Sự lưu hành và tính kháng thuốc của virus cúm mùa ở khu vực phía Nam Việt Nam giai đoạn 01/2020 - 06/2021

The prevalence and drug resistance of seasonal influenza viruses in Southern Vietnam, 01/2020 - 06/2021

Phạm Thị Nhung[1,2], Nguyễn Trung Hiếu[2], Nguyễn Thị Ngọc Thảo[2], Nguyễn Hoàng Anh[2], Hoàng Minh[2], Đặng Thanh Giang[1,2], Nguyễn Thị Thanh Thương[2], Trần Thị Hồng Kim[2], Nguyễn Thu Ngọc[2*]

[1]Trường Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
[2]Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
[*]Tác giả liên hệ, Email: ngocpas@gmail.com

THÔNG TIN

DOI:10.46223/HCMCOUJS.proc.vi.17.2.2493.2022

Ngày nhận: 28/09/2022

Ngày nhận lại: 10/10/2022

Duyệt đăng: 11/10/2022

Từ khóa:

kháng thuốc; oseltamivir; virus cúm mùa; zanamivir

TÓM TẮT

Cho đến nay, virus cúm mùa lưu hành được phát hiện chủ yếu gồm virus cúm A(H1N1pdm09), A(H3N2) và virus cúm tuýp B. Vấn đề đáng quan ngại là đã có sự lưu hành các chủng virus cúm đề kháng lại các thuốc kháng virus (như Oseltamivir, Zanamivir, …) gây ra những trở ngại trong điều trị. Trong giai đoạn 01/2020 - 06/2021 khu vực Miền Nam Việt Nam, 1,154 mẫu bệnh phẩm có triệu chứng cúm đã được thu thập theo định nghĩa ca bệnh (Bộ Y Tế, 2017, 2020). Sử dụng phương pháp Real-time RT PCR để xác định phân tuýp virus cúm. Kết quả giám sát xác định tỉ lệ dương tính với cúm A(H3N2), A(H1N1pdm09) và virus cúm B lần lượt là 78.8%, 14.42%, 6.73%. Kết quả phân tích thống kê mô tả cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ mắc cúm mùa ở các nhóm tuổi ($p = 0.219 > 0.05$) cũng như ở nhóm nam và nữ ($p = 0.239 > 0.05$). Bằng phương pháp nuôi cấy đã phân lập được 27 chủng virus chiếm tỷ lệ 25.9%, trong đó gồm 18 chủng virus cúm A(H3N2) (21.9%), 06 chủng virus A(H1N1pdm09) (40%) và 03 virus cúm B 42.8%. Bằng phương pháp ngăn ngưng kết hồng cầu (Hemagglutination inhibition test - HI), chúng tôi đã xác định các chủng virus cúm lưu hành là A(H1N1pdm09) (A/Brisbane/02/2018), A(H3) (A/Kansas/14/2017), B (Vic. Lineage) (B/Colorado/06/2017) và B (Yam. Lineage) (B/Phuket/3073/2013) có hiệu giá HI tương tự các chủng chuẩn theo khuyến cáo của WHO. Kết quả kiểm tra hoạt tính kháng thuốc bằng phương pháp Neuraminidase inhibition test (NI) cho thấy 100% các chủng phân lập được đều nhạy với thuốc Oseltamivir và Zanamivir. Các kết quả này chỉ ra rằng sự lưu hành của các chủng cúm mùa tại miền Nam Việt Nam khá tương đồng với các nước trong khu vực Đông Nam Á và chưa phát hiện được sự hiện diện của các chủng virus cúm mùa kháng thuốc trong cộng đồng. Do đó, cần duy trì và mở rộng hệ thống giám sát virus cúm mùa trong thời gian tới.

Keywords:

drug resistance; oseltamivir; seasonal influenza virus; zanamivir

ABSTRACT

Up to date, circulating influenza viruses have been detected consisting of A(H1N1pdm09), A(H3N2), and B viruses. Concerningly, resistant strains of the influenza virus caused treatment obstacles that have been circulating. Over two periods, between 01/2020 and 06/2021, 1,154 samples were collected from influenza symptom patients in Southern Vietnam. Using real-time RT-PCR (rRT-PCR) assays for detection of influenza viruses subtype. The results showed that the percentages for A(H3N2), A(H1N1pdm09), and B virus were 78.8%, 14.42%, and 6.73%, respectively; There was no difference in the incidence of seasonal influenza in the age groups ($p = 0.219 > 0.05$) as well as in the male and female groups ($p = 0.239 > 0.05$). By culture method, 27 strains of the virus were isolated, accounting for 25.9%. Out of 27 virus samples, there were 18 of A(H3N2) (21.9%), 06 of A(H1pdm09) (40%), and 03 of B (42.8%). Using the Hemagglutination Inhibition test (HI), we have identified circulating influenza virus strains as A(H1N1pdm09) (A/Brisbane/02/2018), A(H3) (A/Kansas)/14/2017), B (Vic. Lineage) (B/Colorado/06/2017) and B (Yam. Lineage) (B/Phuket/3073/2013). These HI titers of the strains were similar to those of the reference strains recommended by WHO. The Neuraminidase inhibition test (NI) results showed that one hundred percent of isolates were sensitive to oseltamivir and zanamivir.

