

THÔNG BÁO 1 TRƯỜNG HỢP SỐT XUẤT HUYẾT DO VIRUT CHIKUNGUNYA

Nguyễn Trọng Viễn*; Vũ Xuân Nghĩa*
Nguyễn Lĩnh Toàn*; Trần Viết Tiến**

TÓM TẮT

Sốt xuất huyết (SXH) - nguyên nhân phổ biến là do *virut dengue* (DENV). Báo cáo này, chúng tôi thông báo 1 trường hợp SXH đầu tiên ở Hà Nội có *chikungunya* virus RNA dương tính, nhưng DENV-ARN âm tính trong huyết thanh. Điều này chỉ ra tính phức tạp về nguyên nhân, diễn biến lâm sàng và bệnh sinh của bệnh, đồng thời cảnh báo cần chú trọng hơn về tình hình dịch SXH hiện nay. Cần có những nghiên cứu cơ bản và toàn diện về SXH do *Chikungunya* (CHIKV) ở nước ta.

* Từ khóa: Sốt xuất huyết; Virut *Chikungunya*; Virut dengue.

CASE REPORT: HEMORRHAGIC FEVER ASSOCIATION WITH CHIKUNGUNYA VIRUS INFECTION

SUMMARY

The hemorrhagic fever had been shown a common caused by dengue virus. In this study, we have firstly shown an unique case of hemorrhagic fever with plasma Chikungunya virus-RNA positive but DENV - RNA negative. This initial finding indicates the complication of cause, clinical course and pathogenesis of hemorrhagic fever and alerts us to keep an eye into the situation of outbreak of the disease. There is a great need for basic studies and overall reviews of CHIKV hemorrhagic fever in Vietnam.

* *Key words: Hemorrhagic fever; Chikungunya virus; Dengue virus.*

Gần đây, trong đợt dịch sốt xuất huyết (SXH) cuối năm 2009, chúng tôi phát hiện 1 trường hợp bệnh nhân (BN) SXH xét nghiệm *Chikungunya virus* RNA dương tính, nhưng *Dengue virus*-ARN âm tính ở ngày thứ tư của bệnh. Đây là 1 BN nữ, 28 tuổi đến trạm y tế xã với những biểu hiện sốt cao đột ngột, đau đầu, mỏi cơ, đau các khớp ngày thứ 4 của bệnh. Tiền sử BN hoàn toàn khỏe mạnh, BN sống tại xã Tả Thanh Oai, huyện Thanh Trì, Hà Nội, tại thời điểm BN mắc bệnh, đây khu vực đang lưu hành dịch SXH dengue với tỷ lệ mắc cao.

Thăm khám BN có triệu chứng: sốt 39°C (hết sốt ở ngày thứ 7), đau hạch, niêm mạc mắt đỏ, kết mạc xung huyết, nốt xuất huyết tự nhiên rải rác toàn thân, nhiều ở cẳng tay và đùi, không có mảng xuất huyết. Không có nôn ra máu hoặc đi ngoài phân đen. Các khớp nhỏ bàn tay sưng nhẹ, đau và vận động hạn chế. Gan to 2 cm rải bờ sườn, mật độ mềm. Huyết áp trong giới hạn bình thường.

Xét nghiệm máu: số lượng bạch cầu 1,11 x 10⁹/l; giảm rõ rệt so với bình thường (4 - 10 x 10⁹/l),

* Học viện Quân y

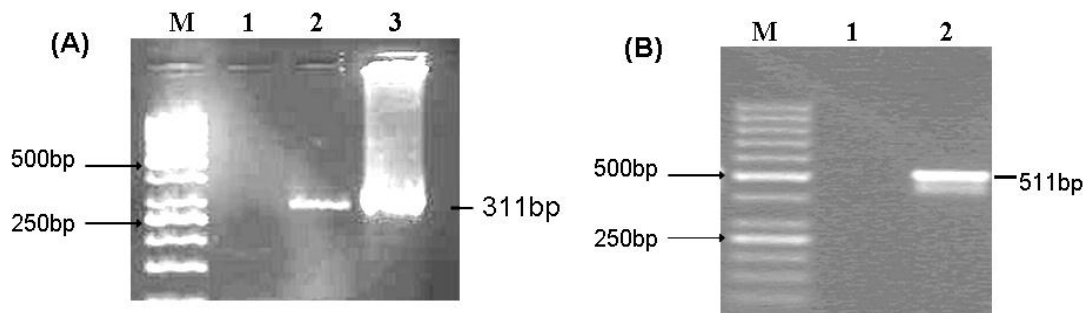
** Bệnh viện 103

Phản biện khoa học: GS. TS. Nguyễn Văn Mùi

hồng cầu $4,7 \times 10^{12}/l$, huyết sắc tố 128 g/l, hematocrit 0,404 l/l và tiểu cầu $51 \times 10^9/l$; giảm rõ rệt so với bình thường ($150 - 300 \times 10^9/l$).

