

ĐẶC ĐIỂM TÝP HUYẾT THANH CỦA VIRUT DENGUE GÂY SỐT XUẤT HUYẾT DENGUE TRÊN ĐỊA BÀN THÀNH PHỐ HÀ NỘI 2011

Nguyễn Khắc Lực*; Vũ Xuân Nghĩa*

TÓM TẮT

Virut dengue (DENV) là nguyên nhân gây sốt dengue, sốt xuất huyết dengue (SXHD) và hội chứng sốc dengue. Hiện nay, DENV được xác định có 4 týp huyết thanh là DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4. Trong dịch SXHD 2011, phân tích týp huyết thanh của 34 bệnh nhân (BN) SXHD. Kết quả cho thấy, dengue týp 1 chiếm 18% (6/34 BN), dengue týp 2 chiếm 36% (12/34 BN) và đồng nhiễm týp 1/týp 2 là 46% (16/34 BN).

* Từ khóa: Sốt dengue; Sốt xuất huyết; Týp huyết thanh dengue.

CHARACTERISTICS OF SEROTYPE FROM DENGUE VIRUS IN 2011 DENGUE FEVER OUTBREAK IN HANOI

SUMMARY

Dengue virus cause dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever (DHF) and dengue shock syndrome (DSS). DENV was grouped in four serotypes: DENV-1, DENV-2, DENV-3 and DENV-4. In 2011 dengue fever outbreak, 34 patients with dengue hemorrhagic fever were analyzed for serotype. Results showed that dengue type 1 accounted for 18% (6/34), dengue type 2 accounting for 36% (12/34) and co-infection type1/type2 was 46% (16/34).

* *Key words: Dengue fever, Dengue hemorrhagic fever; Serotype dengue.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt xuất huyết dengue là bệnh lây truyền qua động vật chân đốt (muỗi *Aedes* sp.) do một trong 4 týp huyết thanh của virut dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4). Tỷ lệ nhiễm virut dengue ngày càng tăng. Người ta ước tính khoảng 50 - 100 triệu người nhiễm virut hàng năm ở hơn 100 quốc gia nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới [3]. DENV có biểu hiện từ mức nhẹ như không triệu chứng đến mức độ vừa, nặng và rất nặng. Tùy thuộc vào từng týp huyết thanh, tình trạng nhiễm hay đồng nhiễm các týp huyết thanh mà BN có biểu hiện lâm sàng ở những mức độ khác nhau [4].

Để chẩn đoán phát hiện DENV hoặc các týp huyết thanh của DEN, hiện nay có 3 phương pháp được thực hiện thường quy ở labo: phân lập virut, phát hiện virut bằng kháng thể đặc hiệu và phát hiện virut ở mức độ gen bằng các kỹ thuật khuếch đại chuỗi axit nucleic: RT-PCR, mPCR và Realtime PCR.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp mPCR để: *Phát hiện các týp huyết thanh của DENV ở BN SXHD trên địa bàn Thành phố Hà Nội.*

* Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm nội dung khoa học: PGS. TS. Trịnh Thị Xuân Hòa

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

34 mẫu huyết tương của BN nghi ngờ SXHD ở giai đoạn cấp trong vụ dịch sốt xuất huyết 2011 ở Hà Nội. BN nhập viện với biểu hiện sốt cao, phát ban và xuất huyết. Nhóm người khỏe mạnh (n = 10) được sử dụng là nhóm chứng âm trong nghiên cứu.

* *Chứng dương:*

Chứng dương của DENV1, 2, 3, 4 và chứng đối là virus *Chikungunya* do Trung tâm Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y cung cấp.

2. Phương pháp nghiên cứu.

- Mô tả cấu trúc và ứng dụng labo.

* *Các quy trình kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:*

- *Tách chiết ARN:*

Tách ARN của virus từ 150 µl huyết tương bằng Qiagen RNA Blood mini kit theo qui trình chuẩn (Qiagen, Đức) và cất giữ ở -80°C đến khi sử dụng.

- *Qui trình m-PCR:*

Thực hiện quy trình có thay đổi để tối ưu hóa phương pháp. Thành phần tham gia phản ứng bao gồm: 5 x Qiagen Onestep RT-PCR buffer, dNTP 10 mM, cặp mồi phát hiện DENV 20 pmol, enzym Mix 2,5 đơn vị, ARN của virus và nước cất vừa đủ 50 µl. Chu trình nhiệt 45°C/45 phút; 95°C/2 phút và 40 chu kỳ ở 94°C/30 giây; 55°C/1 phút; 72°C/1 phút; 72°C/10 phút. Sản phẩm PCR được chạy trên agarose gel 1,2% ở điện áp 100 V và chụp trên hệ thống máy đọc gel. PCR vòng II với các thành phần tương tự và cặp mồi đặc hiệu cho týp huyết thanh của virus dengue.

* *Chứng dương:*

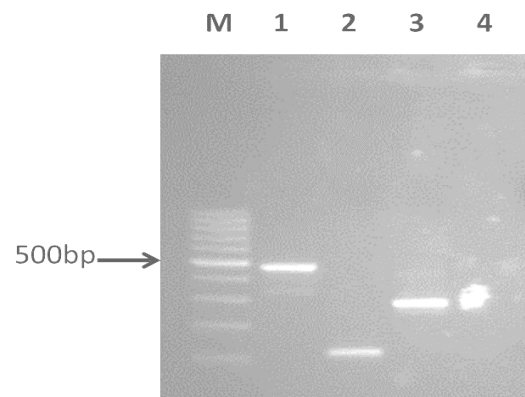
Chuẩn hóa kỹ thuật và đánh giá kết quả. DEN-1, 2, 3, 4 do Trung tâm Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y cung cấp.