These results indicate that the circulation of seasonal influenza strains in South Vietnam is quite similar to other countries in Southeast Asia, and the presence of drug-resistant strains of the seasonal influenza virus has not been detected in the community. Therefore, it is necessary to maintain and expand the seasonal influenza virus surveillance system in the coming time.

1. Đặt vấn đề

Virus cúm thuộc họ Orthomyxoviridae. Bộ gen của virus cúm là RNA mạch đơn âm và được chia thành 03 tuýp A, B, C (Horwood & ctg., 2019). Trong đó, virus cúm tuýp A được chia thành nhiều thứ tuýp dựa trên hai protein bề mặt là Hemaglutinin (HA) và Neuraminidase (NA); hiện có 18 HA (H1 - H18) và 11 NA (N1 - N11) (Hutchinson, 2018). Hằng năm, có khoảng 03 đến 05 triệu ca bệnh nặng và 290,000 đến 650,000 ca tử vong do cúm (Iuliano & ctg., 2018). Trong đó virus cúm A được quan tâm nghiên cứu nhiều hơn bởi khả năng gây đột biến kháng nguyên hay tái sắp xếp bộ gen của virus có nguồn gốc từ lợn và gia cầm với virus có nguồn gốc từ người tạo nên các chủng virus cúm mới là nguyên nhân gây nên các đại dịch cúm toàn cầu (Boni, 2008; Doud, Hensley, & Bloom, 2017).

Từ năm 2009 đến nay, virus cúm mùa lưu hành được phát hiện chủ yếu gồm virus cúm A(H1N1pdm09), A(H3N2) và virus cúm tuýp B (Forrest & Webster, 2010). Các biện pháp phòng ngừa và điều trị bệnh cúm hữu hiệu hiện nay gồm tiêm phòng vaccine cúm mùa và dùng thuốc kháng virus (Oseltamivir, Zanamivir, …). Hiện nay, tiêm phòng vaccine trở nên kém hiệu quả do các chủng virus cúm mùa lưu hành thường thay đổi đặc tính kháng nguyên, dẫn đến đáp ứng miễn dịch của cơ thể vật chủ giảm theo thời gian, tùy theo đặc điểm của mỗi người (sức khỏe, độ tuổi)

khác nhau sẽ có đáp ứng miễn dịch khác nhau gây ra những khó khăn nhất định trong việc phòng bệnh (Kemmerly, 2000). Trên thế giới và tại Việt Nam đã và đang xuất hiện hiện tượng các chủng virus cúm đề kháng lại các thuốc kháng virus. Các đột biến tại vị trí H275Y, E119V, D198N, I222, R292K trên gen NA đã cho thấy đề kháng với thuốc Oseltamivir, Zanamivir. Khoảng 0.5-10% virus A(H1N1pdm09) đề kháng với Oseltamivir (McKimm-Breschkin, 2013). Do đó, nghiên cứu sự lưu hành của các chủng virus cúm dựa trên đặc điểm kiểu hình là cơ sở dữ liệu quan trọng cho việc sản xuất vaccine trong những năm tới và xác định được tỉ lệ kháng thuốc của virus cúm mùa sẽ hỗ trợ rất nhiều trong công tác điều trị cũng như trong phòng chống dịch bệnh.

Trong thời gian có giới hạn, chúng tôi xác định chủng virus cúm mùa đang lưu hành ở khu vực miền Nam Việt Nam giai đoạn 01/2020 - 06/2021; đồng thời xác định tỉ lệ kháng đối với các thuốc Oseltamivir và Zanamivir của các chủng virus cúm phân lập được, với mục tiêu phân tích sự lưu hành và đặc điểm kháng thuốc của virus cúm mùa tại miền Nam Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu ngoáy họng - mũi được thu thập từ bệnh nhân có hội chứng nghi nhiễm cúm tại hai tỉnh Đồng Nai và Tiền Giang và các mẫu ngoáy họng - mũi của bệnh nhân viêm phổi nặng của các tỉnh thuộc khu vực phía nam Việt Nam từ tháng 01/2020 đến 06/2021 được sử dụng để xác định sự lưu hành của virus cúm mùa.

Các mẫu cúm được phân lập và định danh tại phòng Virus Hô hấp - Viện Pasteur ,Thành phố Hồ Chí Minh được sử dụng để xác định đặc điểm kháng thuốc của virus cúm mùa.

2.2. Địa điểm lấy mẫu và thời gian nghiên cứu

Thu thập mẫu từ các địa điểm thuộc hệ thống giám sát Cúm, bao gồm: Giám sát hội chứng cúm: từ bệnh viện Đa khoa huyện Xuân Lộc, tỉnh Đồng Nai và bệnh viện Đa khoa huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang; Giám sát viêm phổi nặng: Ở tất cả các bệnh viện ở khu vực miền Nam.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01 năm 2020 - tháng 06 năm 2021.

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả theo dõi loạt ca bệnh.

2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu

Loại mẫu: mẫu ngoáy họng - mũi.

Số lượng mẫu thu thập theo quy định của chương trình giám sát: 10 mẫu/ điểm giám sát/ tuần x 52 tuần/ năm = 520 mẫu/ điểm giám sát/ năm. Tuy nhiên, số lượng mẫu thực tế nhận được ở các năm là:

Năm 2020: 955 mẫu.

Năm 2021: 199 mẫu.

