

XÁC ĐỊNH CÁC TYPE ROTAVIRUS NHÓM A GÂY TIÊU CHẢY CẤP TRÊN BỆNH NHI DƯỚI 5 TUỔI TẠI BỆNH VIỆN TỈNH ĐẮK LẮK, NĂM 2009 – 2010

NGUYỄN HOÀNG QUÂN, NGUYỄN NGỌC HƯNG,
NGUYỄN THỊ TUYẾT VÂN và cs
Viện VSDT Tây Nguyên

ĐẶT VẤN ĐỀ:

Bệnh tiêu chảy cấp (TCC) là một triệu chứng rất phổ biến ở trẻ em, đặc biệt là trẻ dưới 5 tuổi, đây cũng là một trong những căn nguyên gây tử vong trong nhóm tuổi này. Có nhiều nguyên nhân gây TCC ở trẻ em, Rotavirus cũng là một trong những nguyên nhân.

Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), mỗi năm virus Rota gây nên khoảng 111 triệu trường hợp viêm dạ dày ruột cấp ở trẻ em với 25 triệu trẻ phải nhờ đến can thiệp y tế trong đó có 2 triệu trẻ em nhập viện và có từ 352.000 đến 592.000 trường hợp tử vong

Ở Việt Nam, đây là một bệnh khá phổ biến, đứng hàng thứ hai sau nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính ở trẻ em. Hàng năm tại Việt Nam có khoảng trên 600.000 trẻ em bị tiêu chảy cấp và có khoảng 2.700 – 5.400 trẻ em tử vong liên quan tới Rotavirus.

Tại Tây Nguyên đã có một số báo cáo về tỷ lệ nhiễm Rotavirus trên bệnh Nhi dưới 5 tuổi [5], tuy nhiên vẫn chưa có nghiên cứu đánh giá về các type Rotavirus lưu hành tại khu vực Tây Nguyên.

Xuất phát từ thực tế trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Xác định các type Rotavirus nhóm A trên bệnh nhi tiêu chảy cấp dưới 5 tuổi tại bệnh viện Đa Khoa Tỉnh Đắk Lắk, năm 2009 - 2010”.

ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng nghiên cứu:

- Bệnh nhi dưới 5 tuổi mắc tiêu chảy cấp điều trị tại khoa Nhi - BVĐK tỉnh Đắk Lắk. Thời gian thu thập mẫu từ tháng 3/2009 tới 4/2010, số mẫu thu thập được là 385 mẫu.

Vật liệu:

- Bệnh phẩm phân được lấy bằng tăm bông ngoáy hậu môn, cho vào môi trường dung dịch đệm (Buffer Rotavirus), bảo quản ở 4 - 8°C chuyển về phòng thí nghiệm.

- Test nhanh xác định Rotavirus (Bio Rad)

- Bộ kit tách chiết RNA (QIAGEN), sinh phẩm sử dụng cho phản ứng PCR (QIAGEN - One step RT PCR kit)

- Các Primer dùng cho phản ứng xác định đoạn VP4, VP7, các phân type G1, G2, G3, G4, G9, P4, P6, P8.

2. Phương pháp nghiên cứu:

Mẫu phân được xác định dương tính bởi test nhanh Pastorex Rotavirus Code 52200 - BioRad.

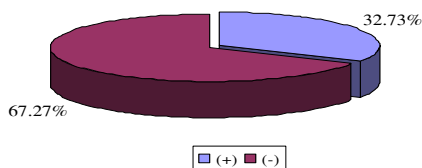
Các chủng được xác định dương tính đạt yêu cầu là bệnh nhi dưới 5 tuổi được tiến hành tách chiết RNA và nhân bản gen bằng phương pháp PCR để xác định type Rotavirus.

Xử lý số liệu bằng phần mềm EPI INFO 2002

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ NHẬN XÉT

1. Kết quả xét nghiệm bằng test nhanh (ngưng kết hạt latex):

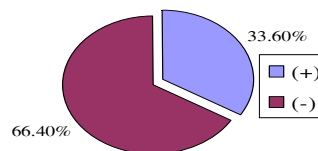
Xét nghiệm 385 mẫu bằng kỹ thuật ngưng kết hạt latex, có 126 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ 32,73%.



Biểu đồ 1: Tỷ lệ dương tính Rotavirus bằng test nhanh

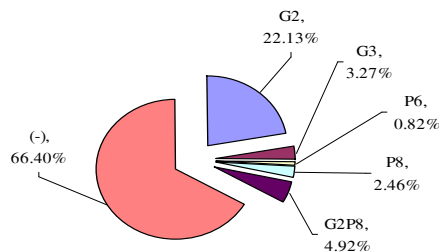
2. Kết quả xét nghiệm xác định type Rotavirus bằng PCR:

Trong số 126 mẫu dương tính bằng test nhanh thu được, chỉ sử dụng để định type Rotavirus bằng kỹ thuật PCR là 122 mẫu (có 4 mẫu > 5 tuổi). Số mẫu xác định được type là 41 mẫu đạt tỷ lệ 33,60%. Các type Rotavirus xác định được là G2, G3, P6, P8 và type hỗn hợp G2P8.