Xét nghiệm sinh học phân tử: để phát hiện có hay không sự hiện diện của *Dengue virus* (DENV) hoặc *Chikungunya virus* (CHIKV) trong máu BN, kiểm tra DENV-ARN và CHIKV-ARN trong máu toàn phần bằng kỹ thuật Oncestep RT-PCR (revert transcription polymerase chain reaction). Tách và tinh sạch ARN của virus từ máu toàn phần, dùng kit chuẩn của hãng Qiagen (QIAamp RNA Blood Mini Kit). Oncestep RT-PCR là kỹ thuật sinh học phân tử có thể sử dụng để phát hiện sự hiện diện của virus trong máu BN. Kỹ thuật này cho phép phát hiện sớm virus, sau khoảng 3 - 7 ngày đầu sau nhiễm. Cặp primer phát hiện CHIKV được thiết kế bắt cặp đặc hiệu trên gen E1 của CHIKV là E1F: 5-ACCGGCGTCTACCC-ATTTATGTG3 và E1R: 5AGGGGCGGTAGTCATGTTG-3 (331bp). Sử dụng cặp primer D1 và D2 để

thiết kế đặc hiệu cho DENV để phát hiện DENV nhằm đảm bảo tính chính xác của kỹ thuật không xuất hiện dương tính giả, âm tính giả. Toàn bộ quá trình thực hiện kỹ thuật đảm bảo nghiêm ngặt theo đúng quy trình xét nghiệm sinh học phân tử, từ khâu lấy mẫu, tách chiết ARN, chuẩn bị phản ứng đến khuếch đại gen và kết thúc. Quá trình này sử dụng chứng dương của CHIKV là một plasmid bao gồm toàn bộ đoạn gen mã hóa cho protein màng E1 được tách dòng (cloning) trong vector pGOV4. Đây là plasmid nhận được từ Malaysia theo hợp tác nghiên cứu. Chứng dương của DENV được thiết kế chế tạo tại Trung tâm Y - Sinh - D- ợc Học viện Quân y, sử dụng sản phẩm rt-PCR là một đoạn gen của DENV, tách dòng trong vector pGEMT. Phản ứng RT-PCR sử dụng primer đặc hiệu cho kết quả BN có CHIKV- ARN dương tính và DENV-ARN âm tính (hình 1).

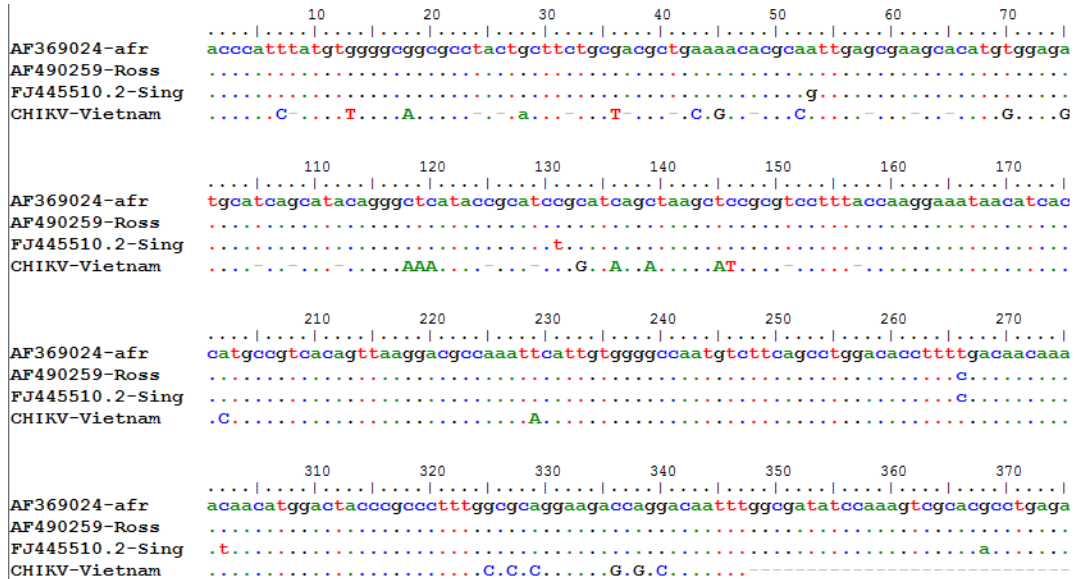


Hình 1: (A) Phản ứng RT-PCR phát hiện CHIKV-ARN trong máu BN. Từ trái qua phải: (M), Thang chuẩn ADN (50bp); (1) chứng âm; (2), BN; (3) chứng dương.

Hình ảnh cho thấy có sản phẩm cADN đặc hiệu tương ứng vị trí chứng dương 311 bp của CHIKV.