2.5. Phương pháp chọn mẫu

Việc giám sát hội chứng cúm được thực hiện theo quyết định số 4068/QĐ-BYT, với số lượng mẫu được thu thập là 10 mẫu/ điểm giám sát/ tuần, được tiến hành trong 52 tuần của năm. Như vậy có 520 mẫu/điểm giám sát/năm (Bộ Y Tế, 2017).

Việc giám sát viêm phổi nặng được thực hiện bằng cách thu thập tất cả các trường hợp thỏa mãn theo định nghĩa ca bệnh, thực hiện theo quyết định số 5372/QĐ-BYT (Bộ Y Tế, 2020).

Tất cả các mẫu bệnh phẩm được chuyển về Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh để tiến hành các kỹ thuật xét nghiệm cũng như thực hiện các phân tích về đặc điểm lưu hành và đặc điểm kháng thuốc của virus cúm mùa.

2.6. Phương pháp thu thập thông tin

2.6.1. Phương pháp tách chiết nucleic acid

Bộ gen virus được tách chiết từ 200µl môi trường vận chuyển chứa bệnh phẩm. Quy trình tách chiết được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng bộ kít tách chiết QIAamp RNA Mini Kit (QIAGEN).

2.6.2. Phương pháp Real-time RT-PCR

Tất cả các mẫu bệnh phẩm gốc được xét nghiệm để xác định tuýp A hoặc B bằng kỹ thuật real-time RT-PCR với bộ mồi và đầu dò là CDC Influenza Virus Real-Time RT-PCR A/B Typing Panel kit được cung cấp bởi US-CDC (Atlanta, USA). Sinh phẩm thực hiện phản ứng được chuẩn bị bằng cách phối trộn các thành phần của bộ sinh phẩm AgPath-ID^{TM} One Step RT-PCR theo hướng dẫn của US-CDC. Mẫu được khuếch đại và được phân tích trên hệ thống 7,500 Fast realtime PCR system (ABI) hoặc LightCycler480 II (Roche).

Các mẫu dương tính với cúm A thì tiếp tục được xác định phân tuýp (A/H1pdm09 hoặc A/H3) với kỹ thuật và hệ thống máy như mô tả ở trên. Bộ mồi và đầu dò được sử dụng để xác định phân tuýp là CDC Influenza Virus Real-time RT-PCR Subtyping Influenza A (H3/H1pdm09) Panel kit (Atlanta, USA).

2.6.3. Phân lập virus, xác định hiệu giá virus, kiểu hình của virus cúm

Các mẫu bệnh phẩm sau khi được xác định dương tính với virus cúm bằng kỹ thuật real-time RT-PCR thì được nhân lên trên dòng tế bào thường trực MDCK/MDCK-SIAT có bổ sung trypsin (TPCK) ngoại sinh. 200µl mẫu bệnh phẩm được ủ vào tế bào lớp đơn đã được nhân lên trên các chai 25cm^2, ở 37^{0}C và bổ sung thêm 5ml môi trường DMEM 2% FBS (bổ sung trypsin-TPCK đạt nồng độ cuối 4µg/ml). Sau 05 ngày, quan sát sự hủy hoại tế bào và thực hiện kỹ thuật HA (phản ứng ngưng kết hồng cầu) giúp xác định hiệu giá virus của mẫu nuôi cấy. Dựa trên cơ chế kết hợp giữa kháng thể và kháng nguyên, phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu HI nhằm xác định kiểu hình của virus cúm mùa (WHO, 2019).

2.6.4. Xác định đặc điểm kháng thuốc của virus cúm bằng kỹ thuật neuraminidase inhibition test (NI)

NA-Fluor Subtrate chứa phân tử 2'-(4- Methylumbelliferyl)-α-D-N-Acetylneuraminic acid (4-MUNANA) không phát quang khi tác dụng với enzyme Neuraminidase tạo ra sản phẩm α-D-N-acetylneuraminic acid (4-MU), sản phẩm này bị kích thích ở bước sóng 355nm, phát quang ở bước sóng 460nm. Hàm lượng phát quang tương ứng với hoạt tính enzyme của virus (Fisher, 2019).

Virus được pha loãng và được trộn với 02 loại thuốc Oseltamivir, Zanamivir ở các nồng độ khác nhau, ủ 45 phút ở 37°C. Tiếp theo là cho dung dịch cơ chất 2X NA-Fluor Subtrate vào các giếng trên ủ 01 giờ ở 37°C. Bổ sung dung dịch dừng phản ứng NA Flour Stop, sau đó đọc kết quả ở bước sóng 355/460nm. Tính giá trị IC50 bằng phần mềm JASPRv1.2

2.7. Xử lý và phân tích số liệu

Tất cả thông tin được xử lý và phân tích thống kê bằng phần mềm Excel, kiểm định tính độc lập dùng hàm Chitest trong Excel.

