5 tuổi (7,5%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

Chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa sự phân bố kháng thể IgM dương tính và nhóm tuổi (p > 0,05).

Nồng độ kháng thể CMV IgG giữa các nhóm < 2 tháng tuổi và nhóm 2 tháng - ≤ 12 tháng tương đương nhau lần lượt là 24,00 ± 10,35 và 27,19 ± 13,86 (p < 0,05). Nồng độ kháng thể CMV IgG của hai nhóm (< 2 tháng tuổi ; nhóm 2 tháng - ≤ 12 tháng) và nhóm tuổi 1 - ≤ 5 tuổi có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi nhóm 1 - ≤ 5 tuổi có nồng độ cao hơn hẳn 42,40 ± 9,42 (p < 0,05).

Nồng độ kháng thể CMV IgM giữa 3 nhóm tuổi (2 tháng, 2 tháng - ≤ 12 tháng, 1 - ≤ 5 tuổi) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05). Nhóm tuổi 5 - ≤ 10 tuổi và 10 - 15 tuổi không có bệnh nhân nào dương tính với kháng thể IgM.

Sự khác biệt về tải lượng virus trung bình giữa các nhóm tuổi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Chưa tìm thấy sự khác biệt giữa phân bố kháng thể CMV IgG dương tính và kháng thể CMV IgM dương tính theo giới tính (p>0,05).

IV. BÀN LUẬN

Một số đặc điểm của nhóm đối tượng

Nhóm tuổi 2 tháng - ≤ 12 tháng có tỷ lệ bệnh nhân nhiễm CMV cao nhất với 55,1%. Khi nghiên cứu tỷ lệ nhiễm CMV trong các nhóm tuổi, Monto Ho [3] thấy rằng có hai giai đoạn mà sự lây nhiễm CMV nhiều nhất gồm độ tuổi 0 - 2 tuổi và độ tuổi hoạt động tình dục. Các bệnh nhi dưới 1 tuổi thường dễ bị nhiễm CMV từ mẹ qua nhau thai, trong thời kỳ chu sinh, qua sữa mẹ.

Bệnh nhân nhiễm CMV ở nông thôn chiếm tỷ lệ cao 87,2%. Chúng tôi thấy rằng nông thôn là nơi có chất lượng cuộc sống thấp hơn, sự hiểu biết về

phòng ngừa và tỷ lệ khám sức khỏe định kì cũng thấp hơn. Cuộc sống cộng đồng và vệ sinh cá nhân kém là điều kiện thuận lợi cho sự lây truyền bệnh.

Sự thay đổi các chỉ số xét nghiệm AST, ALT, Bilirubin toàn phần, Bilirubin trực tiếp.

Đa số bệnh nhân nhi vào viện đều tăng men gan AST, ALT (80,7%, 75,6%) và tăng Bilirubin. Nồng độ Bilirubin huyết thanh toàn phần trung bình trong trong nhóm bệnh nhân nghiên cứu của chúng tôi là 126,8 ± 123,2 µmol/L, nồng độ Bilirubin huyết thanh trực tiếp là 77,7± 88,1µmol/L; AST trung bình là: 181,6 ± 275,8 U/L; ALT trung bình là: 127,7 ± 144,9 U/L. Kết quả này tương tự một số kết quả khác [4],[5].

Trong nghiên cứu của chúng tôi thấy nhóm tuổi dưới 12 tháng tuổi có tỷ lệ tăng men AST và ALT cao hơn các nhóm khác tương tự kết quả của tác giả Yukiko Shibata [6].

Chưa tới 10% bệnh nhân có bất thường ở chỉ số điện giải, kết quả này tương tự nghiên cứu của tác giả Khúc Văn Lập [5].

Khi nghiên cứu quá trình đáp ứng miễn dịch với CMV các tác giả đều nhận thấy rằng: Khởi đầu khi bị nhiễm CMV cơ thể sẽ sản xuất kháng thể loại IgM với CMV. Kháng thể loại IgM này chỉ tồn tại trong cơ thể trong thời gian 3 - 4 tháng. Sau một thời gian kháng thể loại IgG với CMV sẽ xuất hiện và tồn tại kéo dài trong nhiều năm tiếp theo. Trong số 78 bệnh nhân của chúng tôi 85,9% bệnh nhân có kháng thể CMV IgG dương tính; trong khi đó kháng thể CMV IgM dương tính với tỷ lệ là 30,1%. Đây là những bệnh nhân mà kháng thể loại IgM với CMV vẫn còn lưu hành trong cơ thể với nồng độ đủ lớn để cho kết quả dương tính.

Tải lượng virus trung bình là: 109707 ± 385901 copies/ml (trung vị: 10216 copies/ml). Số lượng bệnh nhân có kết quả Realtime PCR ≥ 5000 copies/ml là 64,1%. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như kết quả của Arne B. Brantsaeter, Mona Holberg-Petersen [7] và Lori Scanga, Shu Chaing [8].

