

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG



NGUYỄN ĐỨC GIANG

**THỰC TRẠNG NGƯỜI MANG KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT
KHÔNG TRIỆU CHỨNG VÀ THIẾU GLUCOSE-6-PHOSPHATE
DEHYDROGENASE TRONG CỘNG ĐỒNG TẠI MỘT SỐ VÙNG
SỐT RÉT TRỌNG ĐIỂM, TỈNH ĐẮK NÔNG, 2018-2020**

Ngành: Y tế công cộng

Mã số: 9 72 07 01

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y TẾ CÔNG CỘNG

Hà Nội, 2022

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

NGUYỄN ĐỨC GIANG

**THỰC TRẠNG NGƯỜI MANG KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT
KHÔNG TRIỆU CHỨNG VÀ THIẾU GLUCOSE-6-PHOSPHATE
DEHYDROGENASE TRONG CỘNG ĐỒNG TẠI MỘT SỐ VÙNG
SỐT RÉT TRỌNG ĐIỂM, TỈNH ĐẮK NÔNG, 2018-2020**

Ngành: Y tế công cộng

Mã số: 9 72 07 01

Hướng dẫn 1: GS.TS. Vũ Sinh Nam

Hướng dẫn 2: TS. Huỳnh Hồng Quang

Hà Nội, 2022

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi cùng với các nghiên cứu viên đồng thực hiện tại thực địa ba xã của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông và các la-bô của Khoa Nghiên cứu và Điều trị và Khoa Xét nghiệm Sinh học phân tử, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn.

Các số liệu về kết quả nêu trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Nguyễn Đức Giang

LỜI CẢM ƠN

Luận án hoàn thành nếu không có sự giúp đỡ của Quý Thầy cô, các bạn đồng nghiệp và gia đình. Với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin trân trọng cảm ơn:

Quý thầy hướng dẫn khoa học GS.TS. Vũ Sinh Nam và TS. Huỳnh Hồng Quang, đã dành nhiều thời gian định hướng, tận tình hướng dẫn, truyền đạt kiến thức, giúp đỡ, chỉnh sửa toàn bộ đề cương và luận án, cũng như động viên tôi trong quá trình học tập và làm luận án.

Trân trọng cảm ơn đến Quý Thầy Cô thuộc Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, Phòng Đào tạo Sau đại học giúp đỡ cho hoàn thiện hồ sơ dự tuyển chương trình Nghiên cứu sinh tiến sỹ, đồng thời đã dành mọi điều kiện cho tôi học tập và nghiên cứu; Quý Thầy Cô và đồng nghiệp trong Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn luôn tạo điều kiện thực hành tốt nhất, đóng góp ý kiến sâu sắc để luận án hoàn chỉnh.

Trân trọng cảm ơn đến Quý thầy cô GS.TS. Phạm Ngọc Đình, GS.TS. Đặng Đức Anh, PGS.TS. Trần Như Dương, PGS.TS. Hồ Văn Hoàng, PGS.TS. Lê Xuân Hùng, PGS.TS. Nguyễn Minh Sơn, PGS.TS. Lã Ngọc Quang, PGS.TS. Lê Anh Tuấn, PGS.TS. Nguyễn Thị Hương Bình, PGS.TS. Nguyễn Thị Thi Thơ, PGS.TS. Nguyễn Thị Lan Anh, PGS.TS. Nguyễn Thị Thùy Dương, PGS.TS. Nguyễn Khắc Lực, PGS.TS. Tạ Thị Tĩnh đã đóng góp rất nhiều ý kiến quý báu để các chuyên đề, tổng quan và luận án hoàn thiện.

Chân thành cảm ơn đến Quý cán bộ y tế từ Trung tâm Kiểm soát Bệnh tật tỉnh Đắk Nông, Trung tâm Y tế huyện Tuy Đức và các Trạm y tế xã, y tế thôn buôn đã giúp đỡ tôi trong suốt thời gian tham gia thực hiện đề tài luận án tại thực địa.

Kính trân trọng cảm ơn cha mẹ - những người luôn mong muốn các con mình tiến bộ; Vợ và hai con là động lực mạnh mẽ, gánh vác việc gia đình cho tôi yên tâm học tập, nghiên cứu khoa học trong luận án.

Cuối cùng, tôi xin cảm ơn đến tất cả người dân, người dân, người bệnh đã chia sẻ thông tin và mẫu bệnh phẩm để số liệu nghiên cứu luận án một cách đầy đủ nhất.

Tác giả luận án

Nguyễn Đức Giang

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Tình hình sốt rét trên thế giới và Việt Nam qua báo cáo 2017-2018.....	3
1.2. Một số phương pháp phát hiện, chẩn đoán sốt rét trong PCSR	11
1.3. Một số nghiên cứu đánh giá người mang KSTSR không triệu chứng	16
1.4. Thiếu glucose 6 phosphat dehydrogenase và sử dụng thuốc sốt rét	32
1.5. Tình hình nghiên cứu thiếu G6PD trên thế giới và Việt Nam	38
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	42
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	42
2.2. Địa điểm và thời gian	42
2.3. Thiết kế nghiên cứu.. ..	44
2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu... ..	44
2.5. Phương pháp chọn mẫu	44
2.6. Thu thập mẫu nghiên cứu	46
2.7. Công cụ nghiên cứu và phương pháp thu thập số liệu	46
2.8. Quy trình nghiên cứu	54
2.9. Biến số và chỉ số đánh giá trong nghiên cứu.....	55
2.10. Phân tích và xử lý số liệu	56
2.11. Khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu.....	58
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	61
3.1. Xác định tỷ lệ KSTSR ở người không triệu chứng và định loài <i>Plasmodium</i> spp. bằng phương pháp RT-qPCR.....	61
3.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu tại 3 xã thuộc huyện Tuy Đức	61
3.1.2. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng <i>Plasmodium</i> spp. ở người không triệu chứng.....	65
3.1.3. Tỷ lệ người mang giao bào <i>Plasmodium</i> spp. trên người không biểu hiện triệu chứng bằng kỹ thuật phân tích RNA RT-qPCR.....	70
3.2. Đánh giá hoạt độ G6PD bằng bộ cảm biến sinh học.....	71
3.2.1. Đặc điểm về mẫu nghiên cứu tại 3 xã của huyện Tuy Đức	71
3.2.2. Đặc điểm hoạt độ G6PD của quần thể nghiên cứu	72

3.2.3. Sơ đồ phân loại hoạt độ G6PD ở các mức 30% và 80%	72
3.2.4. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo giới tính.....	73
3.2.5. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo phân vùng địa lý	73
3.2.6. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo nhóm dân tộc	74
3.3. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD tại điểm nghiên cứu	79
3.3.1. Yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng.....	79
3.3.2. Yếu tố liên quan đến tình trạng thiếu hoạt độ G6PD	83
4. BÀN LUẬN	86
4.1. Tỷ lệ nhiễm <i>Plasmodium</i> spp. ở người không biểu hiện triệu chứng	86
4.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu tại 3 xã SRLH	86
4.1.2. Tỷ lệ nhiễm KST <i>Plasmodium</i> spp. ở người không triệu chứng	89
4.1.3. Xác định có mặt giao bào <i>P. falciparum</i> trong các mẫu dương tính.....	104
4.2. Đánh giá hoạt độ G6PD bằng bộ cảm biến sinh học	114
4.2.1. Đặc điểm về hoạt độ G6PD của quần thể nghiên cứu.....	114
4.2.2. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo giới tính và nhóm dân tộc	115
4.2.3. Biểu thể đột biến G6PD theo các nhóm dân tộc	122
4.3. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD tại điểm nghiên cứu	131
4.3.1. Yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng...131	
4.3.2. Yếu tố liên quan đến tình trạng thiếu hoạt độ G6PD	132
4.4. Một số điểm hạn chế trong nghiên cứu	134
TÍNH MỚI, TÍNH KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN CỦA LUẬN ÁN	135
KẾT LUẬN	136
1. Thực trạng người mang KSTSR không triệu chứng tại vùng sốt rét trọng điểm huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông	136
2. Thực trạng hoạt độ G6PD tại 3 xã có sốt rét lưu hành.....	137
3. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD trên quần thể	137
KHUYẾN NGHỊ	138
DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ ĐĂNG TẢI	139

TÀI LIỆU THAM KHẢO
PHỤ LỤC

DANH MỤC CÁC BẢNG TRONG LUẬN ÁN

TT	Nội dung các bảng	Trang
Bảng 1.1.	Bệnh nhân sốt rét năm 2018 so cùng kỳ năm 2017 theo khu vực	6
Bảng 1.2.	Các tỉnh/ thành có số KSTSR cao nhất năm 2018 vào so với 2017	8
Bảng 1.3.	Phân loại các lớp thiếu G6PD và biểu hiện trên lâm sàng	34
Bảng 2.1.	Cỡ mẫu những người không có triệu chứng để ước tính tỷ lệ nhiễm sốt rét ở những khu vực SRLH khác nhau	43
Bảng 2.2.	Các biến số và chỉ số thu thập trong nghiên cứu	50
Bảng 2.3.	Biến thể và các enzyme phân cắt giới hạn áp dụng phân tích	54
Bảng 3.1.	Đặc điểm chung về nhân chủng học đối tượng tại 3 xã	58
Bảng 3.2.	Đặc điểm về các nhóm dân tộc tham gia nghiên cứu tại 3 xã	59
Bảng 3.3.	Đặc điểm chung về lâm sàng và tiền sử đi rừng của người tham gia nghiên cứu tại 3 xã	60
Bảng 3.4.	Đặc điểm chung về nhóm đối tượng người lớn tham gia nghiên cứu	61
Bảng 3.5.	Đặc điểm chung về nhóm đối tượng trẻ em tham gia nghiên cứu	61
Bảng 3.6.	Xét nghiệm lam máu và test chẩn đoán nhanh 3 xã có SRLH, huyện Tuy Đức	62
Bảng 3.7.	Tỷ lệ KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR tại 3 xã của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa mưa	63
Bảng 3.8.	Tỷ lệ KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR tại 3 xã của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa khô	63
Bảng 3.9.	So sánh tỷ lệ nhiễm KSTSR trên NMTKTC tại thời điểm giữa mùa mưa và mùa khô	64
Bảng 3.10.	Định loài <i>Plasmodium</i> spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét	65
Bảng 3.11.	Nhiễm KST <i>Plasmodium</i> spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét theo giới	66
Bảng 3.12.	Xác định giao bào của <i>Plasmodium</i> spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét	67
Bảng 3.13.	Tỷ lệ nhiễm thể vô tính và giao bào <i>Plasmodium</i> spp. tại 3 xã có lưu hành sốt rét	68
Bảng 3.14.	Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu G6PD tại 3 xã	68

TT	Nội dung các bảng	Trang
Bảng 3.15.	Đặc điểm về nồng độ hemoglobine và hoạt độ G6PD tại 3 xã	69
Bảng 3.16.	Đặc điểm về hoạt độ G6PD trên quần thể nghiên cứu	69
Bảng 3.17.	Tỷ lệ thiếu, bán thiếu và bình thường của hoạt độ G6PD phân tích theo từng giới tính nam, nữ	70
Bảng 3.18.	Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo phân vùng địa lý	71
Bảng 3.19.	Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo từng nhóm dân tộc	71
Bảng 3.20.	Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo nhóm dân tộc tại bản địa chỗ và dân tộc di cư từ các tỉnh ngoài Bắc vào Tây Nguyên	73
Bảng 3.21.	Biến thể thiếu G6PD phân theo nhóm dân tộc tại các vùng	74
Bảng 3.22.	Các biến thể thiếu G6PD phân theo nhóm dân tộc bản địa và dân tộc di cư từ phía Bắc vào Tây Nguyên	75
Bảng 3.23.	Liên quan giữa mức độ vùng LHSR với người mang KSTSR không triệu chứng trong thời điểm giữa mùa mưa	76
Bảng 3.24.	Liên quan giữa mức độ vùng LHSR với người mang KSTSR không triệu chứng trong thời điểm giữa mùa khô	76
Bảng 3.25.	Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với mùa	76
Bảng 3.26.	Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với giới tính trong thời điểm giữa hai mùa mưa và khô	77
Bảng 3.27.	Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng tại 3 xã với giới tính trong thời điểm giữa mùa mưa	81
Bảng 3.27.	Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng tại 3 xã với giới tính trong thời điểm giữa mùa mưa	81
Bảng 3.28.	Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với nhóm tuổi tại 3 xã lưu hành sốt rét khác nhau	78
Bảng 3.29.	Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với các nhóm dân tộc khác nhau tại 3 xã	78
Bảng 3.30.	Liên quan giữa thiếu, bán thiếu hoạt độ G6PD với giới tính	89
Bảng 3.31.	Liên quan giữa thiếu - bán thiếu hoạt độ G6PD và giới tính	81
Bảng 3.32.	Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD và giới tính	82

TT	Nội dung các bảng	Trang
Bảng 3.33.	Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD với các nhóm dân tộc	83
Bảng 3.34.	Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD với từng nhóm dân tộc	84

DANH MỤC CÁC HÌNH TRONG LUẬN ÁN

TT	Nội dung các hình	Trang
Hình 1.1.	Tình hình sốt rét trên phạm vi toàn cầu (WHO, 2017)	3
Hình 1.2.	Bản đồ phân bố các vùng đang tiến tới loại trừ sốt rét 2017-2018	4
Hình 1.3.	Bản đồ phân bố mức độ ký sinh trùng sốt rét năm 2018	9
Hình 1.4.	Cơ cấu ký sinh trùng sốt rét toàn quốc năm 2018	10
Hình 1.5.	Quy trình làm lam máu nhuộm giem sa chẩn đoán sốt rét	12
Hình 1.6.	Phiên giải kết quả test sốt rét phát hiện <i>P. faciparum</i> / <i>P. vivax</i>	14
Hình 1.7.	Nguyên lý và phiên giải kết quả PCR trong chẩn đoán sốt rét	15
Hình 1.8.	Quá trình tổng hợp glutathione có sự tham gia G6PD	32
Hình 1.9.	Tần suất alen liên quan đến thiếu G6PD toàn cầu (WHO, 2015)	36
Hình 1.10.	Phân tích biến thể G6PD sử dụng G6PD genotyping kit (Asian type, DiaPlexC) với các chứng biến thể G6PD đột biến	37
Hình 1.11.	Khung lý thuyết nghiên cứu liên quan đến luận án	39
Hình 2.1.	Bản đồ các xã nghiên cứu thuộc huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông	41
Hình 2.2.	Quy trình chọn mẫu nghiên cứu để điều tra	44
Hình 2.3a	Máy đo hoạt độ G6PD	48
Hình 2.3b	Máy đo nồng độ haemoglobine	51
Hình 3.1.	Phân bố tỷ lệ từng nhóm dân tộc tại 3 xã nghiên cứu	60
Hình 3.2.	Xác định giống <i>Plasmodium</i> spp. trên nhóm nghiên cứu bằng kỹ thuật RT-qPCR trên hệ thống máy ABI 7500 fast	65
Hình 3.3.	Tỷ lệ người mang KSTSR không biểu hiện triệu chứng giữa mùa mưa và mùa khô tại các điểm nghiên cứu	66
Hình 3.4.	Định loài <i>Plasmodium</i> spp. trên nhóm có KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR trên hệ thống máy ABI 7500 fast.	67
Hình 3.5.	Tỷ lệ nhiễm KSTSR không biểu hiện triệu chứng từng giới tính	68
Hình 3.6.	Phân loại thiếu hoạt độ G6PD theo mốc 30% và 80%	71
Hình 3.7.	Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo từng nhóm dân tộc	73
Hình 3.8.	Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD trên từng nhóm dân tộc Kinh, dân tộc bản địa hoặc dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc	74
Hình 3.9.	Biến thể thiếu hoạt độ G6PD trên từng nhóm dân tộc	76

DANH MỤC MỘT SỐ TỪ VIẾT TẮT

ACTs	Artemisinin-based Combination Therapies	Liệu pháp thuốc phối hợp có thành phần artemisininine
BNSR		Bệnh nhân sốt rét
CRFs	Case Report Forms	Mẫu báo cáo ca bệnh
DNA	Deoxyribonucleic acid	Acid deoxyribonucleic
FSaT	Focal or focused screen and treat	Sàng lọc và điều trị có chỉ điểm
GCPs	Good Clinical Practices	Thực hành lâm sàng tốt
G6PD	Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase	
Hb	Haemoglobine	
ICH	International Conference on Harmonization	Hội nghị Hòa hợp Quốc tế
iPT	Intermittent Preventive Therapy	Điều trị dự phòng từng đợt
IRB	Institutional Review Board	Hội đồng Đạo đức cơ sở
IRS	Indoor Residual Spray	Phun tồn lưu trong nhà
ITNs	Insecticidal treated Nets	Màn tẩm hóa chất
KHV		Kính hiển vi
KST		Ký sinh trùng
KSTSR		Ký sinh trùng sốt rét
LHSR		Lưu hành sốt rét
LTSR		Loại trừ sốt rét
MDA	Mass Drug Administration	Điều trị thuốc hàng loạt
MsaT	Mass screen and treat-MsaT	Sàng lọc, điều trị hàng loạt
NST		Nhiễm sắc thể
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi trùng hợp
PCR-RFLP	Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism	Đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn-PCR
<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	
<i>P. vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	
<i>P. malariae</i>	<i>Plasmodium malariae</i>	
<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>	

<i>P. knowlesi</i>	<i>Plasmodium knowlesi</i>	
QA	Quality Assurance	Đảm bảo chất lượng
qPCR	Quantitative PCR	Phản ứng chuỗi trùng hợp định lượng
RDTs	Rapid Diagnostic Tests	Xét nghiệm chẩn đoán nhanh
RNA	Ribonucleic acid	
RT-qPCR	Reverse transcriptase quantitative PCR	PCR định lượng sao chép ngược
SAE	Serious Adverse Events	Biến cố bất lợi nghiêm trọng
SOPs	Standard Operational Procedures	Quy trình thực hành chuẩn
SRLH		Sốt rét lưu hành
TCYTTG		Tổ chức Y tế thế giới
TVSR		Tử vong do sốt rét
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế thế giới
WWARN	Worldwide Antimalarial Resistance Network	Mạng lưới Sốt rét kháng thuốc toàn cầu

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt rét hiện vẫn còn là vấn đề y tế công cộng và bệnh truyền nhiễm quan trọng trên toàn cầu, đặc biệt tại các quốc gia và vùng lãnh thổ thuộc khu vực cận sa mạc Sahara, châu Phi, Nam Mỹ và Tây Thái Bình Dương. Theo Báo cáo sốt rét thế giới năm 2017 [86] cho thấy trong năm 2017, ước tính có khoảng 219 triệu ca sốt rét xảy ra trên toàn thế giới, so với 239 triệu ca trong năm 2010 và 217 triệu trường hợp vào năm 2016. Mặc dù, so với năm 2010, năm 2017 có ít hơn khoảng 20 triệu trường hợp nhưng dữ liệu trong giai đoạn (2015-2017) biểu hiện rằng không có sự tiến bộ đáng kể nào trong việc giảm số ca sốt rét toàn cầu được thực hiện trong khoảng thời gian này. Lần nữa cho thấy các nước trong Tiểu vùng sông Mê Kông, kể cả Việt Nam cho thấy dù số mắc sốt rét giảm đáng kể trong những năm gần đây, song chúng ta lại đang đối mặt với rất nhiều thách thức về mặt kỹ thuật như muỗi *Anopheles* spp. kháng hóa chất diệt, ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium* spp. kháng thuốc có hiệu lực đang dùng [88], sốt rét trên nhóm dân di rừng, ngủ rẫy và giao lưu thường xuyên qua biên giới các quốc gia Việt Nam - Lào - Campuchia rất phức tạp.