Biểu đồ 2: Tỷ lệ (+) với Rotavirus bằng PCR

Trong số 41 mẫu xác định được type có 27 type G2, 4 G3, 1 P6, 3 P8 và 6 type hỗn hợp G2P8



Biểu đồ 3: Tỷ lệ (+) với các phân type G, P

3. Một số các yếu tố liên quan tới tỷ lệ dương tính các type Rotavirus:

Bảng 1. Các yếu tố liên quan tới tỷ lệ dương tính các type Rotavirus

	n	(+) /n	%	Type Rotavirus (n)				
				G2	G3	P6	P8	G2P8
Nam	83	29	34,94	18	2	1	3	5
Nữ	39	12	30,77	9	2	0	0	1
Kinh	100	33	33,0	24	2	1	1	5
Dân tộc	22	8	36,36	3	2	0	2	1
≤ 24 tháng	97	33	34,02	23	3	1	1	5
2 – 5 tuổi	25	8	32,00	4	1	0	2	1
Mùa khô	93	24	25,80	12	3	1	3	5
Mùa mưa	29	17	58,62	15	1	0	0	1
Tp. Buôn Ma Thuột	53	19	35,85	15	2	0	1	1
Huyện	69	22	31,88	12	2	1	2	5
Tổng	122	41	33,60	27	4	1	3	6

Tỷ lệ dương tính ở giới nam là 34,94%, tỷ lệ dương tính ở nữ là 30,77%. Các type xác định được ở nam là G2, G3, P6, P8 và type hỗn hợp G2P8. Các type ở nữ là type G2, G3 và 1 type hỗn hợp G2P8. Type G2 chiếm ưu thế ở cả nam và nữ.

Tỷ lệ nhiễm Rotavirus ở người Kinh là 33,00%, ở người dân tộc là 36,36%. Tuy nhiên ở người Kinh mẫu dương tính với type G2 chiếm ưu thế hơn so với trẻ em người dân tộc.

Tỷ lệ nhiễm Rotavirus ở nhóm ≤ 24 tháng tuổi là 34,02% tương đương với nhóm từ 2 – 5 tuổi là 32,00%. Type G2 và type hỗn hợp G2P8 ở trẻ ≤ 24 tháng tuổi chiếm ưu thế, type P6 chỉ phát hiện được 1 mẫu duy nhất ở trẻ trong nhóm tuổi từ 2 – 5.

Chúng tôi tiến hành thu thập mẫu theo 2 mùa, mùa mưa (từ tháng 4 đến tháng 9) với 29 mẫu chiếm 23,77%, trong khi đó mùa khô (từ tháng 10 đến tháng 3 năm sau) số mẫu chiếm đa số với 93 mẫu, chiếm 76,23%.

Tỷ lệ nhiễm Rotavirus trong mùa mưa là 58,62% cao hơn mùa khô là 25,80%. Sự khác biệt này có ý nghĩa với $\chi^2 = 10,67$ và $p = 0,001 < 0,05$.

Trong mùa mưa, tháng 6 và tháng 7 tỷ lệ dương tính với Rotavirus nhóm A là cao nhất với 3(+)/3 và 8(+)/8.

Các type Rotavirus xác định được ở hai vùng không có sự khác biệt nhau. Tuy nhiên ở khu vực các huyện type hỗn hợp G2P8 chiếm ưu thế hơn.

BÀN LUẬN:

Trong số 122 mẫu dương tính nghiên cứu, chúng tôi chỉ nghiên cứu với 5 cặp mỗi xác định G type (G1, G2, G3, G4 và G9) và 3 cặp mỗi xác định P type (P4, P6 và P8), kết quả thu nhận được với 41 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 33,6%, trong đó chỉ thu được chủ yếu là type G2 với 27 mẫu chiếm tỷ lệ 66,51%, các type

G3, P6, P8 và type hỗn hợp G2P8 lần lượt là 9,75%, 2,44%, 7,31% và 14,63%. Nghiên cứu của chúng tôi không thấy xuất hiện type G1, G4, G9 và P4 như một số khu vực khác của Việt Nam. Để khẳng định điều này cần có thêm một số nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để định được các phân type lưu hành tại Tây Nguyên.

Trong số mẫu dùng để định type Rotavirus của chúng tôi, số trẻ < 2 tuổi là 97 trẻ chiếm tỷ lệ là 79,5% và chỉ có 34,2% dương tính, nhóm tuổi > 2 là 25 trẻ tỷ lệ là 20,5% tổng số mẫu nhưng lại có tới 32% số mẫu dương xác định được type. Điều này không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,85 > 0,05$.