* *Thời gian nghiên cứu:* từ 04 - 2011 đến 04 - 2011.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Chuẩn hóa serotýp của virus DEN.

Tối ưu hóa phương pháp mPCR với cặp mồi đặc hiệu của từng týp huyết thanh để phát hiện nhanh, chính xác týp huyết thanh của virus DEN. Kết quả: týp huyết thanh của virus DEN đều cho sản phẩm PCR đặc hiệu với từng týp huyết thanh (*hình 1*).



Hình 1: Sản phẩm PCR của týp huyết thanh virus DEN; M: ADN maker 50 bp; Đường 1, 2, 3: týp huyết thanh của DENV; 4: chứng âm.

Hiện nay, trên thế giới và trong nước sử dụng nhiều phương pháp sinh học phân tử để phát hiện các mầm bệnh sinh học [5]. Các phương pháp ứng dụng PCR có thể xác định týp huyết thanh của DENV trong mẫu bệnh phẩm khi tập trung vào những đoạn gen đặc hiệu của virus [1, 5]. Phương pháp mPCR được sử dụng trong nghiên cứu này đã cho thấy tính vượt trội so với những phương pháp khác. Sử dụng mPCR để phát hiện sớm virus DENV, mở hướng đi mới trong công tác phòng và chống bệnh sốt xuất huyết ở nước ta [3].

2. Phát hiện serotíp của DENV trên BN sốt xuất huyết.

Ứng dụng mPCR trên 34 mẫu huyết tương của BN sốt xuất huyết.

Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm týp huyết thanh của virus dengue trên BN SXHD.

TÝP HUYẾT THANH			
Số lượng (n)	6	12	16
Tỷ lệ (%)	18%	36%	46%

Trong vụ dịch sốt xuất huyết 2011, nguyên nhân gây sốt xuất huyết ở BN nhiễm DENV là do týp huyết thanh týp 1, týp 2 và đồng nhiễm týp 1/2. Lưu hành các týp huyết thanh của virus DEN được ghi nhận ở những báo cáo trước đây [2]. Năm 2003, trong vụ dịch ở Bình Thuận đã phát hiện týp huyết thanh 2 và týp huyết thanh 3. Trong khi đó, vụ dịch 2009 tại Hà Nội, nguyên nhân gây sốt xuất huyết ở BN SXHD là týp huyết thanh 1. Virus dengue hình thành một phức hệ khác biệt so với virus thuộc chi *Flavivirus*, do đặc điểm kháng nguyên và sinh học. Mặc dù cả 4 týp đều tương tự nhau về mặt kháng nguyên, nhưng sự khác biệt giữa các týp này vẫn đủ tạo ra khả năng miễn dịch chéo. Kháng thể của hiện tượng miễn dịch này tồn tại yếu, chỉ được một vài tháng sau khi nhiễm một trong 4 týp virus. Do đó, khả năng tái nhiễm rất cao. Cho dù miễn dịch với týp virus đã mắc, nhưng vẫn có thể mắc các týp virus khác [5].

Cả 4 týp DENV đều liên quan đến các vụ dịch sốt dengue với biểu hiện lâm sàng đa dạng, có thể bị sốt dengue, SXHD hoặc sốc dengue gây tử vong. Nhiều nghiên cứu cho thấy: cả 4 týp DENV lưu hành ở Việt Nam.

KẾT LUẬN

Trong vụ dịch sốt xuất huyết trên địa bàn Thành phố Hà Nội 2011, 34 BN SXHD được phát hiện có lưu hành cả 2 loại týp huyết thanh 1 và 2, đồng thời đồng nhiễm cả 2 loại týp huyết thanh.

Týp 1 chiếm 18% (6/34 BN), dengue týp 2 chiếm 36% (12/34 BN) và đồng nhiễm týp 1/týp 2 là 46% (16/34 BN). Kết quả này cho thấy: týp huyết thanh dengue lưu hành rất đa dạng và hay thay đổi, làm bệnh cảnh lâm sàng sốt xuất huyết ngày càng đa dạng và phức tạp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Xuân Nghĩa, Nguyễn Thanh Việt. Nghiên cứu ứng dụng multi-PCR phát hiện nhanh týp huyết thanh của virus dengue trên BN sốt xuất huyết. Tạp chí Y học thực hành. 2011.
2. Hoang Lan Phuong, Peter J. de Vriesa. Dengue virus infections in Viet Nam: Tip of the Iceberg. Dengue Bulletin. 2006, Volume 30.
3. Centre for Disease Control and Prevention. Dengue. Retrieved from <http://www.cdc.gov/dengue>. 2011.
4. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. TRENDS in Microbiology. 2002, 10 (2).
5. Holmes EC, Twiddy SS. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. Infection, Genetics and Evolution 3. 2003, pp.19-28.

Ngày nhận bài: 30/10/2012

Ngày giao phản biện: 10/11/2012

Ngày giao bản thảo in: 6/12/2012