Cơ cấu ký sinh trùng sốt rét tại Việt Nam bao gồm *Plasmodium falciparum* và *P. vivax*, các loài khác còn lại như *P. malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi* chiếm thấp hơn (<5%), việc điều trị với phác đồ thuốc phối hợp có artemisinin (ACTs) với sốt rét do *P. falciparum* có thể giúp kiểm soát tốt tình hình, tuy nhiên điều trị sốt rét do *P. vivax* lại là một khó khăn do bệnh nhân không tuân thủ dùng thuốc primaquin 14 ngày liên tiếp theo liều khuyến cáo của Bộ Y tế [1],[2], có thể nguy cơ tán huyết trên người bệnh thiếu hoạt độ G6PD vì điều tra một số quần thể dân đang sống tại vùng sốt rét lưu hành dao động từ 3-8% [11],[12],[36] và mục tiêu loại trừ sốt rét của Việt Nam đến năm 2030 có thể bị trì hoãn do các thách thức trên [76].

Một khó khăn khác cũng đang đối mặt đó là sốt rét là bệnh truyền nhiễm với miễn dịch không bền vững và tình trạng người mang ký sinh trùng không triệu chứng phổ biến trong cộng đồng đang sinh sống và làm việc tại các vùng sốt rét lưu hành từ 4,5-12,5% [38], loại nhiễm trùng này không thể phát hiện bằng các phương

pháp xét nghiệm thụ động giâm sa hay test chẩn đoán nhanh mà chỉ có phương pháp phân tử siêu nhạy mới có thể phát hiện được [81]. Nếu không đánh giá đúng mức cũng như không điều trị tiết căn nhóm bệnh nhân này, thì khâu lan truyền bệnh vẫn tiếp diễn, dai dẳng và không thể đạt được mục tiêu loại trừ bệnh sốt rét.

Miền Trung-Tây Nguyên là khu vực có số ca mắc chiếm gần 70% so với cả nước, nhất là các tỉnh Gia Lai, Đắk Nông, Đắk Lắk, Kon Tum với sự hội đủ nhiều nhóm dân tộc thiểu số có tỷ lệ thiếu G6PD cao đang sống trong vùng lưu hành sốt rét dai dẳng và người mang ký sinh trùng không triệu chứng trong cộng đồng. Do đó, hiện nay xu hướng sốt rét đang giảm thấp và tập trung vào các vùng Tây Nguyên, nên đánh giá chính xác các “thách thức” trên và đề xuất biện pháp can thiệp phù hợp trong tương lai là cần thiết!

Với ý nghĩa xác định tỷ lệ người nhiễm ký sinh trùng không triệu chứng và tình trạng thiếu hoạt độ G6PD bằng các kỹ thuật hiện đại để từ đó đề xuất biện pháp can thiệp phù hợp, nghiên cứu “Thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng và thiếu Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase trong cộng đồng tại một số vùng sốt rét trọng điểm, tỉnh Đắk Nông, 2018-2020” được tiến hành nhằm mục tiêu:

Mục tiêu nghiên cứu:

1. Mô tả thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng tại vùng sốt rét trọng điểm huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông, 2018-2020;
2. Mô tả thực trạng người thiếu Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase tại vùng sốt rét trọng điểm huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông, 2018-2020;
3. Phân tích một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng và thiếu Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase tại điểm nghiên cứu.

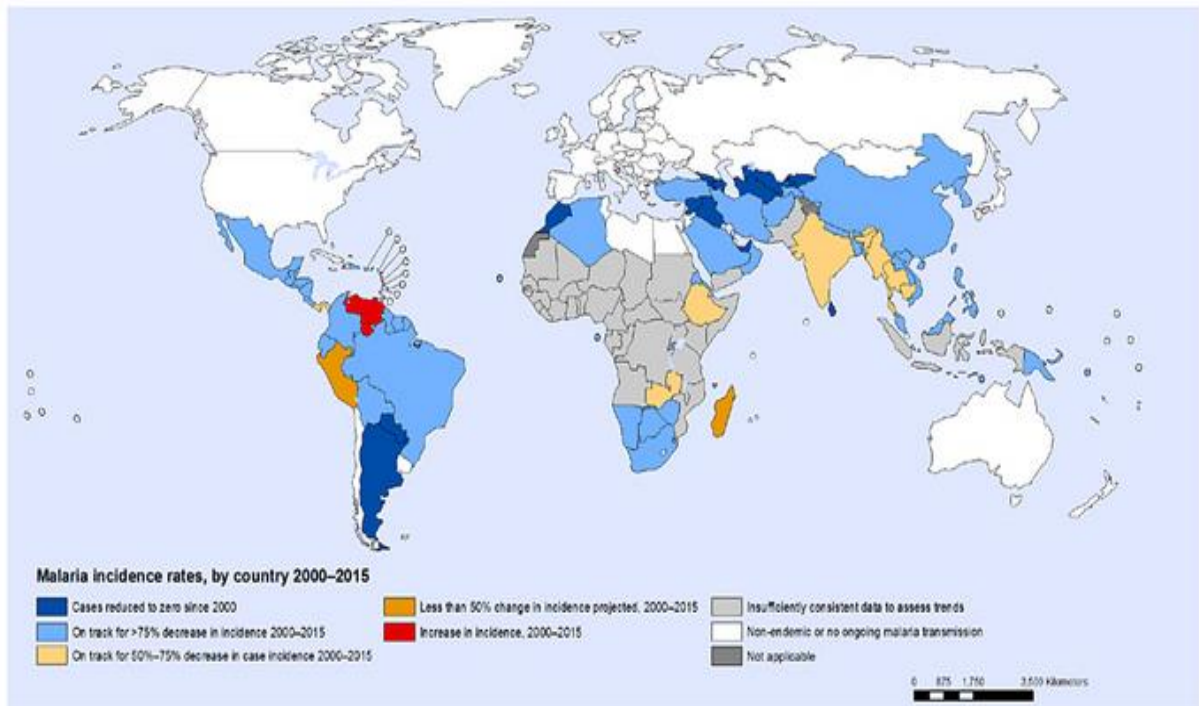
Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tình hình sốt rét thế giới và Việt Nam qua báo cáo năm 2017-2018

1.1.1. Trên toàn cầu

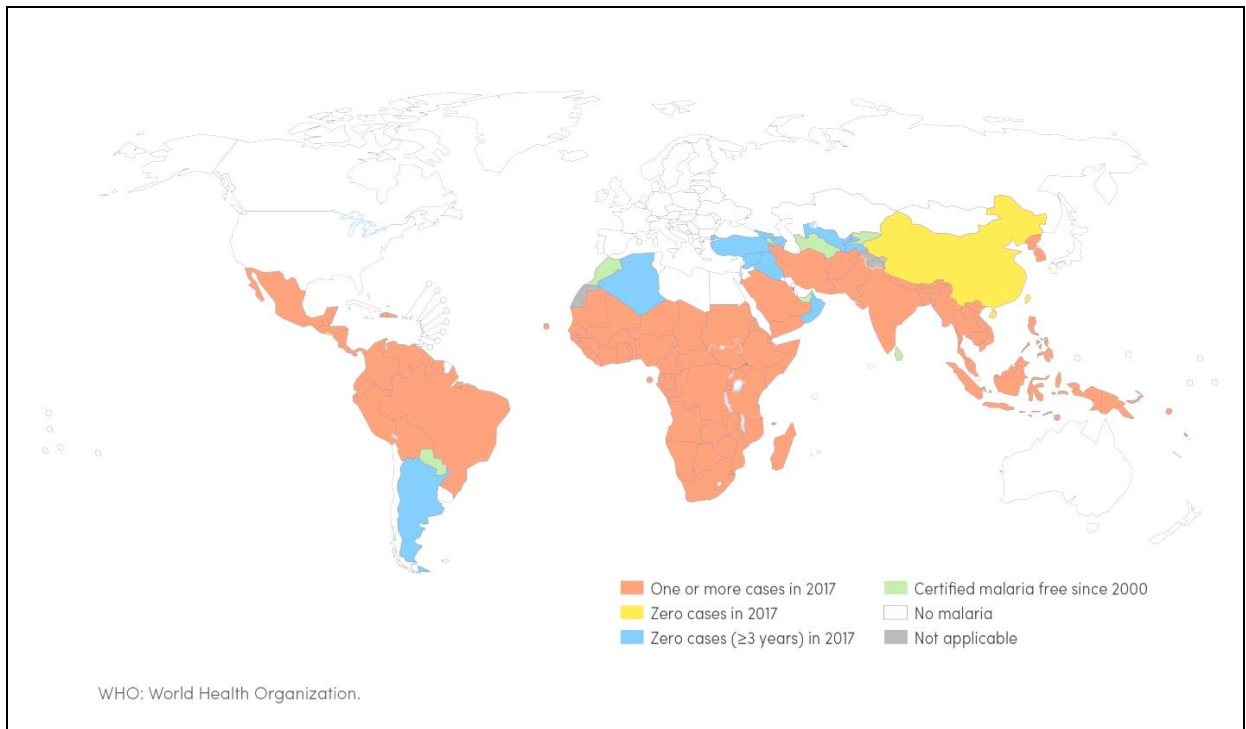
Báo cáo sốt rét thế giới của Tổ chức Y tế thế giới (TCYTTG) năm 2018 [86] cho biết những năm qua có nhiều sự đầu tư về kinh phí, kỹ thuật vào các chương trình Phòng chống và Loại trừ sốt rét (PC<SR) và nghiên cứu sốt rét cũng như tiến bộ trên tất cả lĩnh vực can thiệp phòng ngừa, chẩn đoán, điều trị và giám sát. Báo cáo cũng bao gồm các chuyên đề về loại trừ sốt rét và các mối đe dọa chính trong cuộc chiến chống lại bệnh sốt rét (SR). Báo cáo dựa vào thông tin từ các chương trình PCSR Quốc gia và các đối tác khác ở các quốc gia lưu hành bệnh.



Hình 1.1. Tình hình sốt rét trên phạm vi toàn cầu (WHO, 2017)

Trong năm 2017, ước tính có khoảng 219 triệu ca sốt rét ghi nhận trên toàn thế giới, so với 239 triệu ca trong năm 2010 và 217 triệu ca trong năm 2016. Mặc dù số liệu so với năm 2010, thì trong năm 2017 có ít hơn khoảng 20 triệu ca nhưng diễn tiến tình hình sốt rét giai đoạn từ 2015-2017 cho thấy dường như không có sự tiến triển đáng kể nào trong việc giảm BNSR trong khoảng thời gian này.

Hầu hết số BNSR trong năm 2017 đều nằm ở khu vực châu Phi (92%), tiếp theo là khu vực Đông Nam Á (5%) và Đông Địa Trung Hải (2%). Mười lăm nước ở vùng cận Sahara, châu Phi và Ấn Độ chiếm 80% gánh nặng bệnh toàn cầu. Năm nước chiếm gần 1/2 số BNSR trên toàn cầu là Nigeria (25%), Congo (11%), Mozambique (5%), Ấn Độ (4%) và Uganda (4%). 10 quốc gia có gánh nặng sốt rét cao nhất ở châu Phi báo cáo có sự gia tăng số BNSR vào năm 2017 so với 2016.



Hình 1.2. Bản đồ phân bố các vùng đang tiến tới loại trừ sốt rét 2017-2018

Nguồn: WHO, 2018

Ngược lại, Ấn Độ báo cáo ít hơn 3 triệu BNSR so với cùng kỳ, giảm 24% so với năm 2016. Rwanda đã ghi nhận giảm gánh nặng sốt rét, với 430.000 BNSR, ít hơn trong năm 2017 và Ethiopia và Pakistan rõ rệt hơn 240.000 BNSR so với cùng kỳ. Tỷ lệ mắc mới sốt rét giảm trên toàn cầu trong giai đoạn (2010-2017), từ 72 xuống còn 59 ca/1000 dân có nguy cơ. Mặc dù, con số này thể hiện mức giảm 18% trong giai đoạn này, nhưng số ca/1000 dân số có nguy cơ vẫn ở mức 59 so với toàn cầu trong 3 năm qua. Số liệu ở Đông Nam Á tiếp tục có tỷ lệ mắc bệnh giảm từ 17/1000 dân có nguy cơ trong năm 2010 xuống còn 7/1000 vào năm 2017. Tất cả khu vực khác đều ghi nhận có ít tiến triển hoặc gia tăng tỷ lệ mắc [86]. Châu Mỹ ghi nhận có sự gia tăng số BNSR, phần lớn là do việc lan truyền ở Brazil,

Nicaragua và Venezuela. Trong khu vực châu Phi, tỷ lệ mắc mới sốt rét vẫn duy trì ở 219 ca/ 1000 dân có nguy cơ mắc bệnh trong năm thứ hai liên tiếp.

P. falciparum là loài ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) phổ biến nhất trong khu vực Châu Phi, chiếm 99,7% số BNSR ước tính vào năm 2017, cũng như trong khu vực Đông Nam Á (62,8%), Đông Địa Trung Hải (69%) và Tây Thái Bình Dương (71,9%). Trong khi đó, loài *P. vivax* là ký sinh trùng chủ yếu ở khu vực châu Mỹ, chiếm 74,1% số BNSR [77]. Tuy nhiên, cơ cấu ký sinh trùng này đến nay vẫn đang tiếp tục thay đổi theo từng quốc gia và vùng lãnh thổ.

Tình trạng thiếu máu do sốt rét cũng là một vấn đề cần quan tâm vì thiếu máu mạn tính nếu không điều trị có thể dẫn đến tử vong, đặc biệt là những người dễ bị tổn thương như phụ nữ mang thai (PNMT) và trẻ em dưới 5 tuổi. Thiếu máu đã từng là một chỉ điểm quan trọng đo lường sự tiến bộ trong PCSR và tỷ lệ hiện mắc được dùng để đánh giá hiệu quả của các can thiệp [77]. Những năm gần đây đã chứng kiến một sự sụt giảm nhận thức về gánh nặng của bệnh thiếu máu do sốt rét.

Năm 2017, có 435.000 ca TVSR trên toàn cầu so với 451.000 ca trong năm 2016 và 607.000 ca trong năm 2010. Trẻ em dưới 5 tuổi là nhóm dễ bị tổn thương nhất. Năm 2017, trẻ em chiếm 61% trong số TVSR toàn cầu. châu Phi chiếm 93% số TVSR vào năm 2017. Mặc dù, châu Phi là nơi có số ca TVSR cao nhất năm 2017 và khu vực này cũng chiếm 88% số TVSR toàn cầu năm 2017. Gần 80% số TVSR năm 2017 tập trung ở 17 nước châu Phi và Ấn Độ; 7 trong số các nước này chiếm 53% tất cả TVSR toàn cầu: Nigeria (19%), Congo (11%), Burkina Faso (6%), Tanzania (5%), Sierra Leone (4%), Niger (4%), Ấn Độ (4%). Tất cả khu vực, ngoại trừ châu Mỹ thấy giảm số TVSR năm 2017 so với 2010, giảm nhiều nhất ở Đông Nam Á (54%), châu Phi (40%), Đông Địa Trung Hải (10%) [86].

1.1.2. Tại Việt Nam

Tình hình SR Việt Nam hiện chỉ còn tập trung khu vực miền Trung-Tây Nguyên và Nam Bộ-Lâm Đồng, ở phía Bắc có số mắc thấp hơn, chủ yếu là các ca ngoại lai từ nhóm dân di biến động tại các tỉnh có Tây Nguyên và Bình Phước, một số khác do lao động nước ngoài trở về như Lào, Campuchia, Angola [3].

Bảng 1.1. Bệnh nhân sốt rét năm 2018 so với cùng kỳ năm 2017 theo khu vực

TT	Khu vực	Năm 2018	Năm 2017	% tăng (+), giảm (-)
1	Miền núi phía Bắc	752	1.655	-54,56
2	Đồng bằng trung du Bắc bộ	592	1.040	-43,08
3	Khu IV cũ	579	971	-40,37
4	Ven biển miền Trung	962	1.079	-10,84
5	Tây Nguyên	2.538	2.060	23,20
6	Đông Nam Bộ	1.406	1.529	-8,04
7	Đồng bằng sông Cửu Long	41	77	-46,75
	Toàn quốc	6.870	8.411	-18,32

Kết quả thực hiện PCSR và LTSR trên toàn quốc năm 2018 so sánh chỉ số với năm 2017 cho thấy số BNSR giảm 18,3% (6.870/8.411), số KSTSR tăng 5,8% (4.813/4.548), tỷ lệ KSTSR/1.000 dân tăng 5,7%, số SRAT giảm 67,6% (12/37), số TVSR giảm 5 ca (1/6) và không có dịch xảy ra. SR tiếp tục tập trung cao những vùng SRLH nặng, kháng thuốc và đối tượng nguy cơ cao [3]. Số BNSR phân theo từng khu vực trong năm 2018 so với năm 2017 cho thấy ngoại trừ khu vực Tây Nguyên, các khu vực khác đều có số BNSR giảm so với 2017. Đặc biệt, khu vực các tỉnh phía Bắc và đồng bằng sông Cửu Long số BNSR giảm trên 40%.

Tây Nguyên có số BNSR gia tăng (23,2%) và đây là năm thứ 2 liên tiếp BNSR tăng ở khu vực này. Năm 2016 (1.440 ca), năm 2017 (2.060 ca), 2018 (2.538 ca). Năm 2017 tăng 43,1% (2.060/1.440) so với cùng kỳ 2016; năm 2018 tăng 23,20% (2.538/2.060) so với cùng kỳ 2017. Phân bố BNSR theo tháng toàn quốc năm 2018 so với năm 2017 và trung bình các tháng 5 năm 2013-2017 cho thấy số BNSR trong các tháng năm 2018 cao ở các tháng cuối năm (tháng 9-12) và các tháng đầu năm (tháng 1-5). BNSR giảm và duy trì mức 400-500 ca các tháng giữa năm (tháng 4-8). So với các tháng năm 2017, BNSR các tháng năm 2018 thấp hơn, các tháng năm 2017 thấp nhất 558 ca vào tháng 1, các tháng còn lại cao trên 600 ca và cao nhất vào tháng 12 năm 2017 với 1.043 ca. So với giai đoạn (2013-2017), số BNSR các tháng năm 2018 thấp hơn đáng kể, trung bình tháng giai đoạn

(2013-2017) thấp ở các tháng 2 đến tháng 8, thấp nhất vào tháng 4 (1.287 ca) và cao nhất 10-12 và tháng 1 (trên 1.700 ca).

Về diễn biến số BNSR và KSTSR giai đoạn (2009-2017) cho thấy giảm dần đều qua giai đoạn (2009-2018) với số BNSR cao nhất là 60.867 ca, BNSR bắt đầu giảm từ năm 2010 (54.297) xuống còn 35.406 ca năm 2013 và giảm dần qua các năm; năm 2018 BNSR là 6.870, giảm 88,71% so với năm 2009. Số KSTSR từ năm 2009 duy trì mức cao đến năm 2014 (16.130 ca, 15.752 ca) và giảm nhiều từ 2015-2016. Số KSTSR tăng liên tiếp trong 3 năm gần đây với năm 2016 (4.161 ca), năm 2017 (4.548 ca), 2018 (4.813 ca) [3].