Số mẫu thu thập trong thời gian mùa khô (đông - xuân) là 93 mẫu chiếm tỷ lệ 76,23% tuy nhiên số mẫu định type được chỉ có 24 mẫu đạt 25,8%. Số mẫu thu thập trong thời gian mùa mưa (hè - thu) là 29 mẫu chiếm tỷ lệ 23,77% nhưng số mẫu dương tính lại đạt tới 58,62%. Kết quả này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ ($p = 0,001$).

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận:

- Tỷ lệ dương tính với Rotavirus nhóm A xác định bằng RT – PCR là 33,60% (41(+)/ 122). Có 4 phân type được xác định là G2: 22,13%, G3: 3,28%, P6: 0,82%, P8: 2,46% và 1 type hỗn hợp G2P8: 4,92%.

- Lứa tuổi mắc nhiều nhất là trẻ ≤ 24 tháng tuổi với các phân type xác định được là G2, G3, P6, P8 và type hỗn hợp G2P8 trong đó type G2 chiếm ưu thế hơn với 23(+)/ 33(+).

- Mới chỉ phát hiện được 3 type là G2, G3 và G2P8 trong nhóm trẻ nữ, trong khi đó nhóm trẻ nam phát hiện được cả 5 phân type là G2, G3, P6, P8 và G2P8. Type G2 vẫn chiếm ưu thế hơn cả.

- Chưa phát hiện thấy type P6 trên trẻ sinh sống tại Tp. Buôn Ma Thuột, trong khi đó tại các huyện phát hiện được cả 5 type là G2, G3, P6, P8 và G2P8.

2. Kiến nghị:

Cần tiếp tục mở rộng hơn về địa điểm nghiên cứu trong khu vực Tây Nguyên, đồng thời với thời gian lâu hơn để xác định được các type Rotavirus nhóm A gây tiêu chảy cấp trên trẻ em dưới 5 tuổi hiện đang lưu hành.

DETERMINING THE TYPE ROTAVIRUS GROUP A CAUSE DIARRHEA DISEASE IN CHILDREN UNDER 5 YEARS IN HOSPITAL DAK LAK PROVINCE, 2009 – 2010

SUMMARY

Acute diarrhea is a very common symptom in children, particularly children under 5 years of age, this is one of the causes of death in this age group. Of the 122 positive samples studied, we only study with 5 primers determined G type (G1, G2, G3, G4 and G9) and three primer pairs to determine P type (P4, P6 and P8), Results acquired with 41 positive samples accounted for 33.6%, of which only obtained mainly type G2 with 27 samples accounting for 66.51%, the type G3, P6, P8, and mixed type G2P8 respectively 9.75%, 2.44%, 7.31% and

14.63%. Children <2 years of age is the primary object of Rotavirus infection. The dry season (winter-spring in the Central Highlands) is the amount of time children cases of Rotavirus much in years.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Lê Huy Chính, *Tiêu chảy do virus Rota nhóm A ở trẻ em dưới 5 tuổi sống tại Hà Nội*, Tạp chí Y học Dự phòng, 2004, tập XIV, số 1 (65) Phụ bản.

2. Cục Y tế Dự phòng, *Bệnh tiêu chảy do Rotavirus*, 2009, <http://vncdc.gov.vn>.

3. Nguyễn Ngọc Hưng, *Căn nguyên vi khuẩn, virus gây tiêu chảy cấp ở trẻ em dưới 5 tuổi tại các bệnh viện tỉnh Đak Lak, Gia Lai, Kon Tum (2002 – 2004)*, Báo cáo tổng kết đề tài khoa học - công nghệ cấp cơ sở, Viện Vệ Sinh Dịch Tễ Tây Nguyên, ĐakLak, 2005.

4. Hà Vinh và cộng sự, *Nhận xét về bệnh tiêu chảy trẻ em do Rotavirus tại bệnh viện Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh*, tháng 10/ 2009.

5. CDC, *Rotavirus surveillance – worldwide, 2001 – 2008*, Weekly, November 21, 2008/ 57 (46); 1255 – 1257.

6. C J Atchison et al., *Clinical laboratory practices for the detection of rotavirus in England and Wales*, Eurosurveillance, Vol 14, Issue 20 - 21 May 2009.

7. Daniel J. Distefano et al., *Novel Rotavirus VP7 typing assay using a One step reverse transcriptase PCR protocol and product sequencing and utility of the assay for epidemiological studies and strain characterization, including serotype subgroup analysis*, Dec 2005, Journal of clinical virology, Vol 43, No 12, page 5876 – 5880.

8. Jung Oak Kang et al., *G and P genotyping of human Rotavirus isolated in a University hospital in Korea: Implications for Nosocomial infections*, J Korean, Med Sci 2006; 21: 983.

9. Julius Tieroyaare Dongdem et al., *Detection and characterization of human rotavirus in tap water by multiplex RT – PCR*, July 2010, Journal of medicine and medical sciences, Vol 1(6), page 223 – 230.

10. *Proceedings of the Asia - Pacific Rotavirus Metaforum*, November, 2007, Bangkok, Thailand.