(B) Phản ứng RT-PCR dùng cặp primer đặc hiệu DENV (D1, D2) chứng minh không có DENV-ARN trong máu BN. M, thang chuẩn ADN 50 bp; (1) mẫu BN (âm tính); (2), chứng dương plasmid.

Để chứng minh chính xác sản phẩm ADN chính là của CHIKV trong máu BN, tiến hành giải trình tự gen và so sánh trên ngân hàng gen. Kết quả cho thấy chủng CHIKV ở BN trình tự nucleotid có tới 93% t-ong đồng so với các chủng CHIKV có nguồn gốc từ châu Phi (hình 2).



Hình 2: So sánh trình tự nucleotide của CHIKV phát hiện ở BN (CHIKV-VietNam). 93% số nucleotit t-ong đồng giữa trình tự gen của chủng CHIKV ở BN so với trình tự gen các chủng CHIKV nguồn gốc châu Phi. Trình tự gen tham chiếu AF359024, AF490259 và FJ445510.

CHIKV lần đầu tiên đ- ợc phát hiện ở BN ng- ời Tanzania, châu Phi có các triệu chứng lâm sàng giống SXH dengue. Trong đó, các biểu hiện khi nhiễm virus là sốt (100% những ca đ- ợc phát hiện ở Reunion), đau khớp (100%), đau cơ (97%), đau đầu (84%) và ban xuất huyết (33%). Các triệu chứng th- ờng xuất hiện từ 4 - 7 ngày sau khi bị muỗi đốt và có thể kết hợp với đau hạch, hội chứng rối loạn tiêu hóa và biểu hiện xuất huyết nhẹ. Ở Swahili, từ Chikungunya có nghĩa là bệnh có tổn th- ơng khớp gây t- thể đi còng. Hơn nữa, đau khớp th- ờng nặng và có thể kéo dài, khoảng 12% BN viêm khớp mạn tính kéo dài 3 năm sau khi bị nhiễm virus. Mặc dù phát hiện đầu tiên ở châu Phi, nh- ng CHIKV nhanh chóng gây các vụ SXH lớn ở các khu vực châu Phi và châu Mỹ. Gần đây, chúng gây ra những vụ dịch lớn ở châu Á và đặc biệt là các n- ớc Đông Nam Á nh- : Singapore, Thái Lan, Indonesia và Ấn Độ. CHIKV thuộc họ *Togaviridea*, nhóm *Alphavirus*. Bộ gen của CHIKV thuộc hệ gen RNA. Vector truyền bệnh là 2 loại muỗi *Aedes aegypti* và *Aedes albopictus*. Đây cũng chính là hai vector truyền bệnh chủ yếu của DENV. Đến nay, ch- a có công bố nào về việc phát hiện CHIKV ở BN ng- ời Việt Nam. Tuy nhiên, có một số nghiên cứu cho thấy tồn tại kháng thể kháng CHIKV trên những lính Mỹ và chó nghiệp vụ tham gia trong cuộc chiến tranh ở miền Nam Việt Nam. Một nghiên cứu gần đây cho thấy tỷ lệ I- u hành kháng thể kháng CHIKV trên ng- ời Việt Nam khỏe mạnh khoảng 24% ở Hà Nội. Nh- vậy, bùng nổ dịch SXH ở Việt Nam, ngoài nguyên nhân do DENV, còn một loại virus khác có thể cũng đóng vai trò gây bệnh là *Chikungunya*. Điều này chỉ ra tính phức tạp về nguyên nhân, diễn biến lâm sàng và bệnh sinh của bệnh đồng thời cảnh báo chúng ta cần chú trọng hơn về tình hình dịch SXH hiện nay. Cần có những nghiên cứu cơ bản và toàn diện bức tranh SXH do CHIKV ở n- ớc ta. Trên cơ sở đó đề ra những giải pháp ngăn chặn và điều trị bệnh SXH do DENV và CHIKV có hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bodenmann P, Genton B. Chikungunya, an epidemic in real time. Lancet. 2006, Vol 368, p.258
2. Carey, D. E. Chikungunya and dengue, a case of mistaken identity? J Hist Med Allied Sci. 1971, Vol 26, pp.243-262.
3. Charrel RN, de Lamballerie X, Raoult D. Chikungunya outbreaks-the globalization of vectorborne diseases. N Engl J Med. 2007, Vol 356, pp.769-771.
4. Kowalzik S, Xuan NV, Weissbrich B, Scheiner B, Schied T, Drosten C, Mýller A, Stich A, Rethwilm A, Bodem J. Characterization of a *chikungunya virus* from a German patient returning from Mauritius and development of a serological test. Med Microbiol Immunol. 2008, 197 (4), pp.381-386.
5. Robinson MC. An epidemic of virus disease in southern province, Tanganyka Territory, in 1952-1953. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1955, 49, pp.28-32.
6. Vu Xuan Nghia. Dr.med thesis: generation of tools to investigate *Chikungunya virus*. 2008.