Số KSTSR năm 2018 giảm ở hầu hết các khu vực, riêng Tây Nguyên tăng 27,18% so với năm 2017. Năm 2018, BNSR tăng ở 14 tỉnh, phân bố ở các khu vực như sau: Khu vực miền Bắc: Bắc Kạn tăng 1 ca (5/4), Hòa Bình tăng 2 ca (4/2), Hà Nội tăng 3 ca (16/13), Nghệ An tăng 8,33% (26/24). Khu vực miền Trung: Đà Nẵng tăng 3 ca (5/2), Thừa Thiên Huế tăng 8 ca (15/7), Phú Yên tăng 376,47% (324/68), Bình Định tăng 18,42% (45/38), Bình Thuận tăng 2 ca (102/100). Khu vực Tây Nguyên có Gia Lai tăng 30,76% (1.101/842), Kon Tum tăng 26,42% (134/106), Đắk Lắk tăng 46,29% (768/525). Số lượng KSTSR 10 tỉnh cao nhất chiếm 89,03% so với toàn quốc (4.285/4.811) gồm Bình Phước 1.243 ca, Gia Lai 1.101 ca, Đắk Lắk 768 ca, Phú Yên 324 ca, Đắk Nông 218 ca, Lâm Đồng 175 ca, Kon Tum 134 ca, Khánh Hòa 125 ca, Bình Thuận 102 ca, Quảng Bình 95 ca.

SRAT năm 2018 giảm 25 ca so với cùng kỳ năm 2017 (12/37). Các tỉnh có số SRAT cao nhất là Bình Phước, Gia Lai, Khánh Hòa. Số BNSR tử vong hàng năm giai đoạn 2009-2011 ở ngưỡng cao (14-27 ca), cao nhất là 2009 với 27 ca. Trong 5 năm gần đây, TVSR ở ngưỡng dưới 6 ca do công tác phát hiện, điều trị tăng cường và biện pháp can thiệp bằng phun tồn lưu và tấm màn hóa chất được chú trọng ở các quần thể nguy cơ vùng SRLH. Hai tỉnh có KSTSR cao nhất là Bình Phước và Gia Lai, có 6 tỉnh tăng KSTSR so với cùng kỳ năm 2017 như Gia Lai tăng 30,76%, Đắk Lắk tăng 46,29%, Phú Yên tăng 376,47%, Lâm Đồng tăng 17,45%, Kon Tum tăng 26,42%, Bình Thuận tăng 2%. Số lượng KSTSR năm 2018 cao nhất ở khu vực Tây Nguyên và Đông Nam Bộ.

Đây cũng là nơi có 3 tỉnh có KSTSR cao nhất trong toàn quốc Bình Phước, Gia Lai và Đắk Lắk. Số lượng KSTSR khu vực Tây Nguyên và Đông Nam Bộ chiếm 77,93% (3.751/4.813) so với tổng số KSTSR cả nước.

Bảng 1.2. Các tỉnh/ thành có số KSTSR cao nhất năm 2018 vào với 2017

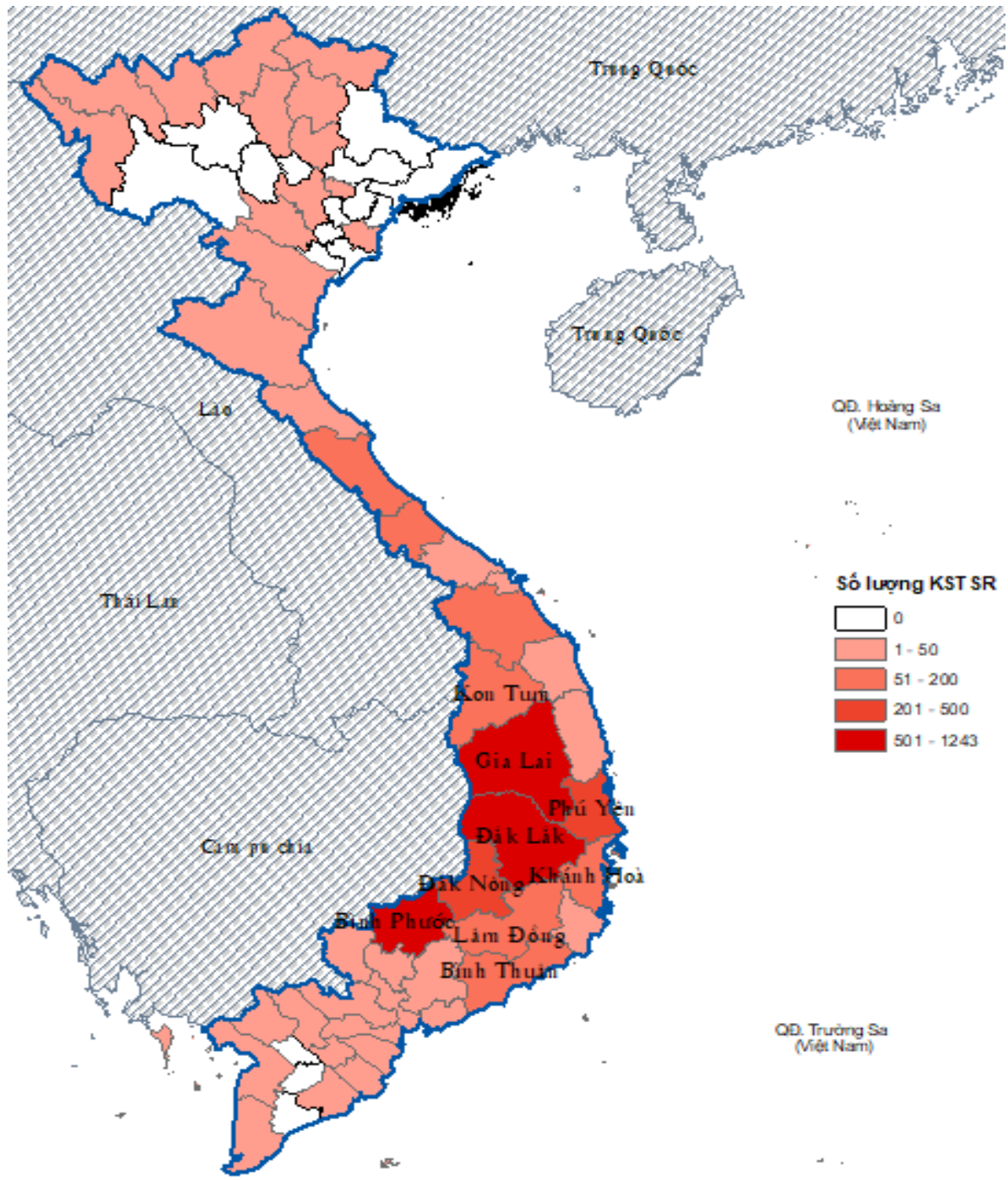
TT	Tỉnh có SRLH	KSTSR năm 2018	Tỷ lệ KSTSR/ 1.000 dân	Tỷ lệ KSTSR/ 1.000 dân số SRLH	KSTSR năm 2017	% KSTSR tăng (+), giảm (-)
1	Bình Phước	1.243	1,28	1,51	1.352	-8,06
2	Gia Lai	1.101	0,76	1,13	842	+30,76
3	Đắk Lắk	768	0,40	0,52	525	+46,29
4	Phú Yên	324	0,34	1,03	68	+376,47
5	Đắk Nông	218	0,36	0,40	262	-16,79
6	Lâm Đồng	175	0,14	0,26	149	+17,45
7	Kon Tum	134	0,23	0,31	106	+26,42
8	Khánh Hoà	125	0,10	0,65	144	-13,19
9	Bình Thuận	102	0,08	0,15	100	+2,00
10	Quảng Bình	95	0,10	0,23	122	-22,13

Điểm đặc biệt cần lưu ý là số BNSR từ năm 2017-2018 cao nhất ở các tỉnh Tây Nguyên có liên quan trên nhóm dân nguy cơ cao như đi rừng, ngủ rẫy và có liên quan công việc dài ngày trong rừng để lấy mật ong, phong lan, lấy gỗ, thu hoạch theo vào mùa vụ của từng vùng ở vùng giáp ranh giữa 3 tỉnh Phú Yên, Đắk Lắk và Gia Lai (vùng giao thoa giữa rừng quốc gia Yok Đôn).

Năm 2018, cả nước có 4.813 bệnh nhân có KSTSR, trong đó *P. falciparum* chiếm 61,62%, *P. vivax* chiếm 36%, nhiễm phối hợp chiếm 2%. Cơ cấu KSTSR trong năm 2018 có sự khác nhau giữa các khu vực: Khu vực miền Bắc có 104 KSTSR, trong đó có 61 KST *P. falciparum* chiếm 58,65%; 38 KST *P. vivax* chiếm 36,54%; 2 ca *P. malariae* chiếm 1,92%, 2 ca *P. ovale* chiếm 1,92%, 1 KST phối hợp chiếm 0,96%. Khu vực miền Trung và Tây Nguyên có 3.315 KSTSR, trong đó:

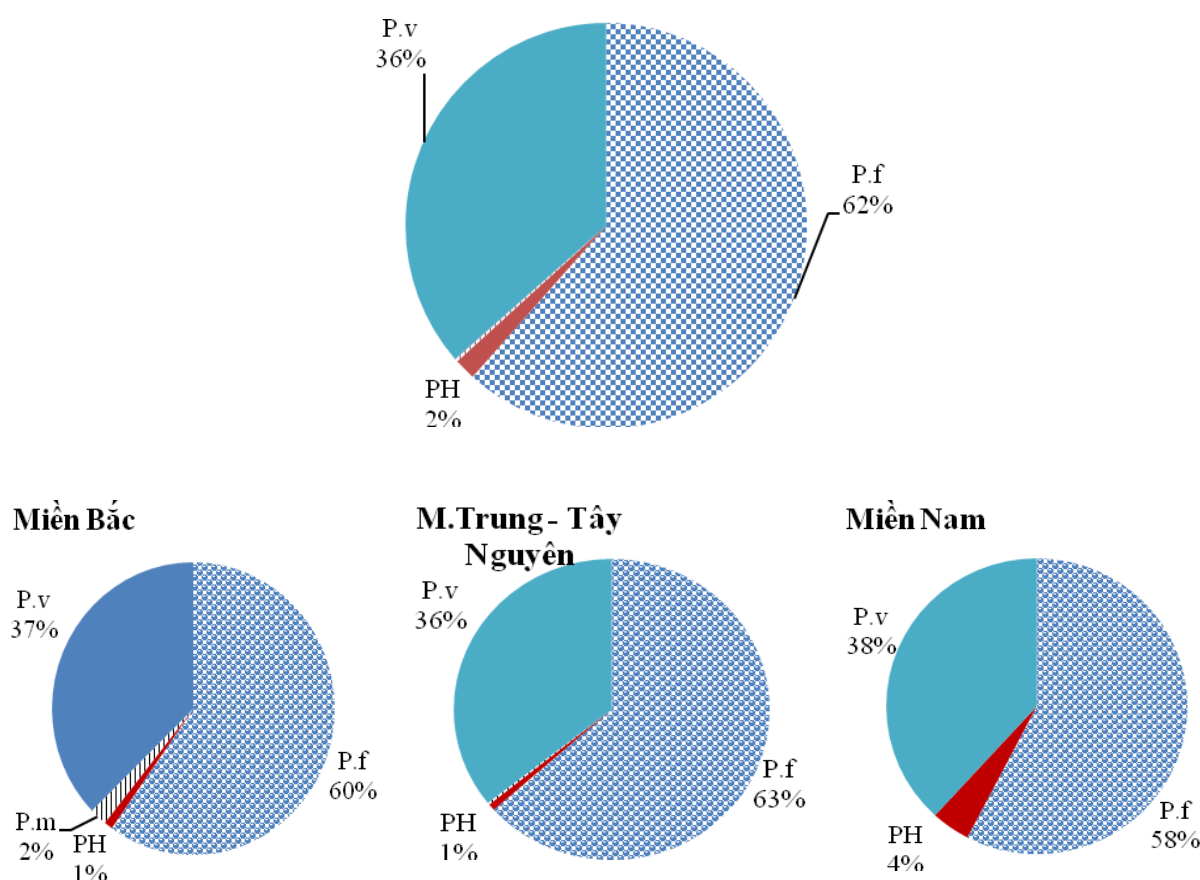
2.103 ca *P. falciparum* chiếm 63,44%; 1.181 ca *P. vivax* chiếm 35,63%; 7 ca *P. malariae* chiếm 0,21%, 24 KST phối hợp chiếm 0,72%.

Khu vực miền Nam có 1.394 ca KSTSR, trong đó có 802 ca *P. falciparum* chiếm 57,53%; 532 ca *P. vivax* chiếm 38,16%, 2 ca *P. malariae* chiếm 0,14%, 58 ca nhiễm phối hợp chiếm 4,16%. Tỷ lệ *P. falciparum* cao (58-63%) ở tất cả khu vực, do một số yếu tố như việc quản lý BNSR trên đối tượng di biến động gặp khó khăn và việc điều trị gặp khó khăn vì hiện tại tình trạng kháng.



Hình 1.3. Bản đồ phân bố mức độ ký sinh trùng sốt rét năm 2018

Nguồn: Viện Sốt rét-KST-CT TƯ, 2018



Hình 1.4. Cơ cấu ký sinh trùng sốt rét trên toàn quốc năm 2018

Nguồn: Viện Sốt rét-KST-CT TƯ, 2018

Diễn biến KSTSR năm 2018: KSTSR tăng vào tháng 2 (465 ca) sau đó giảm dần đến tháng 6 (195 ca) giống chu kỳ năm 2017. KSTSR những tháng cuối năm tăng đến tháng 11 (645 ca), tuy nhiên giảm mạnh vào tháng 12, đây là diễn biến khác biệt so với những năm trước đây. KSTSR năm 2018 ở mức cao hơn so với 2017. Số KSTSR trung bình các tháng năm 2018 thấp hơn các tháng giai đoạn 2013-2017. Diễn biến khác biệt: tăng cao ở tháng 2 và giảm thấp ở tháng 12 so với giai đoạn 5 năm trước 2013-2017. KSTSR chủ yếu là tại nội địa với 3.132 ca chiếm 65% trong tổng số KSTSR toàn quốc. Khu vực miền Trung có tỷ lệ lây truyền tại chỗ thấp chỉ 36%. Khu vực Tây Nguyên và Đông Nam Bộ có tỷ lệ cao 70-80% ca KSTSR lây truyền tại chỗ.

Toàn quốc ghi nhận 4.813 ca có KSTSR, trong đó có 392 ca ngoại lai từ

châu Phi, Lào và Campuchia, chiếm 8,15% trong tổng số KSTSR toàn quốc. Các tỉnh có KSTSR ngoại lai như Bình Phước (212 ca), Gia Lai (197 ca), Quảng Bình (69 ca), Đắk Lắk (51 ca), Quảng Trị (43 ca). KSTSR ngoại lai từ nước ngoài chủ yếu từ Angola (Châu Phi), Lào và Campuchia: KSTSR ngoại lai từ Châu Phi năm 2018 có 43 ca, phân bố ở các tỉnh, thành Hà Nội (14 ca), Nghệ An (12 ca), Hà Tĩnh (9 ca), Thái Nguyên (2 ca), Quảng Ninh (2 ca), Bắc Ninh (2 ca), Thanh Hóa (1 ca), Tiền Giang (1 ca). KSTSR ngoại lai từ Lào: 104 ca, phân bố ở các tỉnh: Quảng Bình (40 ca), Quảng Trị (37 ca), Nghệ An (5 ca), Hà Tĩnh (4 ca), Thừa Thiên-Huế (8 ca), Kon Tum (3 ca), TP. Đà Nẵng (1 ca), An Giang (1 ca). KSTSR ngoại lai từ Campuchia 245 ca, phân bố ở các tỉnh: Bình Phước (197 ca), Tây Ninh (12 ca), Gia Lai (7 ca), Hà Tĩnh (7 ca), Đắk Lắk (5 ca), Quảng Bình (3 ca), Nghệ An (3 ca), TP. Đà Nẵng (2 ca), Vĩnh Long (2 ca), Thanh Hóa (1 ca), Đồng Tháp (1 ca).

1.2. Một số phương pháp phát hiện, chẩn đoán sốt rét

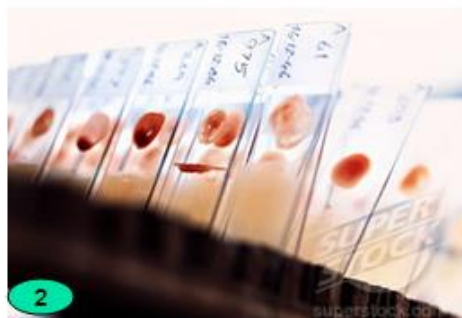
Chẩn đoán sốt rét dựa vào phát hiện KSTSR là một trong những thành tố “chìa khóa” để theo dõi và quản lý ca bệnh theo khuyến cáo (Bộ Y tế, 2016) với các công cụ chính là kính hiển vi (KHV), test nhanh phát hiện kháng nguyên và phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR). Ngoài chẩn đoán chuẩn vàng giếm sa, với sự phát triển của khoa học, ngày càng cho ra mắt nhiều kỹ thuật xét nghiệm KSTSR hoặc các thành phần của KSTSR trong máu thông qua mẫu máu hoặc dịch sinh học lấy từ bệnh nhân (phương pháp lấy da nội bì, miễn dịch hấp phụ men ELISA, phản ứng ngưng kết, phát hiện hạt sắc tố trong các tế bào bạch cầu và đại thực bào bằng máy huyết học, test RDTs phát hiện đơn loài *P. falciparum* hoặc đa loài. Phương pháp khuếch đại chuỗi DNA hoặc RNA là PCR, nested PCR, PCR siêu nhạy dựa trên phát hiện chất liệu di truyền DNA hoặc RNA của ký sinh trùng *Plasmodium* spp., có độ nhạy, độ đặc hiệu cao trong phát hiện chẩn đoán [85], song chi phí-hiệu quả cần quan tâm khi triển khai thường quy.

Nếu chỉ dựa vào triệu chứng lâm sàng thì rất ít đặc hiệu cho các ca bệnh. Vì nhiều nguyên nhân có thể gây sốt khác cùng tồn tại trong vùng nhiệt đới, khi đó quy kết mà không có kết quả khẳng định dẫn lạm dụng thuốc, không hợp lý, không cần thiết và đe dọa tính mạng bệnh nhân [58]. Do đó, khi quản lý ca có sốt, điều có

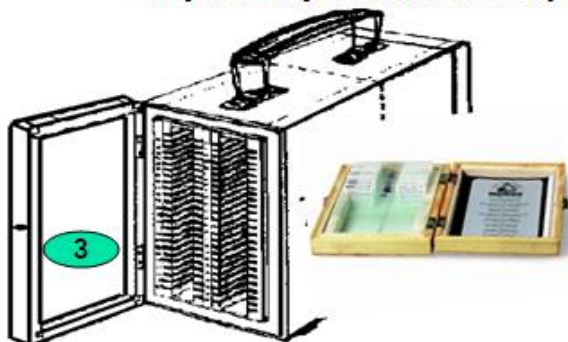
thể biết nếu tình trạng SR hay bệnh khác đơn thuần chỉ dựa trên lâm sàng thì có thể chưa đủ. Để điều trị tối ưu, việc chẩn đoán chính xác rất cần thiết. Xét nghiệm KSTSR không chỉ là cách chẩn đoán chính xác ca bệnh mà còn giúp cải thiện chăm sóc BNSR dương-âm tính giúp loại bỏ và không điều trị thuốc quá mức, tránh tác dụng ngoại ý thuốc trên cơ thể, tiết kiệm kinh phí, niềm tin của cộng đồng tăng lên trong việc chẩn đoán và điều trị những ca bệnh có sốt nhưng không phải SR [85].