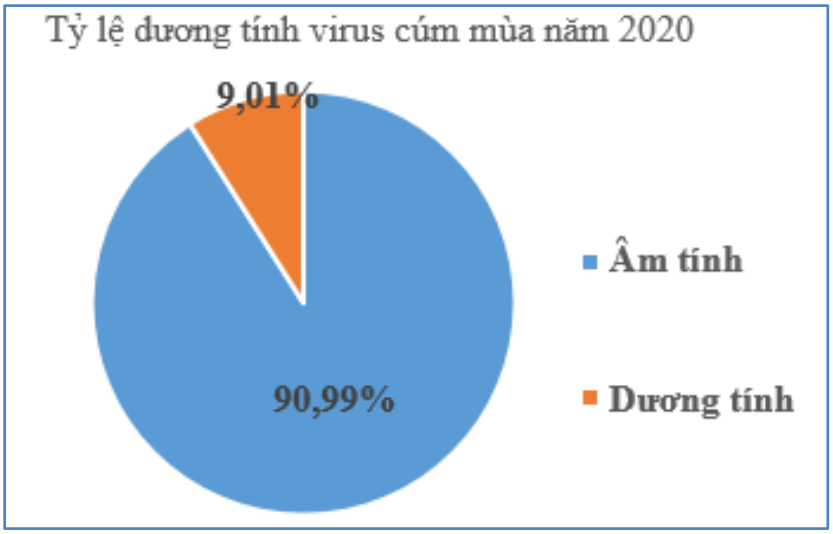
2.8. Đạo đức nghiên cứu

Chỉ những trường hợp thỏa định nghĩa ca bệnh mới được lựa chọn vào chương trình giám sát. Tất cả các thông tin của bệnh nhân đều được bảo mật, các mẫu bệnh phẩm được mã hóa thành mã phòng thí nghiệm.

3. Kết quả và thảo luận

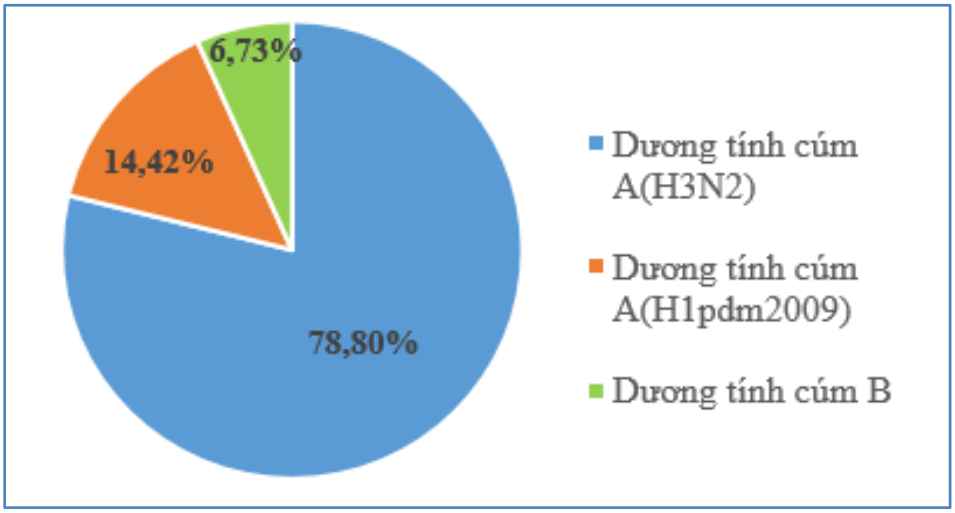
3.1. Tỷ lệ dương tính với virus cúm mùa theo từng phân tuýp năm 2020 - 2021

Ứng dụng kỹ thuật Real-time RT - PCR chẩn đoán sàng lọc tỷ lệ mắc virus cúm mùa của tổng 1,154 mẫu ngoáy họng. Trong đó các mẫu có hội chứng cúm thu được tại hai điểm giám sát là tỉnh Tiền Giang và tỉnh Đồng Nai và các mẫu viêm phổi nặng trong giai đoạn tháng 01 năm 2020 đến tháng 12 năm 2020 là 955 mẫu. Các mẫu có hội chứng cúm trong giai đoạn tháng 01 năm 2020 đến tháng 06 năm 2021 là 259 mẫu. Độ tuổi của bệnh nhân dao động từ 04 tháng tuổi đến 82 tuổi (với độ tuổi trung bình là 30.2 tuổi), trong đó nam giới chiếm tỷ lệ 51.1% và nữ giới là 48.9%. Kết quả thí nghiệm có 104 mẫu (trong tổng số 1,154 mẫu ngoáy họng) được xác định dương tính với virus cúm A(H1N1pdm09 và H3N2), B chiếm tỷ lệ 9.01% chủ yếu tập trung vào năm 2020 (Hình 1). Trong năm 2021 có 199 mẫu hội chứng cúm, toàn bộ các mẫu này âm tính với virus cúm mùa.