Sau quá trình điều trị, các xét nghiệm đều có sự thay đổi tích cực. Các

chỉ số Bilirubin (TP, TT, GT) và men Transaminase (AST, ALT) đều giảm rõ rệt sau quá trình điều trị.

Mối liên quan giữa kháng thể IgM, IgG, tải lượng virus và tuổi, giới tính

Tỷ lệ dương tính của IgG kháng CMV khác nhau giữa các nhóm tuổi khác nhau. Tỷ lệ dương tính với IgG kháng CMV cao nhất ở trẻ < 6 tháng tuổi, giảm đáng kể ở nhóm 6 - 12 tháng tuổi và tăng lên ở trẻ 1 - 2 tuổi theo nghiên cứu của Chen [9], kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa sự phân bố kháng thể IgM dương tính và nhóm tuổi ($p > 0,05$). Có thể là do số lượng mẫu ít đồng thời tỷ lệ dương tính của kháng thể IgM không cao.

Chúng tôi tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ kháng thể CMV IgG và IgM với các nhóm tuổi ($p < 0,05$). Kết quả này tương đương nhóm tác giả Qi Zhang và cộng sự [10].

Chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tải lượng virus trung bình với tuổi ($p > 0,05$) cũng như phân bố kháng thể CMV IgG dương tính và kháng thể CMV IgM dương tính theo giới tính ($p > 0,05$). Kết quả nghiên cứu cho thấy tải lượng virus CMV giảm dần qua các lứa tuổi nhưng do nghiên cứu của chúng tôi số lượng mẫu còn nhỏ chưa lấy hết được bệnh nhân ở các độ tuổi nghiên cứu vì vậy chưa tìm được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tải lượng virus CMV và nhóm tuổi.

KẾT LUẬN

Khảo sát 78 trường hợp nhiễm CMV thấy rằng kháng thể IgG với CMV dương tính chiếm tỷ lệ 85,9%, kháng thể IgM với CMV chỉ dương tính 32,1%. Số lượng bệnh nhân có kết quả PCR ≥ 5000 copies/ml là 64,%. Đa số bệnh nhân nhi vào viện đều tăng men gan (AST, ALT), tăng Bilirubin toàn phần, Bilirubin trực tiếp trong huyết thanh và giảm sau điều trị. Tìm thấy mối liên quan giữa tuổi với tỷ lệ kháng thể CMV IgG dương tính cũng như nồng độ kháng thể CMV IgG; Nồng độ kháng thể CMV IgM ($p < 0,05$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Staras S, A. Stephanie, Dollard SC, Radford KW, Flanders WD, Pass RF,Cannon MJ, 2006. "Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States 1988-1994". *CID* 43. p.1143-1151.
2. Morita M, T. Morishima et al, 1998. "Clinical survey of congenital cytomegalovirus infection in Japan". *Acta Paediatr Jpn 40(5).* p.432-436.
3. Monto Ho, 2008. "The History of cytomegalovirus and its diseases". Medical Microbiology and Immunology 197(2). p.65-73.
4. Tanju Basarir Ozkan, Resit Mistik et al, 2007. "Antiviral therapy in neonatal cholestatic cytomegalovirus hepatitis". *BMC Gastroenterology 7(9).* P.1471-1475.
5. Khúc Văn Lập, 2010. "Một số đặc điểm dịch tễ lâm sàng và cận lâm sàng bệnh do cytomegalovirus ở trẻ em tại Bệnh viện Nhi Trung ương".
6. Todd S Wills, MD , 28-04-2009. *Cytomegalovirus*, University of South Florida College of Medicine.
7. Arne B. Brantsaeter, Mona Holberg Petersen et al, 2007. "Cytomegalovirus quantitative PCR in the diagnosis of cytomegalovirus disease in patients with HIV infection-retrospective autospy based study". *BMC Infectious Diseases, 7(127).* p.1-8.
8. Lori Scanga, Shu Chaing et al, 2006. "Diagnosis of human congenital cytomegalovirus infection by amplification of viral DNA from dried blood spots on perinatal cards". *Journal of Molecular Diagnosis, Volume 8, No. 2.* p.240-245.
9. Chen,J., Hu,L., Wu, M. et al. Kinetics of IgG antibody to cytomegalovirus (CMV) after birth and seroprevalence of anti-CMV IgG in Chinese children. Virol J 9, 304 (2012). https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-304.
10. Zhao P, Ma DX, Xue FZ, Ji CY, Wang SK, Zhang XM, Zhou YB, Yu

XP. Seroprevence and risk factors of human cytomegalovirus infection in the esasterm Chiese population. *Arch Virol.* 2009; 154 : 561-564. doi: 10.1007/s00705-009-0339-3.