1.2.1. Xét nghiệm lam máu nhuộm giêm sa phát hiện KST *Plasmodium* spp.

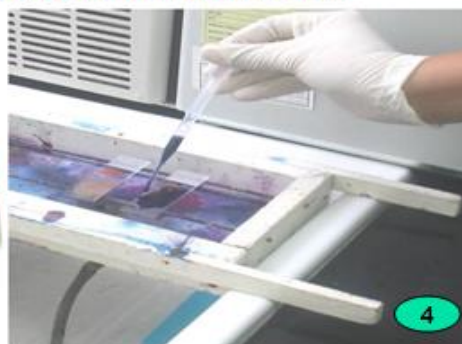
Xét nghiệm lam máu giọt dày và giọt mỏng nhuộm giêm sa soi dưới KHV là một phương pháp chẩn đoán hoàn hảo nhất đến nay [4]. Mặc dù, việc triển khai áp dụng các loại test chẩn đoán nhanh (RDTs) ngày càng phổ biến, nhất là tại các vùng khó tiếp cận điểm KHV và CSYT, thì chẩn đoán giêm sa dựa vào KHV vẫn còn là “chuẩn vàng” và chưa có một phương pháp/kỹ thuật nào sánh được bởi đây là một khâu phát hiện bao phủ cả về định tính (xác định loài, định thể và giai đoạn KSTSR) và định lượng (đếm được mật độ KST/ μ L máu) [4], giúp theo dõi và tiên lượng BNSR trong suốt quá trình điều trị, nhất là những ca bệnh đe dọa hoặc SRAT, giúp giám sát hiệu lực thuốc sau điều trị, hoặc còn giúp phân biệt các bệnh lý có sốt không do SR.



Quy trình lấy lam máu và nhuộm trong nghiên cứu *in vivo*



Hộp lam thực địa



Hình 1.5. Quy trình làm lam máu nhuộm giêm sa chẩn đoán sốt rét

Và lại, đây là phương pháp đạt được chi phí - hiệu quả và mang tính bền vững cao tại cộng đồng. Các chương trình của TCYTTG nhấn mạnh việc nâng cao kỹ năng, chất lượng KHV phục vụ sốt rét tại một số quốc gia là thiết thực cùng với các chiến lược khác mới xây dựng tổng hòa các biện pháp PCSR, tiến tới LTSR. Song nhược điểm là phải đào tạo dài ngày, XNV có kinh nghiệm nếu không trả lời kết quả nhầm lẫn, sai sót, phải cung cấp thường xuyên các hóa chất có chất lượng, nguồn nước sạch và mạng lưới điện cũng như hệ thống quản lý chất lượng. Hơn nữa, nếu mật độ KSTSR thấp thì KHV cũng dễ bỏ sót nếu soi trong phạm vi vi trường quy định [4],[5]. Do đó, để XN lam máu đạt chuẩn là rất quan trọng, song đến nay việc áp dụng test nhanh nên KHV có thể hạn chế trong hoạt động vì sự tiện ích của test hơn so với KHV về cả thời gian và đọc kết quả.

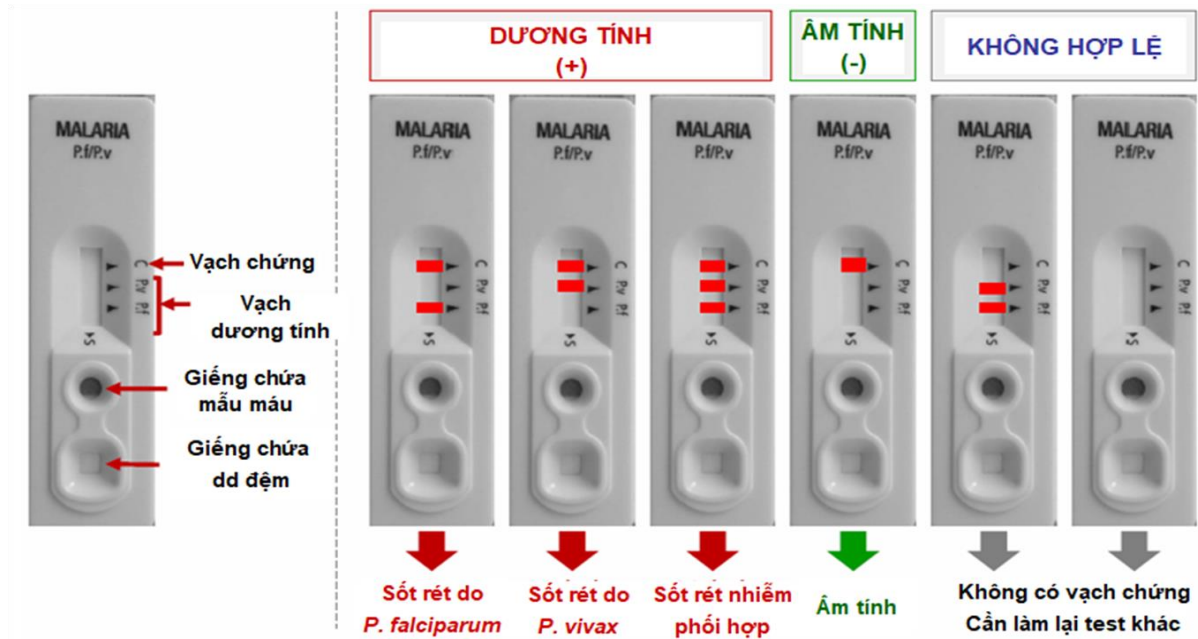
Việc duy trì chẩn đoán SR có độ tin cậy cao được dễ dàng bằng sử dụng KHV ở các nước đang phát triển phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau như trình độ và kinh nghiệm của người đào tạo là vấn đề quan trọng, đặc biệt là những người sau này thực hiện đánh giá XNV quốc gia. Vì thế việc đảm bảo chất lượng các điểm KHV là cần thiết và thường quy để đảm bảo hệ thống hoạt động có hiệu quả nhất.

1.2.2. Test nhanh phát hiện kháng nguyên chẩn đoán sốt rét

Song song với chuẩn vàng giêm sa, hiện nhiều vùng SRLH đã áp dụng test chẩn đoán nhanh (RDTs) phát hiện kháng nguyên của KSTSR *Plasmodium* spp. để chẩn đoán SR. Lợi điểm của RDTs chính là bất cứ CBYT nào cũng thực hiện được, không cần đào tạo dài ngày và phiên giải kết quả rõ ràng dựa vào vạch âm và dương tính hay nhiễm phối hợp, không cần nguồn điện ổn định, giảm công lao động, trả lời kết quả nhanh phục vụ cho chẩn đoán và điều trị kịp thời. Hơn nữa, trong các ca SRAT đơn tạng hay đa phủ tạng thì KSTSR thường ẩn cư trong lòng vi huyết quản và mao mạch máu sâu, hay các phủ tạng, không ra máu ngoại vi nên xét nghiệm KHV có thể âm tính, khi đó chỉ cần XN nhanh cho ra kết quả dương tính và quyết định điều trị nhanh, giảm biến chứng, giảm tử vong tại các tuyến [80].

Tuy nhiên, RDTs vẫn có các nhược điểm như nếu mật độ KSTSR quá thấp hay quá cao cho kết quả âm tính (do không hình thành (nếu thấp) hoặc ức phản

ứng kháng nguyên - kháng thể (nếu cao hoặc hiện tượng prozone) [59], do sự tồn tại kháng nguyên trong máu ngay cả khi KSTSR đã chết, nên xét nghiệm có thể cho dương tính kéo dài, vì thế không thể áp dụng test nhanh trong theo dõi diễn biến ca bệnh điều trị, bảo quản test cần lưu ý không để nhiệt độ quá cao hoặc quá thấp cũng có thể gây hỏng test hoặc biến tính chất liệu cellulose của que thử.



Hình 1.6. Phiên giải kết quả test nhanh sốt rét phát hiện *P. falciparum* / *P. vivax*

Gần đây, một số nghiên cứu cũng chỉ ra test nhanh có thể cho kết quả âm tính giả do quần thể *P. falciparum* một số vùng SRLH có đột biến mất đoạn gen mã hóa cho protein giàu histidine (histidine-rich protein 2/ HRP2) như ở Nam Mỹ và châu Phi [83], nên cũng có thể là một yếu điểm, cần thiết kể lại kháng thể khác cho test sao cho phù hợp với tình hình nhiễm loài gì và loại kháng nguyên trên que [16].

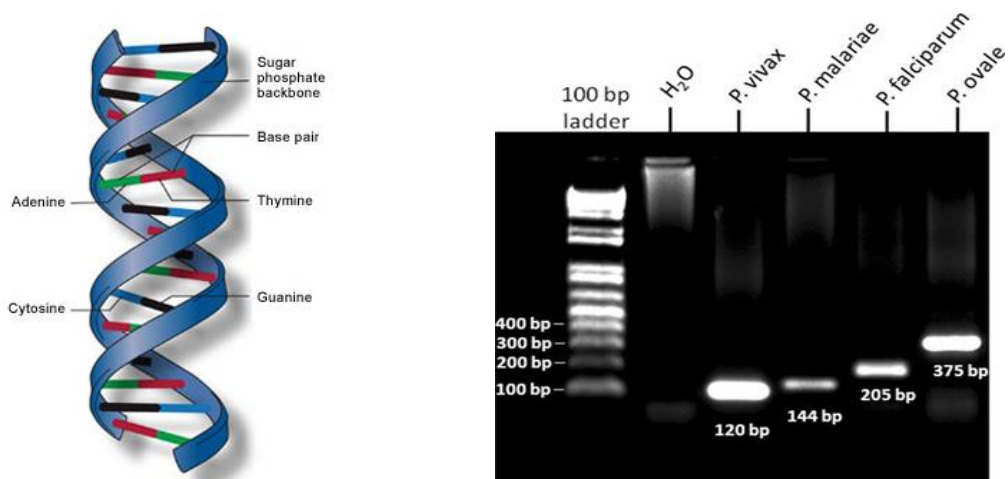
Nhìn chung, RDTs cho phép tiếp cận phạm vi rộng để chẩn đoán mà bản thân KHV không thể đạt được. Khi các CBYT được đào tạo và giám sát tốt về thực hành RDTs, các thầy thuốc lâm sàng có thể tin tưởng vào kết quả RDTs và an toàn, hợp lý khi chỉ định thuốc cũng như loại bỏ các ca âm tính [59].

1.2.3. Xét nghiệm sinh học phân tử chẩn đoán ký sinh trùng sốt rét

Bên cạnh các phương pháp cổ điển dùng chẩn đoán KSTSR gây bệnh trên người như chuẩn vàng giếm sa, test RDTs thì các kỹ thuật dựa trên nguyên lý phản ứng trùng hợp PCR như PCR cổ điển từng được dùng từ những năm 2000 trên thế giới cũng như ở Việt Nam [9],[10],[15] mang lại kết quả giá trị trong việc xác định

cơ cấu KSTSR tại vùng có SRLH, nhất là Bình Phước và miền Trung-Tây Nguyên, nested-PCR, real-time PCR, ultra-PCR đang được dùng trong chẩn đoán bệnh [74].

Phương pháp PCR có khả năng tạo hàng triệu bản sao của trình tự gen mục tiêu thông qua quy trình sao chép tổng hợp của DNA trong điều kiện đã được cài đặt sẵn trong môi trường *in vitro* với sự hiện diện của các cặp mồi đặc hiệu. Phương pháp nested PCR (PCR lồng), sản phẩm của phản ứng PCR lần 1 làm khuôn cho phản ứng PCR lần 2.



Hình 1.7. Nguyên lý và phiên giải kết quả PCR trong chẩn đoán sốt rét

Nested PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu để nhân bản bộ gen của loài *Plasmodium* spp. trong phản ứng PCR lần 1. Sau đó, tiếp tục dùng các cặp mồi đặc hiệu cho từng loài *Plasmodium* spp. trong phản ứng PCR lần thứ 2. Kỹ thuật này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, có thể phát hiện KST khi ở mật độ rất thấp mà các phương pháp khác không thể. Đây được xem là chuẩn vàng mới trong chẩn đoán do độ nhạy và độ đặc hiệu cao [5],[20]. Real-time PCR có cùng nguyên lý với PCR, cũng là một phản ứng nhân lên các DNA, trình tự đặc hiệu nhưng có sử dụng chất phát huỳnh quang hiện tín hiệu ngay trong bước bắt cặp mồi và kéo dài chuỗi. Do đó, phương pháp này vừa có thể phát hiện KSTSR vừa có thể định lượng KST trong mẫu máu xét nghiệm theo thời gian thực dựa trên mẫu dò [24].

1.3. Một số nghiên cứu đánh giá người mang KSTSR không triệu chứng

Trong khi việc LTSR mang lại một giá trị bền vững và vẫn đang tiến hành củng cố các yếu tố bền vững ở 50 trong số 63 quốc gia và vùng lãnh thổ tiến hành LTSR thành công, thì sốt rét vẫn còn là một vấn đề y tế quan trọng tại châu Tây Thái Bình Dương. Nối tiếp thành công trong việc giảm thiểu số ca mắc BNSR

97% và số ca TVSR đến 99,8% trong giai đoạn từ năm 1991-2014, Việt Nam đang tiến hành lộ trình loại trừ sốt rét từ nay đến 2030. Mặc dù có sự xuất hiện của các vector tiềm năng, những ca bệnh ngoại lai và ở giáp biên giới với các quốc gia có SRLH. Các vấn đề đang gây thêm những trở ngại phức tạp cho các kế hoạch LTSR tại khu vực Tiểu vùng Sông Mê Kông chính là sự xuất hiện chủng KSTSR *P. falciparum* đa kháng thuốc, đặc điểm sinh học phức tạp của vector bao gồm các loài muỗi đốt môi ngoài nhà và số lượng lớn dân di cư tự do, người thường xuyên làm việc và ngủ lại trong rừng.

Một điểm chính trong “Chiến lược Kỹ thuật sốt rét toàn cầu 2016-2030” của TCYTTG là nhu cầu chuyển đổi giám sát thành một hoạt động can thiệp cốt lõi. Trong y tế công cộng, mục tiêu của việc giám sát là nhằm cung cấp thông tin để định hướng cho các biện pháp can thiệp và giúp các nhà hoạch định chính sách quản lý hiệu quả hơn thông qua những bằng chứng hữu ích và kịp thời. Để có thể tiến hành việc giám sát sốt rét hiệu quả, các chương trình đòi hỏi phải giải quyết các hoạt động chính bao gồm khả năng định vị chính xác sự lan truyền, nhắm đến việc đáp ứng phù hợp, đảm bảo việc dùng hiệu quả biện pháp can thiệp đúng chỗ.

1.3.1. Nghiên cứu trên thế giới

Sự góp phần của những người mang KSTSR mật độ thấp dưới ngưỡng phát hiện KHV hoặc RDTs đối với sự lan truyền SR rất quan trọng, cần được tính toán cụ thể. Những ca nhiễm này thường không được điều trị, kéo theo dẫn đến việc những KSTSR mang trong vật chủ đó không phải chịu áp lực thuốc chọn lọc. Điều quan trọng là phải biết được các vật chủ không biểu hiện triệu chứng này có thể chứa KSTSR kháng thuốc tới mức độ nào. Cụ thể hơn, đòi hỏi phải nắm rõ chi tiết về sự lan truyền của chủng *P. falciparum* kháng artemisinin trong và giữa các cộng đồng tại các vùng có mức độ lan truyền khác nhau để hiểu rõ làm thế nào KSTSR kháng thuốc artemisinin lan rộng như thế.

Nếu có thể xác định các điểm nóng có tỷ lệ nhiễm *P. falciparum* cao, thì có thể có cơ sở hợp lý để tiến hành loại trừ bằng hóa chất nhắm chủ đích tới một khu vực cụ thể. Bên cạnh đó, điều quan trọng cần biết đó là những vật chủ chứa không biểu hiện triệu chứng mang cùng một chủng KSTSR trong khoảng thời gian bao

lâu, vì điều này giúp xác định tác động đối với tỷ lệ mắc mới và tỷ lệ nhiễm hiện có của sự lan truyền đang giảm dần. Hơn nữa, vì SR đã giảm trong quần thể dân cư, những người chưa không biểu hiện triệu chứng ở Việt Nam với mật độ KSTSR thấp này tiếp tục duy trì là một nguồn chứa quan trọng cho việc lan truyền bệnh. Những người lành mang trùng không triệu chứng (NMTKTC) này tạo ra thách thức cho việc loại trừ vì quá khó để xác định và xử lý triệt để ổ bệnh, đặc biệt là bằng các công cụ chẩn đoán thường quy khó xác định. Công cụ và biện pháp tiếp cận mới đòi hỏi giám sát tăng cường có thể hỗ trợ.

Sử dụng thuốc tác động vào đích ổ chứa như một lựa chọn để giảm lan truyền giữa người và muỗi. Tuy nhiên, một NMTKTC chưa được điều trị đúng đích thông qua các CSYT. NMTKTC đóng vai trò quan trọng trong lan truyền, nên cần có phát hiện và xử lý ổ chứa KSTSR là rất quan trọng để loại trừ cả vùng lan truyền thấp và cao. Vì miễn dịch bán phần có thể làm “lu mờ” triệu chứng. Miễn dịch mắc phải từ nhiễm trùng trước đó và phát triển nhanh hơn khi có phơi nhiễm lại, hầu hết trẻ em sống trong vùng SRLH bảo vệ chống lại và giảm đi nguy cơ SRAT. Ngược lại, miễn dịch tăng theo sự trưởng thành của hệ miễn dịch và một phần nào đó không lệ thuộc vào số lần phơi nhiễm trong vùng lan truyền. Thời điểm tuổi trưởng thành, mật độ sau khi nhiễm thường giữ ở mức thấp, hay dưới ngưỡng phát hiện của KHV và hầu hết người lớn nhiễm không biểu hiện lâm sàng.

Phát triển bán miễn dịch chống sốt rét trên lâm sàng là đặc hiệu kháng nguyên qua trung gian phơi nhiễm với nhiều quần thể KSTSR khác nhau về mặt di truyền, gọi là clone. Bảo vệ chéo có thể do các clone tương tự về mặt di truyền. Trong các vùng SRLH cao, người dân thường phơi nhiễm với đa dạng clone, dẫn đến nhanh chóng hình thành miễn dịch và khi nhiễm thường không biểu hiện triệu chứng. Tuy nhiên, tại vùng SRLH thấp, tỷ lệ nhiễm đa dòng thấp hơn và hình thành miễn dịch chậm hơn và miễn dịch với *P. vivax* có được nhanh hơn so với *P. falciparum*. Tại Papua New Guinea, trẻ em từ 5-13 tuổi biểu hiện sốt gấp hơn 21 lần khi nhiễm *P. falciparum* so với *P. vivax*. Các số liệu này phản ánh trung thực vì trên các nhóm trẻ từ 1-4 tuổi gia tăng khả năng giữ mật độ KSTSR *P. vivax*, nhưng không đối với *P. falciparum*, dưới ngưỡng gây sốt.