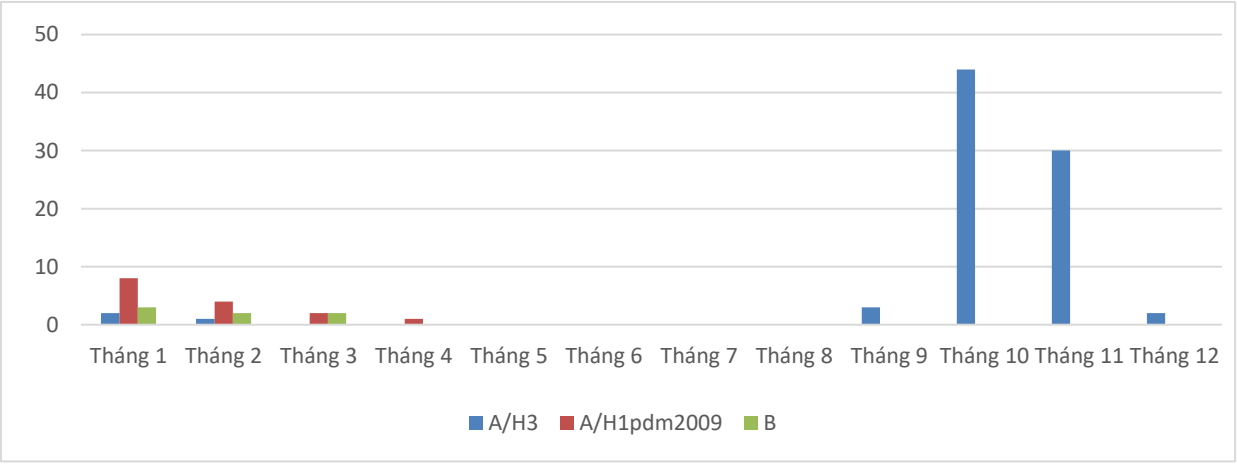
Hình 1. Tỷ lệ dương tính của virus cúm mùa năm 2020

Trong số 104 mẫu được xác định dương tính với cúm mùa trong năm 2020, tỷ lệ dương tính với virus cúm A(H3N2) được xác định lần lượt là 82 mẫu (chiếm tỷ lệ 78.8%) cao hơn so với phân tuýp A(H1N1pdm09) có 15 mẫu (chiếm tỷ lệ 14.42%), tỷ lệ dương tính với virus cúm B là 07 mẫu (chiếm tỷ lệ 6.73%) (Hình 2).



Hình 2. Tỉ lệ các subtype dương tính với virus cúm mùa

Nước ta có khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng ẩm, mưa nhiều ở Việt Nam nói chung và hai tỉnh Đồng Nai và Tiền Giang nói riêng là điều kiện thuận lợi cho virus cúm lưu hành và phát triển. Ở Việt Nam tỷ lệ các ca mắc cúm diễn ra thường xuyên và quanh năm kéo dài xuyên suốt từ tháng 01 đến tháng 12 và đạt đỉnh điểm vào các thời điểm giao mùa (tháng 01 đến đầu tháng 03 hoặc tháng 09 đến đầu tháng 11). Kết quả giám sát sự phân bố cúm mùa theo tháng giai đoạn 2020 (Hình 2) cho thấy từ tháng 01 - 04 có sự xuất hiện của các ca cúm mùa. Vào tháng 01 phân tuýp A(H1N1pdm09) chiếm 61.5% (08/13 ca), cúm B chiếm 23% (03/13 ca), và phân tuýp A(H3N2) chiếm 15.3% (02/13 ca). Tháng 02 cũng xuất hiện 03 phân tuýp trên. Tuy nhiên đến tháng 03 không có sự xuất hiện cúm A(H3N2) nữa. Vào tháng 04 chỉ có một ca A(H1N1pdm09). Từ tháng 05 - tháng 08, chúng tôi nhận thấy không có sự xuất hiện của cúm mùa. Nhìn vào biểu đồ cho thấy, từ tháng 09 - tháng 12 có sự xuất hiện của cúm A(H3N2). Số lượng dương tính với cúm A(H3N2) đạt đỉnh vào tháng 10 (44 ca) và tháng 11 (30 ca) (Hình 3)



Hình 3. Số ca mắc của virus cúm mùa theo tháng năm 2020

3.2. Kết quả phân tích phân loại cúm theo nhóm tuổi và giới tính

Theo kết quả thống kê trong Bảng 1, nhóm 0 - 14 tuổi có tỷ lệ mắc cao nhất (37.5%), tiếp đến lần lượt là nhóm 30 - 64 tuổi (31.7%) và nhóm 15 - 29 tuổi (18.2%), nhóm tuổi có tỷ lệ mắc cúm mùa thấp nhất là ≥ 65 tuổi (12.5%). Xét tỷ lệ mắc cúm mùa theo từng phân tuýp của các nhóm tuổi vẫn có sự khác biệt về tỷ lệ mắc cúm A(H1N1pdm09), A(H3N2)N2, B ở các nhóm tuổi.

Bảng 1

Kết quả tỷ lệ dương tính với virus cúm mùa theo từng phân tuýp ở các nhóm tuổi khác nhau

Nhóm tuổi bệnh nhân	**Số (%) dương tính với virus cúm mùa**				
	A(H3N2)	**A(H1N1pdm09)**	**B**	**Toàn bộ virus cúm mùa**	
0 - 14	31 (37.8%)	6 (40%)	2 (28.6%)	39 (37.5%)	Chitest p = 0.219
15 - 29	17 (20.7%)	1 (6.6%)	1 (14.2%)	19 (18.2%)	
30 - 64	26 (31.7%)	6 (40%)	1 (14.2%)	33 (31.7%)	
≥ 65	8 (9.7%)	2 (13.3%)	3 (42.8%)	13 (12.5%)	
Tổng	82 (100%)	15 (100%)	7 (100%)	104 (100%)	

Trong phân tuýp H3N2, nhóm tuổi 0 - 14 tuổi có tỷ lệ mắc cúm cao nhất (37.8%), kế đến là nhóm 30 - 64 tuổi (31.7%), thấp nhất vẫn là nhóm ≥ 65 tuổi. Trong phân tuýp A(H1N1pdm09) tuổi 0 - 14 và nhóm 30 - 64 tuổi có tỷ lệ mắc cúm cao nhất (40%), thấp nhất vẫn là nhóm 15 - 29 tuổi. Còn đối với virus cúm B, nhóm ≥ 65 tuổi có tỷ lệ mắc cúm cao nhất (42.8%), thấp nhất vẫn là nhóm 15 - 29 tuổi và nhóm 30 - 64 tuổi (14.2%). Thống kê cho thấy tất cả các nhóm tuổi đều có ca mắc virus cúm mùa, không có sự khác biệt về tỷ lệ mắc cúm mùa ở các nhóm tuổi ($p = 0.219 > 0.05$).