Hầu hết định nghĩa NMTKTC có liên quan đến phát hiện được thể vô tính hoặc hữu tính và không có triệu chứng nào trong một thời gian đặc biệt. Nhiều nghiên cứu đã sử dụng ngưỡng mật độ KSTSR để định nghĩa SR lâm sàng và khi đó chỉ có ca nào sốt với mật độ KSTSR trên ngưỡng được quy kết là ca có triệu chứng. Điều này trong thực tế phân loại nhiễm trùng có sốt kèm theo mật độ thấp như là không triệu chứng vì sốt của họ không quy kết thống kê vào SR. Thời gian áp dụng NMTKTC cả trước và sau chẩn đoán khác nhau giữa các nghiên cứu. Một số nghiên cứu xác định NMTKTC khi không có sốt ở thời điểm điều tra, ngược lại một số khác đòi hỏi đến 60 ngày theo dõi không có triệu chứng [33],[46]. Trong một số ca, sốt chỉ là triệu chứng lâm sàng được xem xét và còn các triệu chứng bệnh không đặc hiệu khác nữa. Khi theo dõi không giám sát được tiến triển các triệu chứng và mối quan tâm là KSTSR trong máu được phát hiện trong thời gian ủ bệnh có thể phân loại sai như một nhiễm trùng không triệu chứng, nhưng thời gian giữa hoàn thành chu kỳ tiềm tàng với cuối thời gian ủ bệnh ngắn (~1 ngày đối với *P. falciparum* và 4 ngày đối với *P. vivax*) điều này có thể không thường xuyên.

Những yếu tố nào liên quan đến NMTKTC? Miễn dịch là yếu tố quan trọng quyết định ca bệnh đó sinh triệu chứng. Mức độ miễn dịch đối với SR được xác định bởi tiền sử phơi nhiễm và tuổi. Miễn dịch tăng dần đến phòng chống cải thiện với sự nhân lên của KSTSR và mật độ KST giảm, nên giảm tính trầm trọng bệnh. Một điều tra ở Mozambique, trẻ em dưới 10 tuổi với mật độ *P. falciparum* (1-499 KST/ μ l) có tỷ lệ sốt là 7,2%, so với 42,1% trong số các trẻ có mật độ ≥ 50.000 KST/ μ l. Tại Brazil, mật độ KST so sánh giữa nhóm có triệu chứng (tuổi 12-78) và nhóm không có triệu chứng (tuổi từ 4-56) không có sốt hay có triệu chứng trong 7 ngày trước khi lấy máu ở các ca nhiễm *P. vivax* và *P. falciparum*; mật độ thể vô tính tìm thấy thấp hơn trên nhóm không có triệu chứng đối với cả hai loài.

Tại các vùng lan truyền thấp ở Sudan, có một tỷ lệ NMTKTC cao hơn vào mùa lan truyền từ tháng 9-12 qua xét nghiệm PCR so với các giai đoạn khác (35% so với 8%) dù các ca đã được điều trị thuốc đầy đủ. Điều này, có thể do KSTSR kháng thuốc nên tồn tại một lượng thấp sau khi điều trị. Đồng nhiễm có thể ảnh hưởng lên sự hình thành các triệu chứng bởi sự thay đổi miễn dịch. Trẻ em đồng

nhễm với KST khác có thể phát hiện giao bào và mật độ giao bào cao hơn nhóm trẻ em chỉ nhiễm KSTSR, nên điều này có khả năng làm tăng lan truyền.

Ngưỡng phát hiện của KHV ước tính có thể 4-20 KST/ μ l tại la bê chuẩn, nhưng thực tế thường thấy 50-100 KST/ μ l ở điều kiện thực địa. Một test nhanh cho thấy có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn 90% đối với *P. falciparum* ở ngưỡng mật độ ≥ 200 KST/ μ l nhưng có thể không phát hiện ở mật độ thấp hơn. PCR là chuẩn vàng nếu mật độ thấp khoảng 0,02 KST/ μ l với quy trình thực hiện nhạy nhất. Tỷ lệ NMTKTC có khác nhau giữa các loài *Plasmodium* spp và tất cả loài có thể gây nhiễm không triệu chứng, nhưng phổ biến vẫn là *P. falciparum* và *P. vivax* so với các loài khác. NMTKTC với *P. ovale* rất hiếm nhưng đáng chú ý, ngược lại loài *P. malariae* được biết tồn tại trong dòng máu có thể không gây hoặc gây triệu chứng nhẹ. Nhiễm *P. vivax* hình thành miễn dịch nhanh hơn so với *P. falciparum* và do đó có thể kiểm soát mật độ KSTSR ở mức độ cao hơn. Một số so sánh triệu chứng giữa các cá nhân nhiễm *P. falciparum* với *P. vivax* được tiến hành tại các vùng có mật cả hai loài những vẫn đang tranh luận. Sử dụng KHV cho thấy tỷ lệ nhiễm không có triệu chứng *P. falciparum* (37,5%) so với *P. vivax* (18,5%) tại Brazil. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy tại Solomon thấy tỷ lệ nhiễm *P. vivax* (97,1%) cao hơn so với *P. falciparum* (82,2%) không biểu hiện triệu chứng sốt. Tại Campuchia, 92% số ca nhiễm *P. falciparum* và 83% ca nhiễm *P. vivax* không có triệu chứng.

NMTKTC có thể chuyển thành có triệu chứng. Tại Brazil, 93 ca là NMTKTC trong đó có 33 người tuổi từ 5 trở lên được theo dõi đến 2 tháng sau nhiễm và 7 ca (10,7%) trở nên có triệu chứng. Tuy nhiên, tỷ lệ lan truyền có thể giải thích 8 ca nhiễm mới. Một nghiên cứu thuần tập NMTKTC trên trẻ em Tanzania tuổi từ 1-5 theo dõi sau 31 ngày, 55,9% (19/34) trẻ xuất hiện sốt, điều này có liên quan đến mật độ. Một nghiên cứu tiến cứu về nguy cơ chuyển thành sốt rét có triệu chứng ở các vùng lan truyền cao ở Tanzania với 265 ca nhưng không biểu hiện triệu chứng, tuổi từ 1-84 qua 40 tuần và thấy 21 (7,9%) ca có sốt kèm theo mật độ KSTSR > 400 KST/ μ l. Nhiễm trùng không triệu chứng có thể ít có khả năng chuyển thành có triệu chứng hơn các ca có thể phát hiện KSTSR.

Tại Uganda, 25/63 ca (39%) trẻ em từ 6 tháng đến 5 tuổi nhiễm SR không triệu chứng thành có triệu chứng trong 20 tuần theo dõi so với 43/53 (82%) trẻ em nhiễm trùng có triệu chứng. Số liệu này cho thấy sốt rét mật độ thấp có thể tồn tại thời gian dài mà không sinh ra triệu chứng gì nếu không điều trị và không rõ yếu tố nào thúc đẩy dẫn đến có triệu chứng trên các bệnh nhân đó. Người ta cũng đưa ra ý tưởng tái nhiễm với clone mới có thể thúc đẩy tăng mật độ KSTSR và hình thành triệu chứng, nhưng các nghiên cứu khác chỉ ra triệu chứng có thể xuất hiện mà không có sự thay đổi về đa dạng dòng.

Vấn đề đặt biệt cần đặt ra là các NMTKTC có thể kéo dài thời gian bao lâu? Trên y văn cho thấy các quân nhân trở về từ các vùng SRLH đã kéo dài nhiễm trùng này đến 13 tháng với *P. falciparum*. Tiếp cận mô hình nghiên cứu thuần tập các nhóm tuổi ở Ghana với vùng có lan truyền *P. falciparum* cao, ước tính số NMTKTC có thời gian trung bình kéo dài đến 194 ngày. Tại các vùng có lan truyền theo mùa, NMTKTC mật độ thấp được coi tồn tại một thời gian cả mùa khô và đến mùa gieo hạt khi quần thể muỗi tăng theo môi trường ẩm ướt trở lại.

Tỷ lệ hay mật độ giao bào có khác nhau giữa nhiễm trùng có triệu chứng và không triệu chứng không. Nghiên cứu chỉ ra sự hiện diện giao bào *P. falciparum* có liên quan không triệu chứng và mật độ KSTSR thể vô tính thấp. Trong khi một số thuốc SR có thể kích thích sinh giao bào, mối liên quan này được phát hiện ngay cả điều trị hay không điều trị tăng giao bào và điều này có thể tăng từ sự xuất hiện đồng thời tự nhiên giữa việc chữa khỏi và chậm sinh giao bào *P. falciparum*. Tại Thái Lan, các ca *P. falciparum* không sốt và có mật độ thấp không lệ thuộc hay không liên quan đến việc tăng tỷ lệ giao bào. Các nhà nghiên cứu ở Gambia đánh giá trên các trẻ em nhiễm *P. falciparum* trong thử nghiệm dùng thuốc cho thấy không có sốt tại thời điểm đưa vào thăm khám có nguy cơ giao bào trong máu đến 67% và mật độ thể vô tính thấp (<100.000 KST/ μ l) tăng nguy cơ 5 lần.

Tương tự, trên các trẻ em mắc *P. falciparum* tại Nigeria, không có sốt liên quan đến tăng 61% giao bào trong máu và mật độ thể vô tính <5.000 KST/ μ l. Một tỷ lệ NMTKTC lớn hơn có thể có giao bào nhưng mật độ giao bào có cao không thì chưa rõ, khi tăng lượng giao bào *P. falciparum* từ thể vô tính, thì có một mối tương

quan thuận giữa mật độ thể vô tính và giao bào, dẫn đến một mối liên quan giữa mật độ thấp với nhiễm trùng không triệu chứng và mật độ giao bào cũng thấp. Tuy nhiên, cũng có thể các yếu tố viêm và miễn dịch không đặc hiệu liên quan đến nhiễm trùng có triệu chứng có thể gây tác động nghịch trên quá trình sinh giao bào, dẫn đến mật độ giao bào tăng cao hơn trên các NMTKTC. Tại Brazil, người mang giao bào *P. vivax* không triệu chứng có mật độ giao bào thấp hơn so với nhóm có triệu chứng đo bằng PCR. Tuy nhiên, tại Kenya, người mang giao bào *P. falciparum* không triệu chứng có mật độ giao bào lại cao hơn, nhưng mật độ thể vô tính lại thấp hơn so với nhóm có triệu chứng. Sự mâu thuẫn này có thể suy luận sự khác nhau về mặt sinh học của *P. falciparum* và *P. vivax*.

Mật độ giao bào có thể là yếu tố quan trọng xác định liệu muỗi có phát triển nhiễm trùng từ một lần hút máu không? Phân tích 930 thí nghiệm lan truyền cho thấy có mối liên quan tuyến tính thuận giữa mật độ giao bào với tỷ lệ nhiễm trong muỗi. Điều này chỉ ra nếu nhiễm trùng không triệu chứng có liên quan đến mật độ giao bào thấp, thì các NMTKTC ít có khả năng dẫn đến nhiễm trùng trên muỗi. Nghiên cứu tại Brazil chỉ ra khả năng phát triển NMTKTC vào sự lan truyền, 1,2% muỗi hút máu NMTKTC (n = 15) so với 22% số muỗi hút máu ở NMTKTC (n = 17) phát triển thành nang trứng trong ruột muỗi. Kỹ thuật cho muỗi ăn máu khác nhau trên 2 quần thể có thể ảnh hưởng, nhưng có thể có mật độ giao bào thấp hơn trên NMTKTC, góp phần vào sự khác nhau quan sát trên nhiễm trùng ở muỗi.

Có nhiều yếu tố liên quan đến sự có mặt của triệu chứng làm thay đổi tính nhiễm của muỗi. Tại Kenya, một tỷ lệ muỗi nhỏ hơn có ý nghĩa hút máu từ các bệnh nhân có triệu chứng (0,6%) đã phát triển thành nang trứng hơn nhóm đã hút máu từ người không có triệu chứng. Mặc dù, trên các ca có triệu chứng thì mật độ thể vô tính cao hơn nhưng mật độ giao bào thấp hơn các NMTKTC [17], các tác giả kết luận rằng sự phát triển các nang trứng trong muỗi tăng khi hút máu trên các NMTKTC không chỉ đơn thuần do mật độ giao bào cao mà còn tăng tính nhiễm của các giao bào này. Sự gia tăng chất lượng của giao bào này được thừa nhận bởi các tác giả khác, ngoài ra còn do các yếu tố khác như giai đoạn phát triển giao bào (đối với *P. falciparum*, triệu chứng có thể xảy ra sớm hơn khi giao bào không thể đạt

đến mức độ trưởng thành để đủ gây nhiễm - một đặc tính vốn có của KSTSR, một tác động lên triệu chứng học (đáp ứng sốt có thể ảnh hưởng lên tính nhiễm giao bào), hoặc đặc hiệu hơn với đáp ứng miễn dịch vật chủ như kháng thể làm giảm lan truyền bệnh.

Cường độ lan truyền ảnh hưởng đến tỷ lệ NMTKTC như thế nào? Suy diễn kinh điển tại vùng lan truyền thấp, tỷ lệ người nhiễm có triệu chứng thấp hơn ở vùng lan truyền cao vì mức độ miễn dịch quần thể giảm. Qua nghiên cứu gần đây cho biết việc dùng PCR khảo sát thấy tỷ lệ nhiễm không triệu chứng tại các vùng lan truyền khác nhau, chỉ có các nghiên cứu tính toán tỷ lệ nhiễm các loài KSTSR dựa trên thiết kế điều tra cắt ngang dựa vào quần thể, mặc dù các triệu chứng và giai đoạn thời gian tham chiếu định nghĩa NMTKTC khác nhau giữa các nghiên cứu. Dữ liệu cho thấy gia tăng tỷ lệ ổ chứa KSTSR không triệu chứng làm tăng lan truyền. Nghiên cứu phân tử cho tỷ lệ NMTKTC cao, nhưng cũng đồng thời xác định người mang KSTSR phát hiện trên KHV cũng chỉ có 80% số ca có biểu hiện triệu chứng mà thôi. Nghiên cứu tại Brazil, phối hợp phát hiện ca bệnh chủ động và thụ động trong thời gian 14 tháng để xác định các ca mắc mới trong vùng cho thấy có 96/326 (29,4%) ca SR được xác định là NMTKTC. Nghiên cứu cũng ghi nhận không có mối liên quan giữa cường độ lan truyền với tỷ lệ NMTKTC, thông qua xét nghiệm PCR trên các người không triệu chứng với cường độ lan truyền trong 34 nghiên cứu khác nhau tại 38 vùng gồm châu Mỹ Latinh, châu Á, châu Phi.

Độ tuổi có ảnh hưởng lên tỷ lệ NMTKTC không? Tại các vùng lan truyền cao, tỷ lệ quần thể nhiễm có xu hướng giảm theo tuổi, ngược lại tỷ lệ nhiễm không triệu chứng tăng theo tuổi do miễn dịch mắc phải và sự hoàn chỉnh của hệ miễn dịch. Một số tiếp cận đích với thuốc đến các ổ chứa NMTKTC bằng hình thức chỉ định điều trị hàng loạt (Mass Drug Administration - MDA), tiếp cận thứ hai là sàng lọc toàn bộ cộng đồng bằng xét nghiệm và chỉ điều trị ca nào nhiễm (Mass screen and Treat - MsaT) và tiếp cận thứ ba là điều trị lặp lại trên các nhóm người có nguy cơ cao mà không cần xét nghiệm hay điều trị dự phòng từng đợt IPT). Ngược với mục tiêu của hai tiếp cận đầu tiên là làm giảm lan truyền bệnh, thì chiến lược IPT được hiểu là làm giảm gánh nặng sốt rét và các hậu quả liên quan trên các nhóm nguy cơ,

mặc dù về mặt lý thuyết có thể tác động lên lan truyền và giảm ổ chứa từ nhóm nguy cơ cao rất có ý nghĩa. Các tiếp cận này có thể điều chỉnh bởi tiếp cận đích các vùng địa lý nhỏ hơn như điểm nóng lan truyền hay phối hợp với các biện pháp can thiệp khác, như là theo dõi phát hiện ca bệnh thụ động ở các vùng lan truyền khác nhau. Thêm vào đó, tần số MDA và MSaT có thể hiệu chỉnh tùy theo cường độ lan truyền, theo từng mùa và loại thuốc sử dụng.

Tiếp cận dữ liệu NMTKTC có thể làm giảm lan truyền bệnh không? Nghiên cứu chỉ ra tiếp cận đích ổ chứa KSTSR không triệu chứng bằng MSaT hoặc MDA cho kết quả giảm lan truyền. Griffn và cộng sự tìm thấy giảm tỷ lệ mắc từ 5-12% ở vùng lan truyền từ thấp đến vừa qua chương trình 15 năm. Tại các vùng lan truyền cao, mô hình MSaT đơn thuần cho kết quả giảm lan truyền rõ rệt. Sử dụng mô hình tương tự, Obina Onwujekwe kiểm tra tác động của MDA và MSaT về độ bao phủ, thuốc lựa chọn, thời gian và độ nhạy của kỹ thuật sàng lọc cho thấy MDA cải thiện đáng kể LTSR [36] tại các vùng lan truyền quy mô nhỏ hơn. Tại các vùng lan truyền vừa, áp dụng MDA một đợt không có hiệu quả kéo dài nhưng thực hiện lặp lại có thể làm giảm lan truyền. Một thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng giả dược MDA tại Gambia, châu Phi năm 1999 cho thấy áp dụng một vòng MDA với thuốc SP và liều duy nhất artesunate vào mùa khô cho kết quả giảm tỷ lệ mắc mới sốt rét không bền vững qua 20 tuần theo dõi, hay thử nghiệm ở Ninh Thuận, Việt Nam cũng cho hiệu quả một thời gian sau đó tăng trở lại [31].

Thử nghiệm khác tại Tanzania áp dụng MDA cắt lan truyền thông qua sử dụng liệu trình artesunate và sulfadoxine/pyrimethamin và primaquin để làm sạch giao bào diện rộng và làm giảm lan truyền. Thử nghiệm MDA một vòng bằng liệu trình dihydroartemisinin-piperaquine và primaquin liều thấp mỗi 10 ngày trong vòng 6 tháng tại 17 làng của Campuchia thấy rằng tỷ lệ mắc trên cả trẻ em và người lớn đều giảm đáng kể sau 3 năm từ 52,3% xuống 2,6% qua kiểm tra lam máu. Áp dụng MSaT cho các NMTKTC tiến hành ở quy mô lớn tại Đài Loan, Ấn Độ, Oman, Brazil, Trung Quốc và Philippines đã giúp giảm lan truyền.