Trường hợp phân tích theo giới tính, kết quả Bảng 2 cho thấy: Trong 104 ca dương tính với virus cúm mùa, nam giới chiếm tỷ lệ 53.8% và nữ giới chiếm 46.2%, đối với phân tuýp A(H3N2) tỷ lệ mắc cúm ở nam giới (51.2%), nữ giới (48.8%), còn tỷ lệ mắc cúm A(H1N1pdm09) ở nam giới (73.3%) và nữ giới (26.7%), còn đối với cúm B ở nam giới (42.9%) và nữ giới (57.1%). Phân tích thống kê ghi nhận các nhóm nam và nữ đều có ca mắc virus cúm mùa, không có sự khác biệt về tỷ lệ mắc cúm mùa ở các nhóm nam và nữ ($p = 0.239 > 0.05$).

Bảng 2

Kết quả tỷ lệ dương tính với virus cúm mùa theo giới tính

Giới tính		**Số (%) dương tính với virus cúm mùa**			
	A(H3N2)	**A(H1N1pdm09)**	**B**	**Toàn bộ**	Chitest p = 0.239
Nam	42 (51.2%)	11(73.3%)	3 (42.9%)	56 (53.8%)	
Nữ	40 (48.8%)	4 (26.7%)	4 (57.1%)	48 (46.2%)	

3.3. Kết quả phân lập và định tuýp virus cúm mùa

Chúng tôi đã phân lập được 27 chủng virus từ 104 mẫu bệnh phẩm dương tính, tỷ lệ phân lập trung bình là 25.9%, gồm 18 chủng virus cúm A(H3N2) (21.9%), 06 chủng virus A(H1pdm09) (40%) và 03 virus cúm B 42.8% (Bảng 3).

Bảng 3

Kết quả phân lập virus cúm mùa theo phân tuýp 2020 - 2021

Virus	**Số mẫu dương tính Real-time RT – PCR**	**Phân lập dương tính**	
		Số mẫu	**Tỷ lệ**
A(H3N2)	82	18	21.9%
A(H1N1pdm09)	15	6	40%
B	7	3	42.8%
Tổng	104	27	25.9%

Bằng kỹ thuật ngăn ngưng kết hồng cầu (Hemagglutination inhibition test - HI), chúng tôi đã xác định các chủng virus cúm lưu hành lần lượt là A(H1N1pdm09) (A/Brisbane/02/2018), A(H3) (A/Kansas/14/2017), B(Vic. Lineage) (B/Colorado/06/2017), B(Yam. Lineage) (B/Phuket/3073/2013) (Bảng 4).

Bảng 4

Kết quả định tuýp virus bằng kỹ thuật ngăn ngưng kết hồng cầu

Hiệu giá HI	Mẫu dương tính A(H1N1pdm09)	Mẫu dương tính A(H3N2)	Mẫu dương tính B (Vic. lineage)	Mẫu dương tính B (Yam. lineage)
2560				
1280	1	2		
640	3	12		
320	2	4		
160	0	0	2	1
Tổng số mẫu	6	18	3	

Các mẫu virus cúm mùa phân lập trong giai đoạn năm 2020 này đều có hiệu giá HI tương tự các chủng chuẩn theo khuyến cáo của WHO, 2019 - 2020. Nhìn chung các mẫu virus có giảm hiệu giá từ 01 - 03 lần nhưng vẫn nằm trong khoảng cho phép: không vượt quá 04 lần. Hiệu giá HI cho thấy chưa có dấu hiệu thay đổi kháng nguyên bề mặt ở virus cúm A (H1N1pdm09, H3N2) và B.

3.4. Xác định tính kháng thuốc của virus cúm mùa phân lập 2020

Nhằm xác định đặc tính kháng thuốc của các chủng virus cúm phân lập được, các chủng virus này cần được kiểm tra hoạt tính Neuraminidase (NA). Kết quả cho thấy 18 chủng virus A(H3N2), 06 chủng virus cúm A(H1N1pdm09) và 03 chủng virus cúm B đều có hoạt tính Neuraminidase. Bằng phương pháp Neuraminidase inhibition test (NI), đặc tính kháng hai loại thuốc Zanamivir, Oseltamivir của các chủng virus khảo sát được ghi nhận thông qua giá trị IC_{50} cho các trường hợp lần lượt virus cúm A(H3N2) (Bảng 5), virus cúm A(H1N1pdm09) (Bảng 6) và virus cúm B (Bảng 7). Giá trị IC_{50} được hiểu là nồng độ thuốc ức chế 50% hoạt tính NA của virus cúm. Giá trị IC50 thường có mối liên quan chặt chẽ với một đột biến đặc trưng của gen mã hóa kháng nguyên NA hiện diện trên bề mặt virus cúm. Theo khuyến cáo của WHO, Virus A và B nhạy với thuốc khi IC50 < 10 lần đối với virus loại A; < 5 lần đối với loại Virus B. Kháng thuốc khi IC50 từ 10 đến 100 lần đối với virus loại A; 05 đến 50 lần đối với virus loại B, và khả năng ức chế cao (IC50 > 100 lần đối với virus loại A; > 50 lần đối với virus loại B) (Govorkova & ctg., 2022).