Trung Quốc cũng có thể đạt LTSR với một tỷ lệ đáng kể vào giữa thế kỷ 20 thông qua phát hiện ca bệnh chủ động, tập trung trên cả người có triệu chứng và

không triệu chứng. Mặc dù thành công, song các kinh nghiệm dùng MSaT từ giai đoạn 1950-1990 không có một nhóm chứng và các biện pháp can thiệp thường phối hợp với nhau. Áp dụng MSaT chỉ tại các điểm nóng sốt rét còn gọi là sàng lọc và điều trị có chỉ điểm hay tập trung (focal or focused screen and treat-FSaT). Chương trình PCSR của Zanzibar đã tiến hành trước mùa lan truyền với hoạt động FsaT tại các điểm nóng cho kết quả giảm số ca đáng kể qua thời gian so với nhóm chứng. FSaT dùng PCR ở 20 làng của Campuchia năm 2010 với 6.931 người dân (72,7%) qua thời gian 5 tháng. Tổng số 133 ca nhiễm KSTSR được điều trị thành công, nhưng tác động lên lan truyền vẫn chưa rõ. Tại Zambia, dùng test nhanh chẩn đoán qua phát hiện ca bệnh thụ động có tỷ lệ dương tính cùng với PCR là 8% và ngoài ra PCR còn phát hiện thêm 0,7% ca không có triệu chứng.

1.3.2. Nghiên cứu tại Việt Nam

Tại Việt Nam, nghiên cứu về NMTKTC còn ít, một nghiên cứu đa trung tâm tại các quốc gia Đông Nam Á (Imwong và cs., 2015) vào gồm cả Việt Nam [29] cho thấy vùng SRLH nặng, vừa và nhẹ của tỉnh Bình Phước có tỷ lệ NMTKTC lần lượt 14,6%; 9% và 4,6% hoặc nghiên cứu của Huỳnh Hồng Quang và cộng sự (2016) tiến hành tại tỉnh Quảng Ngãi, Đà Nẵng, Huế đang tiến tới LTSR của cho tỷ lệ NMTKTC chung các vùng lan truyền 2% qua nested-PCR [39].

Nhìn chung, nhiễm KSTSR lặp đi lặp lại qua thời gian theo dõi có thay đổi mức độ miễn dịch quần thể trong vùng có SRLH khác nhau. Trường hợp NMTKTC là nhiễm trùng “thâm lặng”, nếu không điều trị dễ dẫn đến nhiễm trùng mạn tính và kéo dài đến 6 tháng hoặc dài hơn [26]. NMTKTC có thể có mang giao bào cao và tự chúng mất đi thì làm thay đổi tính nhiễm. Tuy nhiên, tỷ lệ muỗi nhiễm tăng lên từ hậu quả ổ chứa của các nhiễm trùng không triệu chứng có thể cao do phối hợp các lần nhiễm trong cùng quần thể. Tại vùng SRLH thấp, NMTKTC góp phần vào khâu lan truyền, đặc biệt khi có lan truyền theo mùa thì nhóm NMTKTC đóng vai trò như một nguồn nhiễm cho một thế hệ muỗi mới khi bắt đầu mùa mưa. Tiếp cận nhóm NMTKTC nhằm tác động để giảm lan truyền, nhanh chóng loại bỏ ổ chứa quan trọng này tại nhiều vùng, với kỹ thuật sinh học phân tử giúp phát hiện tỷ lệ NMTKTC. Miễn dịch một phần để sốt rét phát triển thành

niễm trùng có triệu chứng tại các vùng lưu hành thấp, tuy nhiên sự tồn tại kéo dài của NMTKTC có liên quan phần nào đến thất bại điều trị và tồn lưu KSTSR kháng cần phải điều tra thêm. NMTKTC và sốt rét có triệu chứng góp phần vào lan truyền vẫn còn chưa hiểu hết và chúng đóng vai trò nhiễm trùng tiềm tàng ở cả các vùng vì tỷ lệ ổ chứa không triệu chứng này cần xác định để can thiệp MDA chứ không phải MsaT và có thể xác định các chiến lược hiệu quả. Các can thiệp MSaT, FSaT và MDA là vấn đề an toàn và phát triển kháng thuốc, cũng như xác định các vấn đề tiềm năng có thể xảy ra. Áp dụng MDA có thể phải cân nhắc vấn đề tiềm tàng xuất hiện chủng kháng chọn lọc. MsaT có lợi điểm tại các vùng, cho phép can thiệp theo từng lớp từ trên xuống dưới. Hiện một số nghiên cứu chưa đánh giá MSaT, MDA và FSaT trong nhiều vùng có cường độ lan truyền khác nhau, đánh giá so sánh các tiếp cận trực tiếp liên quan đến quản lý ca bệnh và nhiều thông tin về vai trò của NMTKTC tại các vùng lan truyền. Qua đó vai trò của sinh học phân tử trong phát hiện nhóm NMTKTC rất giá trị.

Nghiên cứu của Anthony C. (2013) so sánh 2 phương pháp nested-PCR để phát hiện KSTSR [20] về độ chính xác hai cặp môi với đích small subunit ribosomal RNA (ssRNA) và vùng liên kết dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (dhfr-ts) để phát hiện đặc hiệu loài bằng nested PCR. Độ nhạy và độ đặc hiệu được tính dựa trên chuẩn vàng. Kết quả chỉ ra cặp môi 18S rRNA có độ nhạy 91,9% và độ đặc hiệu 100%, trong khi cặp môi dhfr-ts có độ nhạy 51,4% và độ đặc hiệu 100%, nên cặp môi 18S rRNA có giá trị tốt hơn trong phát hiện.

Nghiên cứu của Peipei Li và cộng sự (2014) dùng nested-PCR phát hiện sốt rét trên mẫu giấy thấm của 1708 người trong điều tra dịch tễ và xét nghiệm PCR trên giấy thấm được so sánh với KHV và nested-PCR chuẩn trên 204 mẫu giấy thấm của các ca có sốt tại Thái Lan và Myanmar [32]. Số liệu cho thấy PCR trên giấy thấm có ngưỡng phát hiện $\sim 0,2$ KST/ μ L máu. Với 204 mẫu thực địa, độ nhạy của phương pháp có thể so sánh với nested-PCR chuẩn và cao hơn có ý nghĩa với giêm sa. PCR trên mẫu giấy thấm trong điều tra ngang tại Thái Lan và Myanmar phát hiện NMTKTC lần lượt là 1,9% (12/638) và 6,2% (66/1.070) so với kết quả

giêm sa chỉ phát hiện 1,3% (8/638) và 0,04% (4/1.070), nên PCR trên giấy thấm nhạy hơn giêm sa và có độ nhạy cao khi phát hiện NMTKTC.

Nghiên cứu tại Savannakhet (Lào) của Tiengkham Pongvongsa và cộng sự (2018) đánh giá động lực lan truyền của *P. falciparum* không triệu chứng và áp dụng điều trị hàng loạt bằng dihydroartemisinin-piperaquine và primaquin [40]. Mục tiêu chính của nghiên cứu là đánh giá hiệu quả và tính an toàn của MDA lên trên nhóm người mang *P. falciparum* không biểu hiện triệu chứng tại 4 làng có SRLH. Hai làng được chọn ngẫu nhiên làm MDA sớm gồm 3 vòng với liệu trình 3 ngày dihydroartemisinin–piperaquine và primaquin, theo dõi 1 năm. Có 1.036 người được đưa vào áp dụng với làng có dùng MDA sớm và 883 trong làng nhóm chứng (không MDA). Điều tra KSTSR mỗi 3 tháng bằng PCR siêu nhạy (ultraPCR-uPCR) tại 4 làng này. Số liệu cho thấy 84% (872/1036) dân tham gia nhóm MDA thì có 90% (781/872) hoàn tất 3 vòng MDA (9 liều). Tại các làng can thiệp MDA, tỷ lệ NMTKTC *P. falciparum* giảm từ 4,8% xuống còn 0,7% sau 12 tháng. Trong khi đó nhóm chứng giảm từ 17,5% xuống còn 11,6%. Phân tích nhị biến và đa biến về nhiễm *P. falciparum* thấy giảm có ý nghĩa thống kê khi dùng MDA sớm và hoàn tất 3 vòng liệu trình MDA.

Nghiên cứu của Melanie Bannister-Tyrrell và cộng sự (2018) điều tra dịch tễ học phân tử NMTKTC tại tỉnh Ratanakiri, Campuchia với các yếu tố nguy cơ trong LTSR [34] tại 3 làng của Ratanakiri. Phân tích hồi quy giữa nhiễm *Plasmodium* spp. với các yếu tố sử dụng màn, tần suất làm việc ở ngoài nông trại ban đêm ở người lớn, người già và trẻ em. Các YTNC khác như chất liệu tường vách, mùa vụ, thiết bị bắt sóng vệ tinh, máy móc phục vụ nông trang. Các YTNC không giải thích được sự khác biệt nhiễm trùng *Plasmodium* spp. giữa các làng mà chỉ cho thấy có sự lan truyền từng giai đoạn trong vùng mà các dân đi rừng và dân di biến động và cần phải can thiệp trên nhóm này.

Seleshi Kebede Mekonnen và cộng sự (2014) đánh giá so sánh giêm sa và nested-PCR trong chẩn đoán *P. falciparum* và *P. vivax* tại Ethiopia thấy 75% dân Ethiopia có nguy cơ mắc SR với hai loài *P. falciparum* và *P. vivax* [42]. KHV xác định loài *Plasmodium* spp. trên 1.416 bệnh nhân có sốt, có 314 ca dương tính *P.*

falciparum, *P. vivax* hay nhiễm phối hợp bằng lam máu được kiểm tra lại bằng PCR. Các mẫu máu đầu ngón tay qua phân tích phá hệ di truyền loài *Plasmodium* spp. tại 3 vùng địa lý khác nhau. Tất cả 314 ca dương tính, có 7 ca (2%) âm tính với phương pháp PCR, trong 180 ca dương tính *P. falciparum* bằng KHV thì xác định PCR cho thấy có 111 (61,7%) ca, còn lại 44 ca (24,4%) nhiễm *P. vivax*, 18 ca (10%) nhiễm *P. falciparum* + *P. vivax*, 2 ca (1,1%) nhiễm *P. falciparum* + *P. malariae* và 5 ca (2,8%) âm tính. Trong số 131 ca chẩn đoán KHV là *P. vivax*, thì xác định lại PCR là 110 (84%) nhiễm *P. vivax* đơn thuần, 14 ca (10,7%) nhiễm *P. falciparum*, 2 ca (1,5%) nhiễm *P. malariae*, 3 ca (2,3%) nhiễm *P. falciparum* + *P. vivax* và ca (1,5%) âm tính. Số liệu trên cho thấy vai trò công cụ PCR khắc phục (+) giả, ca nhiễm phối hợp, một số loài phiên giải nhằm cần lưu ý và cải thiện chẩn đoán. Phát hiện số ca (+) giả bằng PCR có thể cung cấp tỷ lệ mắc thật sự trong vùng địa lý và có tác động quan trọng về mặt dịch tễ.

Nghiên cứu của Hofmann N và cộng sự (2015) sử dụng kỹ thuật phân tử siêu nhạy phát hiện *P. falciparum* bằng khuếch đại nhiều bản sao tại vị trí đích subtelomeric nhằm mục đích đưa ra con số tỷ lệ nhiễm chính xác trong quần thể. Một tỷ lệ lớn NMTKTC được xác định góp phần vào lan truyền bệnh. Các kỹ thuật PCR khác vẫn còn giới hạn do có quá nhiều trình tự đích trong mẫu DNA, nên việc phát hiện trở nên không đầy đủ khi mật độ thấp [20]. Tăng độ nhạy chẩn đoán của qPCR đáng tin cậy trên cả ca mật độ KST rất thấp và chỉ ra tỷ lệ nhiễm trong cộng đồng của *P. falciparum* với đích yếu tố 2 của high-copy telomere-associated repetitive element 2 (TARE-2, 250 bản sao/genome) và giả trình tự gen acidic terminal sequence (varATS, 59 bản sao/genome), XN đạt ngưỡng phát hiện 0,03-0,15 KST/ μ l trong máu và nhạy gấp 10 lần hơn PCR chuẩn sử dụng 18S rRNA qPCR. Điều tra cắt ngang tại Tanzania, 295/498 mẫu dương tính với uPCR, kính hiển vi đã bỏ sót 169 ca (57%), phương pháp qPCR 18S rRNA bỏ sót 48 ca (16%), trong đó 40% ca mang giao bào được phát hiện nhờ RT-qPCR định lượng *Pfs25*. Để đưa loại xét nghiệm TARE-2 và varATS sàng lọc quy mô và lượng mẫu lớn thì cần điều chỉnh sao cho thuận lợi, cả hai XN siêu nhạy này đều có giá trị phát hiện trên mẫu có mật độ cực thấp *P. falciparum* ngay cả dưới ngưỡng phát hiện của

phương pháp qPCR 18S rRNA. TARE-2 và varATS qPCRs cải thiện ước tính tỷ lệ nhiễm so với trước đây vì các ca nhiễm khác, có lẽ còn nhiễm dưới ngưỡng phát hiện rất nhiều. Tỷ lệ nhiễm tính được trong cộng đồng được xác định rất lớn bởi độ nhạy của công cụ. Ngay cả khi dùng công cụ phân tử chuẩn, tỷ lệ bỏ sót 8% so với siêu nhạy TARE-2 và varATS qPCR này, nên có ý nghĩa quan trọng giúp giám sát cộng đồng tốt hơn về bức tranh dịch tễ sốt rét và đề ra kế hoạch can thiệp.

Sau 3 năm, Natalie E Hofmann cùng cộng sự (2018) đánh giá một kỹ thuật phân tử siêu nhạy so với PCR chuẩn đang dùng để điều tra cắt ngang cộng đồng, nhiễm trùng dưới ngưỡng phát hiện KHV là yếu tố góp phần vào lan truyền trong quần thể [27], nhưng các công cụ hiện nay không đủ đánh giá. Phương pháp siêu nhạy và lấy mẫu phức tạp có thể tối đa hóa khắc phục các nhược điểm XN cổ điển, song khó có thể khả thi áp dụng thường quy tại cộng đồng [27]. Quy trình lấy máu 200 μ L trong điều tra cắt ngang tại 2 làng SRLH vừa tỉnh Madang, Papua New Guinea với PCR siêu nhạy định lượng (us-qPCR) cả thể vô tính và giao bào *P. falciparum* và *P. vivax* so với qPCR 18S rRNA, us-qPCR, test nhanh và test nhanh siêu nhạy phát hiện *P. falciparum*. Điều tra 300 người từ 2016-2017, qPCR chuẩn phát hiện 87/161 ca *P. falciparum* (54%) và 73/141 ca *P. vivax* (52%) đóng vai trò như một phương pháp tham chiếu. Kết quả cho thấy us-qPCR xác định thêm 11 ca (7%) *P. falciparum* và 14 ca (10%) *P. vivax*. Tổng số 80/93 ca (86%) nhiễm giao bào *P. falciparum* và 75/82 ca (91%) giao bào *P. vivax* bằng us-qPCR. Test nhanh siêu nhạy cũng đã bỏ sót *P. falciparum* từ các ca đã chẩn đoán qPCR chuẩn, kể cả có giao bào cao. Vì tỷ lệ của *P. vivax* giảm theo tuổi, nên tỷ lệ nhiễm *P. vivax* không thể phát hiện bằng qPCR chuẩn. Hầu hết vùng có ổ chứa NMTKTC có tiềm năng lan truyền được xác định bằng us-qPCR với mẫu máu đầu ngón tay. Phân tích thể tích máu lớn hơn phát hiện *P. falciparum* và *P. vivax* ở mật độ rất thấp. Nên test nhanh hiện có không thể thay công cụ phân tử tìm *P. falciparum*.

Tại Gambia, Joseph Okebe và cộng sự (2015) nghiên cứu khả năng diệt giao bào của PQ trên nhóm NMTKTC cùng với thuốc DHA-PPQ [25]. Nghiên cứu gồm 4 nhánh, ngẫu nhiên có đối chứng, nhãn mở nhằm xác định và so sánh hiệu quả của 3 liều đơn khác nhau PQ phối hợp với DHA-PPQ trên nhóm NMTKTC có mang

giao bào và có hoạt độ G6PD bình thường. Tổng số 1200 người đưa vào và theo dõi 42 ngày với đánh giá ban đầu là tỷ lệ người mang giao bào *P. falciparum* ở ngày thứ 7 theo dõi bằng xét nghiệm phân tử và đánh giá thứ hai là thử nghiệm sinh học xác định tính nhiễm với muỗi. Tại châu Phi, tỷ lệ thiếu G6PD tương đối cao nên ảnh hưởng đến tiềm năng dùng PQ để giảm lan truyền. Tuy nhiên, sàng lọc G6PD không thể khả thi về chi phí và phiên giải kết quả nguy cơ tán huyết do PQ, điều này còn lệ thuộc vào liều PQ có thể diệt giao bào và ngăn lan truyền.

Nghiên cứu của Isaac Ghinai và cộng sự (2017) đánh giá dịch tễ sốt rét ở Myanmar về ổ chứa NMTKTC, đồng thời giáp với vùng kháng thuốc do *P. falciparum* với Campuchia và Thái Lan, nếu muốn LTSR cần đánh giá đầy đủ về dịch tễ toàn bộ Myanmar từ điều tra cắt ngang tại Phyu, Bago của Myanmar [24] trong suốt mùa mưa. Tất cả dữ liệu lâm sàng và hành vi được ghi nhận, lấy giọt máu trên giấy thấm làm PCR và huyết thanh. Mẫu *P. falciparum* dương tính được phân tích tìm đột biến gen K13 liên quan đến kháng artemisinin. Tỷ lệ huyết thanh và PCR đặc hiệu được tính toán và phân tích hồi quy xác định YTNC dương tính với *P. falciparum*. Kết quả cho thấy trong 1638 người từ 500 hộ gia đình, tỷ lệ dương tính PCR thấp (2,5%) và hầu hết không có sốt (93%). *P. falciparum* là loài phổ biến nhất và 5 ca có đột biến gen K₁₃ liên quan đến *P. falciparum* kháng thuốc. *P. knowlesi* cũng được phát hiện (1%) và *P. vivax* là 0,4% [24]. Tỷ lệ huyết thanh (+) là 9,4% đối với *P. falciparum* và 3,1% với *P. vivax*. Sự đảo nghịch huyết thanh đối với *P. falciparum* là 0,003/năm trong toàn bộ quần thể, nhưng ở nam giới trên 23 tuổi cao nhất. Số liệu cho thấy tình trạng lan truyền tiếp tục, có thể liên quan đến YTNC hành vi trên đối tượng nam giới độ tuổi lao động, đồng thời đột biến gen kháng và sự có mặt *P. knowlesi* là thách thức trong LTSR [24].

Tadesse FG và cộng sự (2015) cũng đánh giá NMTKTC nhiễm *P. falciparum* và *P. vivax* không thể phát hiện được bằng KHV và test nhanh tại vùng SRLH thấp ở Ethiopia [43]. Điều tra ngang tại Malo (Ethiopia) với 555 mẫu máu có sự hiện diện *P. falciparum* và *P. vivax* bằng các XN lam máu và RDTs và nested-PCR. Phân tích các mẫu nhiễm *P. falciparum* xác định kiểu gen thông qua tính đa hình của gen mã hóa protein bề mặt thoi trùng, đồng thời phân tích đột biến gen các biến

thể thiếu G6PD. Kết quả cho thấy mọi người tham gia đều không sốt, âm tính với KHV và test nhanh, nhưng kết quả nested-PCR lại biểu hiện nhiễm *P. falciparum* 5,2% (29/555), *P. vivax* 4,3% (24/555) và nhiễm phối hợp 0,2% (1/555). Việc phát hiện nhiều ca nhiễm bởi công cụ phân tử là câu hỏi liệu có thể LTSR thành công?

Nghiên cứu của Rupam Tripura và cộng sự (2017) tại Campuchia về tỷ lệ NMTKTC tại phía Tây cho biết tỷ lệ *P. falciparum* giảm trong vòng 10 năm qua không song song với giảm *P. vivax*. Người ta không biết sự lan truyền tại chỗ vẫn tồn tại kéo dài như thế nào vì NMTKTC vẫn còn và lan truyền thông qua nhóm dân di biến động [41]. Áp dụng công cụ phân tử siêu nhạy tại 20 thôn của Battambang, phía tây Campuchia để phát hiện *P. falciparum* và *P. vivax* vào mùa lan truyền. Mẫu máu được XN *Plasmodium* spp. bằng test nhanh, KHV và uPCR, tiếp đó các mẫu dương được làm định loài *Plasmodium* spp. Trong số 1000 mẫu phân tích có 91 ca (9,1%) dương tính bằng uPCR, 7 ca (0,7%) dương bằng KHV và 2 ca (2%) bằng test nhanh. Tỷ lệ nhiễm *P. vivax* bằng uPCR là 6,6%, *P. falciparum* 0,7% và loài *Plasmodium* spp. khác (1,8%). Tỷ lệ *P. vivax* được xác định bằng uPCR có liên quan ý nghĩa với tỷ lệ mắc mới *P. vivax* từ 2014-2015, ngược lại không có mối liên quan trên nhóm nhiễm *P. falciparum*. Tỷ lệ nhiễm *Plasmodium* spp. cho thấy không tương xứng về các ổ chứa giữa các thôn điều tra và tỷ lệ sốt rét ở đó. Mối liên quan ở đây cũng biểu hiện nhiễm *P. vivax* cao gấp 9 lần *P. falciparum* và nếu không dùng PQ điều trị tiết căn, *P. vivax* tiếp tục lan truyền ngay cả khi *P. falciparum* giảm xuống và dân di biến động liên quan đến 1/3 số ca sốt rét này.

Tổ chức Y tế thế giới (WHO, 2010) đã cân nhắc áp dụng chỉ định MDA để ngăn chặn sốt rét kháng thuốc artemisinin tại Tiểu vùng sông Mê Kông (GMS)[50]. Sau khi nhìn nhận *P. falciparum* tại biên giới phía Tây Campuchia-Thái Lan biểu hiện kháng artemisinin và vùng này trong lịch sử đã từng xảy ra kháng với nhiều thuốc khác do *P. falciparum* sau đó lan rộng từ châu Á sang châu Phi, ảnh hưởng nghiêm trọng đến chiến lược LTSR. Xét nghiệm loạt mẫu máu bằng PCR cho thấy có một lượng lớn NMTKTC nhiễm *Plasmodium* spp. và nhiều ca có mật độ thấp không thể phát hiện dưới ngưỡng KHV hay test nhanh [50]. Một tiếp cận tiềm năng có thể chẩn đoán được các ca như thế và chỉ định MDA trong một vùng địa lý nhất

định chỉ là công cụ PCR. Nhìn chung, TCYTTG không khích lệ áp dụng MDA như một biện pháp thường quy vì nghiên cứu chỉ ra chúng tác động lên sự lan truyền chỉ tồn tại trong thời gian ngắn và một số kiểu gen của KSTSR chọn lọc kháng thuốc như trong trường hợp artemisinin, song nếu áp dụng MDA loại bỏ các quần thể *Plasmodium* spp. khó có thể phát hiện như nhóm NMTKTC.

Gretchen Newby và cộng sự (2015) của Đại học California đã tổng hợp MDA và sử dụng PQ cũng đã đưa ra một số khó khăn [18]. Mặc dù MDA là một trong những thành phần của PCSR trong kỷ nguyên tiêu diệt SR, nhưng sau đó hiếm khi triển khai do liên quan đến tính khả thi và nguy cơ kháng thuốc. Tuy nhiên, gần đây các nhà làm chính sách đã nhận ra vai trò lợi điểm mới của MDA như một công cụ LTSR, nhất là trên các quần thể đích, phương pháp cải thiện độ bao phủ và dùng PQ an toàn. Nhìn chung, MDA về căn bản làm giảm nguy cơ nhiễm trong máu, song tác động bền vững sau 6 tháng can thiệp MDA? Để đánh giá liệu MDA có tác động lên lan truyền sốt rét trong thời gian dài không thì đòi hỏi phải có nghiên cứu thử nghiệm nhằm tiến tới LTSR, đặc biệt tại các vùng lan truyền thấp và vừa để đạt đầu ra với kết quả dài hạn.

1.4. Thiếu Glucose 6 Phosphat Dehydrogenase và dùng thuốc sốt rét

Gen mã hóa cho glucose 6 phosphat dehydrogenase (G6PD) nằm trên vai dài đầu mút của nhiễm sắc thể giới tính X ở vị trí P₂₈, do vậy gen G6PD là một gen di truyền liên kết giới tính. Gen G6PD bao gồm 13 exon xen kẽ là các intron có chiều dài khoảng 16 Kb, trong đó exon-1 không mã hóa. G6PD được tác giả Otto Warburg phát hiện lần đầu vào năm 1930 ở trên hồng cầu ngựa, sau đó là hồng cầu một số động vật và người. G6PD thuộc loại enzyme oxy hóa khử, nằm trong hệ thống oxy hóa, xúc tác phản ứng oxy hóa G6P. Loại G6PD là một enzyme quan trọng, xúc tác phản ứng đầu tiên của chu trình pentose phosphate - một con đường oxy hóa trực tiếp ở hồng cầu [19],[29]. Về mặt năng lượng con đường này cung cấp không đáng kể vì chỉ có 10% glucose được thoái hóa ở đây, nhưng về mặt sinh lý nó lại tạo ra NADPH, một chất khử mạnh liên quan mật thiết với chu trình chuyển hóa và toàn vẹn hồng cầu. Cùng phát triển sinh học phân tử, các đột biến G6PD ngày càng được phát hiện nhiều [14],[16]. Các phương pháp phát hiện thiếu

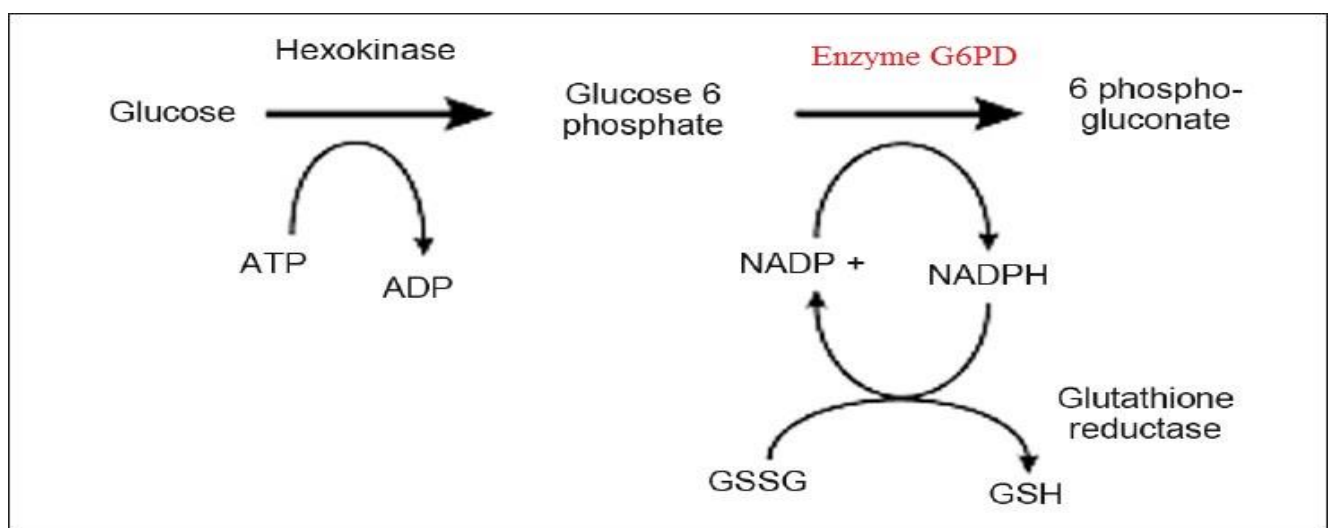
từ định tính, bán định lượng, định lượng, test nhanh và bộ cảm biến ngày càng phát hiện chính xác hơn và được áp dụng rộng rãi trong cộng đồng.

1.4.1. Cơ chế hoạt động của G6PD liên quan đến màng hồng cầu

G6PD xúc tác phản ứng thứ nhất của con đường hexose monophosphate (HMP), nó oxy hoá G6P thành 6 phospho gluconolactone và chuyển NADP thành NADPH. HMP là con đường duy nhất tạo ra NADPH trong hồng cầu, NADPH là một coenzym quan trọng giúp bảo vệ hồng cầu chống lại tác nhân oxy hoá. Glutathion peroxidase (GSHPX) là một phức hợp gồm 3 enzym là G6PD, glutathion reductase, GPx (glutathion oxidase). GSHPx loại bỏ chất oxy hoá khỏi hồng cầu theo:



Ba enzyme trên hoạt động theo chu trình: Tiêu hủy ROOH nhằm tránh gốc tự do, giảm G6PD làm giảm yếu tố bảo vệ hồng cầu. Đặc biệt, hồng cầu giàu catalase mà catalase là một enzyme oxy hóa phản ứng, enzyme này bị ức chế bởi NADPH. Tỷ số NADPH/NADP⁺ kiểm soát phản ứng theo nguyên tắc tự động. Ở dạng không hoạt động, NADPH/NADP⁺ cao và G6PD gần như bị ức chế hoàn toàn. Khi NADPH bị oxy hoá, lúc đó glutathion oxy hóa bị giảm xuống trong phản ứng [19],[29]. NADPH chuyển thành NADP⁺, nên G6PD thành hoạt động xúc tác phản ứng chuyển NADP⁺ thành NADPH làm chất gây ra oxy hoá bị đào thải, nếu giảm G6PD cơ thể mất khả năng đáp ứng với tác nhân oxy hoá.



Hình 1.8. Quá trình tổng hợp glutathione có sự tham gia G6PD

1.4.2. Đặc điểm di truyền, cấu trúc và đột biến trên G6PD

1.4.2.1. Đặc điểm di truyền liên quan đột biến thiếu G6PD

Thiếu G6PD là một bệnh di truyền liên kết nhiễm sắc thể X không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y. Trước khi những nghiên cứu cơ bản về di truyền của G6PD được biết qua xét nghiệm độ ổn định glutathion và đã phát hiện ra nhạy cảm với thuốc PQ có liên quan đến NST X.

Nghiên cứu phả hệ của Afro- các gia đình người Mỹ cho thấy sự bất thường của glutathion là do di truyền từ mẹ sang con trai mặc dù ở những trường hợp đó những biến đổi của glutathion không được phát hiện ở mẹ. Bằng những kỹ thuật phù hợp người ta đã xác định được nguyên nhân của bất thường di truyền là ở mẹ có đột biến trên gen mã hoá G6PD dạng dị hợp tử. Sau này với nhiều phát hiện cơ bản về G6PD, thiếu G6PD có di truyền liên kết NST X đã khẳng định qua đánh giá hoạt độ enzyme, nghiên cứu về sự di chuyển điện di, di truyền của bệnh mù màu. Đến nay, nhiều gia đình có bất thường trong di truyền liên kết NST X vẫn được thu thập. Những bất thường này dẫn đến kết luận là một trong hai quy định cấu trúc G6PD nằm trên NST X có thể bị đột biến ở mẹ.

Các nghiên cứu di truyền phát hiện ra trên mã cho G6PD là một trong những gen nằm trên cánh dài NST X (q28), tình trạng thiếu G6PD là một bệnh di truyền liên kết NST X do mẹ truyền cho con trai. Sự bất lợi và lợi điểm có thể của một người có biểu hiện thiếu G6PD đã thể hiện qua các biến chứng nghiêm trọng như tán huyết cấp, suy thận và có thể tử vong hay một số rối loạn di truyền khác, song bên cạnh đó khi thiếu G6PD trên hồng cầu không phải luôn luôn là một bất lợi mà có thể là một cơ chế "bệnh chống bệnh" nghĩa là khiếm khuyết cái này lại là cơ hội chống lại các bệnh hoặc có thể ngăn ngừa một số bệnh lý khác như sốt rét, tim mạch hoặc ung thư, tiểu đường như một số nghiên cứu chỉ ra.

1.4.2.2. Đặc điểm về gen liên quan G6PD

Locus liên quan đến quy định cấu trúc G6PD nằm trên nhánh dài vùng 2 băng 8 NST X (Xq28), gen được tách và giải trình tự cho thấy có 13 exon, dài 20kb, exon đầu tiên không được mã hoá và intron giữa exon 2 và 3 dài hơn mức bình thường, khoảng 9.857 bit. Trình tự của gen mã hóa G6PD đã được biết toàn bộ. Vị

trí 5' của gen là một vùng giàu 2 nucleotide là cytidine và guanidine (CpG). Vùng CpG này được bảo tồn giữa người và chuột. Một số ARNm đã được phát hiện nhưng chức năng của nó cần nghiên cứu. ARNm chứa khoảng 138 nucleotide nằm trên intron 7 của đầu 3':

1.4.2.3. Đột biến trên G6PD và biểu hiện bệnh thiếu G6PD

Khi gen cấu trúc bị đột biến gây nên thiếu G6PD về mặt chất lượng. Còn khi gen điều hoà hoặc gen khởi động bị đột biến gây ra thiếu G6PD về lượng. Sự biến đổi về mặt số lượng và chất lượng phân tử enzyme đều dẫn đến thay đổi hoạt độ enzyme. Trong nữ giới, mỗi tế bào đều có 2 gen mã hóa cho G6PD (một gen nhận từ bố, một gen nhận từ mẹ). Những người nữ dị hợp tử vì mang gen đột biến lặn nên có thể có kiểu hình bình thường, song có thể có các biểu hiện bệnh lý ở mức độ nhẹ hoặc vừa, hoặc rất nặng. Nguyên nhân là do một trong hai NST trong tế bào nữ đã bị bất hoạt từ giai đoạn sớm của phôi thai, sau đó theo sự phân bào nó được nhân lên tạo thành cơ thể ở dạng khảm giữa tế bào có NST lành và mang bệnh với tỷ lệ khác nhau, nên những người này có hai quần thể: Một nhóm hồng cầu bình thường và một thiếu G6PD, tỷ lệ của chúng thay đổi trong phạm vi rộng 50:50. Ở một số ít ca các hồng cầu bất thường chỉ chiếm 1%, nhưng cũng có khi lên đến 99%. Nam giới chỉ có một NST X di truyền từ mẹ nên nếu thừa hưởng đến bị đột biến có kiểu trên bán hợp tử và biểu hiện thiếu G6PD.

Năm 1993, Beutler đã tìm thấy 58 dạng đột biến tương ứng 97 biến thể. Năm 2002, người ta đã tìm ra được hơn 140 đột biến hay phức hợp đột biến tương ứng trên 442 biến thể, 299 biến thể trong số này đã được phân loại bởi TCYTTG. Một biến thể mới phải hoàn toàn khác với những biến thể đã từng biết và công bố dựa trên các chỉ số như hoạt độ enzyme, di chuyển điện di G6PD và NADP. Vì hầu hết đột biến G6PD đều có bất thường về điện di, động học hoặc cả hai nên đột biến tác động đến enzyme này phải có trên vùng mã hoá.

Nhờ có sự tiến bộ của sinh học phân tử, đặc biệt phân tích PCR đã xác định ra đột biến trở nên chính xác và có thể phát hiện nhiều đột biến trên một cá thể. Ở những người thiếu hụt G6PD sự già hóa theo tuổi thọ của hồng cầu thường sớm hơn bình thường, đời sống của hồng cầu giảm 20% do có hiện tượng tan máu nhẹ

ngay cả khi không dùng một thuốc nào. Bù lại cơ thể tăng cường sản xuất hồng cầu non trong tủy xương. Dưới tác dụng của các thuốc hoặc các chất gây oxy hoá dẫn đến hệ thống enzyme khử phụ thuộc NAD^+ không còn đáp ứng đủ nhu cầu của quá trình khử, lúc này các enzyme thuộc hệ thống NADP trở thành tối cần thiết.

Hai hệ thống này tăng cường hoạt động để bảo vệ toàn vẹn của hồng cầu. Những người thiếu hụt G6PD cơ chế bảo vệ hồng cầu chống lại tác nhân oxy hoá bị giảm nên hay xảy ra tán huyết. hồng cầu già thường bị huỷ hoại nhiều, tán huyết trên lâm sàng, hồng cầu non ít bị vỡ hơn vì nó giàu enzyme và ít nhạy cảm với chất oxy hoá.

Với những ca thiếu G6PD mức độ nhẹ thì việc huy động hồng cầu non là một giải pháp nhằm tự hạn chế cơn tan máu. Sự tăng tạm thời hoạt tính xúc tác G6PD dẫn đến việc ổn định hàm lượng glutathion dạng khử (GSH) cho dù chất oxy hoá vẫn được dùng, bình thường gọi là GSH được phục hồi 90% trong vòng 1 giờ.

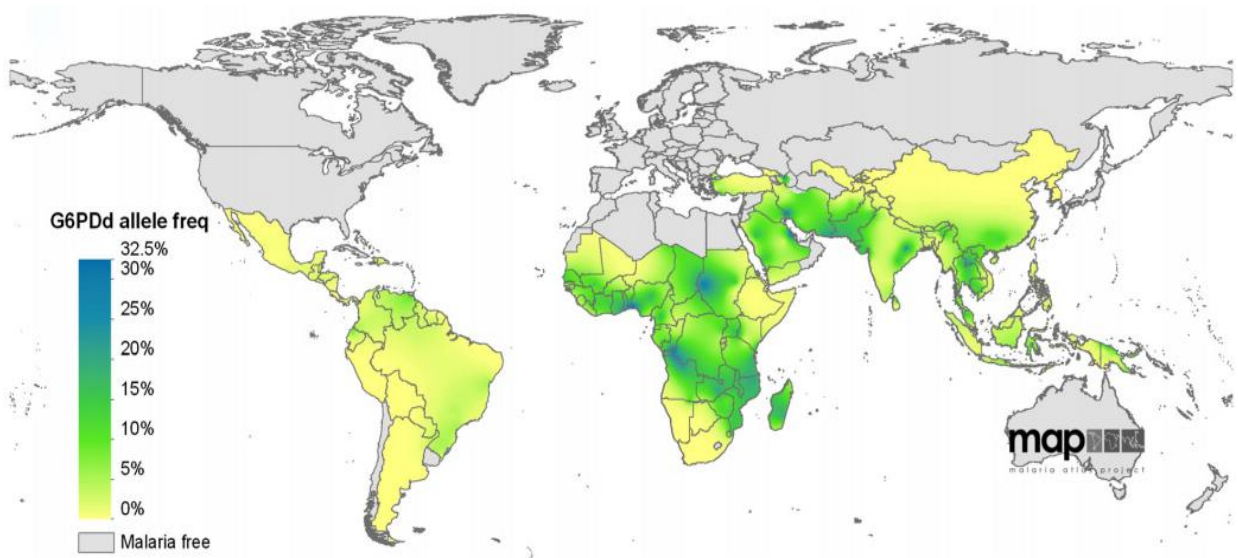
Bảng 1.3. Phân loại các lớp thiếu G6PD và biểu hiện trên lâm sàng

Phân lớp	Biểu hiện bệnh trên lâm sàng
I	Thiếu G6PD nặng < 1% hoạt độ bình thường hoặc không phát hiện được dẫn đến tan máu mạn tính.
II	Thiếu G6PD nặng (hoạt độ enzyme < 10% so với bình thường, biểu hiện tan máu từng đợt.
III	Thiếu G6PD từ vừa đến nhẹ (hoạt độ enzyme từ 10-60% so với bình thường, biểu hiện tan máu từng đợt.
IV	Thiếu G6PD rất nhẹ, hoạt độ enzyme từ 60-90% so với bình thường, không có biểu hiện lâm sàng.
V	Thiếu G6PD rất nhẹ với hoạt độ tăng > 110%, không biểu hiện lâm sàng.