Bảng 5

Giá trị IC_{50} cho hai loại thuốc Zanamivir, Oseltamivir của 18 chủng virus cúm A(H3N2) phân lập

Stt	Mã số mẫu	Giá trị IC_{50}	
		Zanamivir (nM)	Oseltamivir (nM)
1	Mẫu 1	0.68	0.58
2	Mẫu 2	0.66	0.51
3	Mẫu 3	0.9	0.51
4	Mẫu 4	0.95	0.46
5	Mẫu 5	0.72	0.55

Stt	Mã số mẫu	Giá trị IC_{50}	
		Zanamivir (nM)	**Oseltamivir (nM)**
6	Mẫu 6	0.96	0.57
7	Mẫu 7	1.2	0.56
8	Mẫu 8	0.78	0.59
9	Mẫu 9	1.34	0.73
10	Mẫu 10	1.3	0.53
11	Mẫu 11	0.5	0.64
12	Mẫu 12	0.1	0.37
13	Mẫu 13	1.2	0.42
14	Mẫu 14	1.38	0.9
15	Mẫu 15	1.08	0.67
16	Mẫu 16	0.75	0.59
17	Mẫu 17	0.39	0.44
18	Mẫu 18	0.34	0.43
19	Chứng dương H3_S (nhạy)	0.49	0.38
20	Chứng dương H3_R (kháng)	0.67	67.58

Bảng 6

Giá trị IC_{50} cho hai loại thuốc Oseltamivir, Zanamivir của 06 chủng virus cúm A(H1N1pdm09) phân lập

Stt	Mã số	Giá trị IC_{50}	
		Zanamivir (nM)	**Oseltamivir (nM)**
1	Mẫu 19	0.18	0.17
2	Mẫu 20	0.25	0.19
3	Mẫu 21	0.20	0.34
4	Mẫu 22	0.21	0.62
5	Mẫu 23	0.13	0.2
6	Mẫu 24	0.14	0.16
7	Chứng dương H1pdm2009_S(nhạy)	0.32	0.88
8	Chứng dương H1pdm2009_R(kháng)	0.33	181.7

Bảng 7

Giá trị IC_{50} cho hai loại thuốc Zanamivir và Oseltamivir của 03 chủng virus cúm B phân lập

Stt	Mã số	Giá trị IC_{50}	
		Zanamivir (nM)	**Oseltamivir (nM)**
1	Mẫu 25	1.31	11.2
2	Mẫu 26	0.96	8.72
3	Mẫu 27	0.8	11.81
4	Chứng dương B_S(nhạy)	1.83	18.7
5	Chứng dương B_R(kháng)	23.96	178.9

Các kết quả giá trị IC_{50} của hai loại thuốc Zanamivir và Oseltamivir trên 27 chủng virus phân lập cho thấy chúng đều nhạy với hai loại thuốc Oseltamivir và Zanamivir thông qua thử nghiệm phản ứng kháng thuốc NI. Kết quả này cho thấy các mẫu virus cúm mùa trong giai đoạn năm 2020 - 2021 chưa xảy ra các đột biến ở các vị trí H275Y, E119V, … Do đó các thuốc này vẫn được dùng cho các bệnh nhân nhiễm cúm.

Kết quả kháng thuốc năm 2019 - 2020 trên thế giới cho thấy tỉ lệ kháng thuốc và kháng thuốc nặng đối với chủng virus cúm A(H1N1pdm09) là 1.33%, chủng A(H3N2) là 0.02%, cúm B là 0.64% (Govorkova & ctg., 2022). Tại khu vực phía Nam năm 2020 chưa phát hiện các chủng virus kháng thuốc nhưng cần phải giám sát thường xuyên và thực hiện phản ứng kháng thuốc cho tất cả các mẫu phân lập được.

4. Kết luận

Qua thực hiện giám sát sự lưu hành và tính kháng thuốc của virus cúm mùa ở khu vực phía Nam, giai đoạn 01/2020 - 06/2021, chúng tôi ghi nhận tỷ lệ dương tính của virus cúm mùa năm 2020 - 2021 là 9.01%, với số liệu chủ yếu tập trung trong năm 2020. Trong đó, A(H3N2) chiếm 78.8%, A(H1N1pdm09) chiếm 14.42%, và cúm B chiếm 6.73%. Tất cả các nhóm tuổi đều có ca mắc virus cúm mùa, không có sự khác biệt về tỷ lệ mắc cúm mùa ở các nhóm tuổi ($p = 0.219 > 0.05$). Các nhóm nam và nữ đều có ca mắc virus cúm mùa, không có sự khác biệt về tỷ lệ mắc cúm mùa ở các nhóm nam và nữ ($p = 0.239 > 0.05$). Về sự phân bố cúm mùa theo tháng (giai đoạn 2020), ghi nhận từ tháng 01 - 04 với các đặc điểm bao gồm: Tháng 01, phân tuýp A(H1N1pdm09) chiếm 61.5% (08/13 ca), cúm B chiếm 23% (03/13 ca), và phân tuýp A(H3N2) chiếm 15.3% (2/13 ca. Tháng 02 cũng xuất hiện 03 phân tuýp trên. Tháng 03 không có sự xuất hiện cúm A(H3N2). Tháng 04 chỉ có 01 ca A(H1N1pdm09). Từ tháng 05 - tháng 08, không có sự xuất hiện của cúm mùa. Từ tháng 09 - tháng 12 có sự xuất hiện của cúm A(H3N2). Số lượng dương tính với cúm A(H3N2) đạt đỉnh vào tháng 10 (44 ca) và tháng 11 (30 ca). Giai đoạn từ tháng 01/2021 đến tháng 06/2021 không thấy có sự xuất hiện ca dương tính với virus cúm mùa. Có 27 chủng virus được phân lập gồm 18 chủng virus cúm A(H3N2) (21.9%), 06 chủng virus A(H1pdm09) (40%) và 03 virus cúm B 42.8%. Các chủng virus cúm lưu hành được xác định lần lượt là A(H1N1pdm09) (A/Brisbane/02/2018), A(H3) (A/Kansas/14/2017), B (Vic. Lineage) (B/Colorado/06/2017) và B (Yam. Lineage) (B/Phuket/3073/2013) có hiệu giá HI tương tự các chủng chuẩn theo khuyến cáo của WHO. Kết quả kiểm tra hoạt tính kháng thuốc bằng phương pháp Neuraminidase inhibition test (NI) cho thấy 100% các chủng phân lập được đều nhạy với thuốc Oseltamivir và Zanamivir.

Tài liệu tham khảo

Bộ Y Tế. (2017). *Quyết định số 4068/QĐ-BYT ngày 29 tháng 07 năm 2016 Về kế hoạch giám sát trọng điểm Hội chứng cúm, nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính nặng tại Việt Nam giai đoạn 2017-2020 [Decision No. 4068/QD-BYT dated July 29, 2016 on Key surveillance plan for influenza syndrome, severe acute respiratory infection in Vietnam for the period 2017-2020]*. Truy cập ngày 05/09/2022 tại https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quyet-dinh-4068-QD-BYT-Huong-dan-bien-soan-quy-trinh-chuyen-mon-kham-chua-benh-2016-321785.aspx

Bộ Y Tế. (2020). *Quyết định số 5372/QĐ-BYT ngày 24 tháng 12 năm 2020 Về việc ban hành hướng dẫn giám sát viêm phổi nặng do vi rút [Decision No. 5372/QD-BYT dated December 24, 2020 on issuing guidelines for surveillance of severe viral pneumonia]*. Truy cập ngày 05/09/2022 tại https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quyet-dinh-5372-QD-BYT-2020-Huong-dan-giam-sat-viem-phoi-nang-do-vi-rut-460371.aspx

Boni, M. F. (2008). Vaccination and antigenic drift in influenza. *Vaccine, 26*(3), C8-14. doi:10.1016/j.vaccine.2008.04.011

Doud, M. B., Hensley, S. E., & Bloom, J. D. (2017). Complete mapping of viral escape from neutralizing antibodies. *PLoS Pathog, 13*(3), Article e1006271. doi:10.1371/journal.ppat.1006271

Fisher, T. (2019). *NA-Fluor™ Influenza Neuraminidase Assay Kit.* Truy cập ngày 05/09/2022 tại https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4457091

Forrest, H. L., & Webster, R. G. (2010). Perspectives on influenza evolution and the role of research. *Animal Health Research Reviews, 11*(1), 3-18. doi:10.1017/S1466252310000071

Govorkova, E. A., Takashita, E., Daniels, R. S., Fujisaki, S., Presser, L. D., Patel, M. C., …Meijer, A. (2022). Global update on the susceptibilities of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors and the cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir, 2018-2020. *Antiviral Research, 200*, Article 105281. doi:10.1016/j.antiviral.2022.105281

Horwood, P. F., Karlsson, E. A., Horm, S. V., Ly, S., Heng, S., Chin, S., … Dussart, P. (2019). Circulation and characterization of seasonal influenza viruses in Cambodia, 2012-2015. *Influenza and Other Respiratory Viruses, 13*(5), 465-476. doi:10.1111/irv.12647

Hutchinson, E. C. (2018). Influenza virus. *Trends Microbiol, 26*(9), 809-810. doi:10.1016/j.tim.2018.05.013

Iuliano, A. D., Roguski, K. M., Chang, H. H., Muscatello, D. J., Palekar, R., Tempia, S., … Cowling, B. J. (2018). Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: A modelling study. *The Lancet, 391*(10127), 1285-1300. doi:10.1016/s0140-6736(17)33293-2

Kemmerly, S. A. (2000). Influenza update 2000. *Ochsner Journal, 2*(4), 224-227.

McKimm-Breschkin, J. L. (2013). Influenza neuraminidase inhibitors: Antiviral action and mechanisms of resistance. *Influenza Other Respir Viruses, 7*(1), 25-36. doi:10.1111/irv.12047

WHO. (2019). *The 2019-2020 Who influenza reagent kit for identification of influenza isolates*. Atlanta, Georgia: WHO collaborating center for surveillance, epidemiology and control of influenza.

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.