Nếu GSH phục hồi < 30% thì trường hợp tan máu trở nên nguy kịch. Thời gian bán hủy hồng cầu bình thường là 60 ngày và tuổi thọ 120 ngày, nhưng thời gian bán hủy của hồng cầu thiếu G6PD chỉ có 48 ngày. Khi dùng thêm primaquin phosphate (PQ) thì thời gian đó chỉ còn 22 ngày. Dựa hoạt độ G6PD và biểu hiện lâm sàng khi thiếu, người ta chia các biến thể thiếu G6PD thành nhiều lớp.

1.4.3. Phân bố địa lý thiếu G6PD trên toàn cầu

Theo nghiên cứu đa trung tâm hiện có hơn 400 triệu người trên toàn cầu thiếu G6PD và người thiếu G6PD có một tiền triển sống còn trong các vùng SRLH vì khi thiếu G6PD cho cơ hội bảo vệ chống lại SR nặng. Lợi điểm chọn lọc của thiếu G6PD dưới áp lực của SR đang được tranh luận xung quanh cấu trúc bộ gen, nên không đáng ngạc nhiên là hầu hết thiếu G6PD lưu hành tại các vùng mà SRLH hoặc đã từng lưu hành.



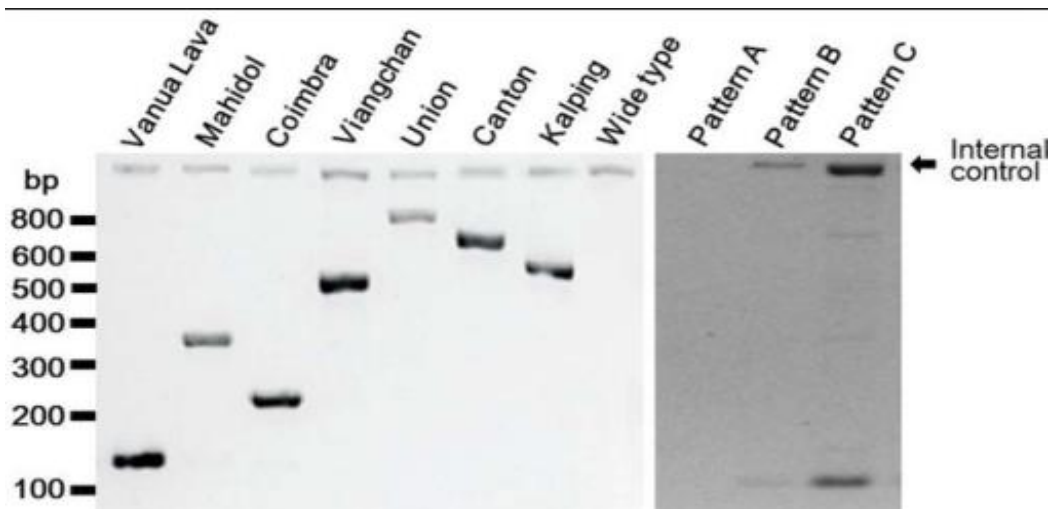
Hình 1.9. Tần suất alen liên quan đến thiếu G6PD toàn cầu (WHO, 2016)

Howes và cộng sự đã điều tra qua trên 1.734 nghiên cứu, xác định thiếu G6PD trên toàn cầu, trong đó 1.289 (74%) nghiên cứu tiến hành tại các nước có SRLH, họ sử dụng mô hình để xây dựng bản đồ thiếu G6PD này. Tỷ lệ thiếu G6PD thấp nhất hoặc bình thường là tại châu Mỹ và cao nhất tại khu vực châu Phi. Vùng có tỷ lệ cao với 1 loại biến thể là ở phía đông Á Rập. Thiếu G6PD có xu hướng thấp hơn nhưng không đồng nhất từ Trung sang Nam Á, với các điểm được xác định tại Đông Ấn Độ, biên giới Thái Lan-Lào và Solomon [21],[22].

Dù nghiên cứu xem xét về phân bố địa lý, song chưa phân tích tình trạng thiếu G6PD của vùng. Số liệu đi kèm với bản đồ cho phép xác định vùng nào ưu tiên can thiệp nhất. Ngoài ra, tỷ lệ thiếu khác nhau giữa các vùng và các XN đánh giá cũng khác nhau nên sự đồng nhất về số liệu là không thể. Ngoài ra, rất khó ngoại suy từ tỷ lệ thiếu G6PD với nguy cơ tán huyết do PQ nghiêm trọng mà chỉ bổ sung dữ liệu về biến thể di truyền giúp tiên đoán nguy cơ tan máu tốt hơn. Bản đồ về thiếu G6PD giúp các nhà làm chính sách có chiến lược dùng PQ an toàn.

1.4.4. Nghiên cứu về biến thể G6PD và liên quan với bệnh sốt rét

Hầu hết biến thể G6PD do đột biến điểm trên gen G6PD, một số đột biến này không gây xáo trộn cấu trúc, vị trí hoạt động enzyme nên không ảnh hưởng đến hoạt tính [34],[35]. Các nghiên cứu thực hiện thí điểm đánh giá biến thể G6PD tại Việt Nam cũng ghi nhận biến thể ưu thế [36].



Hình 1.10. Phân tích biến thể G6PD (Asian type, DiaPlexC) với các chứng biến thể đột biến Vanua Lava, Mahidol, Coimbra, Viangchan, Union, Canton, Kalping

Đột biến điểm khác có thể dẫn đến sinh các đột biến với một hay nhiều dạng khác nhau (hoạt tính xúc tác thay đổi, tính ổn định giảm đi, thay đổi tính gắn kết trong khâu chuyển hóa G6PD). PQ là thuốc dùng để diệt thể ấu *P. vivax* giai đoạn trong tế bào gan, ngừa tái phát xa và diệt thể giao bào chống lây lan cộng đồng. Điều này cho thấy rất nguy hiểm cho những người bị thiếu G6PD, đặc biệt là ở ca sốt rét do *P. vivax* cần điều trị dài ngày PQ nhưng thiếu G6PD.

1.5. Tình hình nghiên cứu thiếu G6PD trên thế giới và Việt Nam

1.5.1. Trên thế giới

Theo TCYTTG, toàn cầu có khoảng 400 triệu người thiếu G6PD trên các nhóm dân tộc khác nhau. Tần suất thiếu G6PD khác tùy thuộc vào dân tộc và vùng địa lý, nhưng cao nhất ở Địa Trung Hải, châu Phi, Nam Á, ít gặp ở Bắc Âu. Theo Matsuoka H, tỷ lệ thiếu G6PD ở Lào (7,2%), Thái Lan (11,5%), Indonesia (3,7%) và Myanmar (5,4%). Nghiên cứu *in vitro* cho thấy KSTSR ít phát triển trong hồng cầu thiếu G6PD, cơ chế này có nhiều giả thuyết liên quan vì thiếu G6PD, lượng NADPH tại hồng cầu thấp, không thích hợp cho sự phát triển của nó. Trên *in vitro*

còn thấy hồng cầu thiếu G6PD nhiễm *P. falciparum* bị thực bào mạnh hơn gấp 2-3 lần so với hồng cầu bình thường nhiễm. Vì có tăng nồng độ immunoglobuline và bổ thể C3 khi thiếu G6PD, làm dễ hơn cho quá trình thực bào các hồng cầu nhiễm, nên ức chế phát triển *P. falciparum*. Ở châu Á, người ta thấy đột biến Gaoche và Chinese-4 ở Trung Quốc, Ube và Konan ở Nhật Bản, Chinese-3 ở Philippines, Mahidol ở Đông Nam Á, Trung Quốc và Đài Loan, Union ở đảo Hawai (Mỹ), sau đó lại tìm thấy ở Vanuatu, Lào, Trung Quốc, Nhật Bản.

Một nghiên cứu cho thấy có 9 biến thể khác nhau trên quần thể dân Malaysia với nhiều nhóm khác nhau như Malay, Trung Quốc, Ấn Độ và dân bản địa Malaysia qua phân tích mẫu từ bệnh nhân ngoại trú tại Selangor, thấy có 27 ca thiếu G6PD. Trên nhóm Malay, biến thể Viangchan và Mahidol và các biến thể này thường ở Campuchia và Myanmar, đồng thời trên nhóm người Malay cũng có subtypes của Mediterranean (563C→T, 1311C→T, IVS11 nt93T→C) và Indo-Pakistan subtype (563C→T). Trên người Malaysia gốc Trung Quốc thì phát hiện biến thể Kaiping (1388G→A), Canton (1376G→T) và Gaohe (95A→G) điều này là phù hợp vì các biến thể này thường gặp ở Trung Quốc. Trên nhóm người Malaysia gốc Ấn Độ có biến thể Mediterranean (Indo-Pakistan subtype) và Namoru (208T→C). Trên quần thể người Malaysia, sau đó cho thấy tỷ lệ thiếu G6PD là 5,1% ở nhóm Malay và 5,5% ở nhóm Malaysia gốc Trung Quốc. Nghiên cứu di truyền thiếu G6PD chỉ ra 13 biến thể G6PD trong số 127 mẫu thiếu. Người Malaysia gốc Ấn Độ có một ca có biến thể G6PD và subtype Indo-Pakistan (563C→T). Đây là loại subtype phổ biến trên quần thể dân Ấn Độ, đồng thời cũng tìm thấy biến thể Namoru (208T→C) lần đầu tiên phát hiện ở đảo Vanuatu. Gần đây, nhiều biến thể Namoru thấy ở phía Nam Ấn Độ, chỉ ra Namoru có xuất xứ từ Ấn Độ [16],[17]. Điều thú vị, trên 80 người có thiếu G6PD gốc Indonesia, nhưng chưa bao giờ thấy biến thể Namoru ở Indonesia. Biến thể này có mặt ở Ấn Độ dịch chuyển đến Malaysia và cuối cùng đến Vanuatu. Nghiên cứu cũng phát hiện thêm 2 mẫu có biến thể G6PD Kaiping trên người Malaysia gốc Ấn Độ, biến thể này phổ biến ở Trung Quốc và phân bố ở Việt Nam, Thái Lan và Indonesia.

1.5.2. Tại Việt Nam

Việt Nam đang triển khai Chiến lược LTSR, trong khi có sự chuyển dịch cơ cấu giữa *P. falciparum* và *P. vivax* là 1 khó khăn kỹ thuật, nên điều trị ca *P. vivax* có thiếu G6PD đặt ra một thách thức [7],[8]. Trong khi kỹ thuật để phát hiện thiếu G6PD chưa áp dụng ở CSYT, nên điều tra thiếu G6PD ở các nhóm dân tộc sống vùng SRLH là cần thiết, góp phần định hướng chính sách dùng PQ an toàn.

Nghiên cứu của Tạ Thị Tĩnh [8] trên 1.676 nam học sinh, tuổi từ 6-15 tại 8 huyện thuộc tỉnh Hoà Bình, Hà Giang, Sơn La, Thanh Hoá từ 1996-1997, số liệu chỉ ra thiếu G6PD trên hồng cầu cao tại một số vùng SRLH như Kim Bôi (34,1%), Mai Châu (20,4%), Như Xuân (19,7%), Mường La (17,8%) và thấp hơn tại một số vùng không SRLH như Mèo Vạc (0,3%) và Nga Sơn (0,5%). Tỷ lệ thiếu ở các dân tộc cũng khác nhau, cao nhất là dân tộc Mường (31%), Thổ (22,6%), Thái (19,3%); rất thấp ở Kinh (0,5%) và Mông (0,3%). Nghiên cứu khác của Tạ Thị Tĩnh tại vùng SRLH của Gia Lai, Bình Phước cho tỷ lệ thiếu G6PD ở dân tộc Gia Rai, Ba Na, X'Tiêng tương ứng 2,3%; 1,7% và 3,4% [10].

Nghiên cứu của Nguyễn Minh Hùng và cộng sự (2009) qua điều tra cộng đồng phát hiện thiếu G6PD tại miền Trung và miền Bắc từ 2001-2006 [36]. Tổng số 799 nam giới thuộc ba dân tộc Raglai, Pa Ko và Kơ Mú, có 32 người thiếu G6PD và tỷ lệ thiếu ở nhóm Raglai, Pa Ko và Kơ Mú lần lượt 2,1% (9/438), 7,7% (16/208) và 4,6% (7/153). Trên dân tộc Raglai, biến thể Viangchan tìm thấy chủ yếu (8/9; 88,9%), tiếp đến là Canton (1/9; 11,1%). Trên dân tộc Pa Ko có 16 người thiếu G6PD và biến thể Viangchan (7/7; 100%) là G6PD Union ở dân tộc Kơ Mu, nghiên cứu này cũng chỉ ra người Raglai và Pa Ko cùng tổ tiên chung với người Campuchia, Lào, Thái Lan. Mặc khác, sự xuất hiện biến thể Union trong dân tộc Kơ Mu cho thấy rằng họ nguồn gốc từ các tổ tiên khác nhau và đến nay ở Việt Nam có các biến thể Viangchan, Canton, Kaiping, Union, Mahidol [34],[36].

1.6. Khung lý thuyết nghiên cứu liên quan đến luận án



Hình 1.11. Khung lý thuyết nghiên cứu về người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD trên người

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Những người không biểu hiện triệu chứng sốt rét được đưa vào nghiên cứu tại 3 xã thuộc huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông.

Tiêu chuẩn chọn và tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu như sau:

2.1.1. Tiêu chuẩn tuyển chọn

- Người có tuổi từ 5 tuổi trở lên đến dưới hoặc bằng 70 tuổi ($\geq 5 - \leq 70$ tuổi);
- Không phân biệt giới tính nam nữ, hay dân tộc;
- Đang làm việc hoặc sinh sống tại các xã được chọn nghiên cứu;
- Có thể cung cấp thông tin khám lâm sàng và mẫu máu chích từ đầu ngón tay;
- Chấp thuận đơn tự nguyện tham gia nghiên cứu đối với người lớn hoặc trong trường hợp là trẻ em từ 17 tuổi trở xuống (cả mẫu đơn đồng ý của trẻ em từ 10 đến 17 tuổi) có sự cho phép của người lớn hoặc người giám hộ.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Người dưới 5 tuổi hoặc lớn hơn 70 tuổi (vì hầu hết người trên 70 tuổi chỉ ở nhà và không có đi rừng, ngủ rẫy và số ca sốt rét mắc tại rẫy và rừng);
- Người đang bị sốt dù bất cứ nguyên nhân gì;
- Không sẵn lòng tham gia, không cung cấp thông tin và mẫu máu đầu ngón tay;
- Người đang điều trị sốt rét hoặc vừa điều trị sốt rét trở về;
- Không thể giao tiếp tốt với thành viên nhóm nghiên cứu (chậm phát triển trí tuệ hoặc có dấu hiệu rối loạn tâm thần);
- Người xét nghiệm máu có chỉ số haemoglobine < 8 g/dL lúc sàng lọc;
- Phụ nữ mang thai, người bệnh cấp hoặc mạn tính về máu, gan, thận, tim mạch.

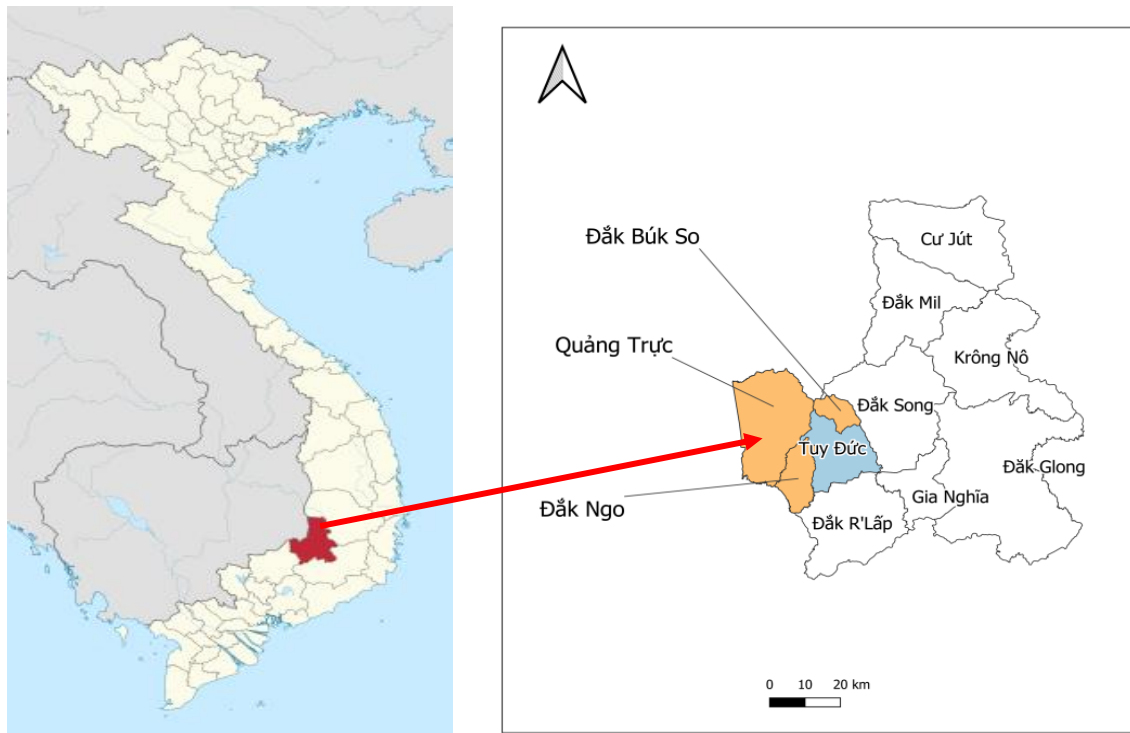
2.2. Địa điểm và thời gian

- Địa điểm:

+ Nghiên cứu thực hiện tại 3 xã lần lượt vùng SRLH nặng, vùng SRLH vừa và vùng SRLH nhẹ của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông. Trong đó, xã Quảng Trực

(thuộc vùng sốt rét lưu hành nặng), xã Đắk Ngo (thuộc vùng SRLH vừa) và xã Đắk Buk So (thuộc vùng SRLH nhẹ);

Huyện Tuy Đức có đường biên giới với Campuchia và tỉnh Bình Phước ở phía nam. Tổng dân số 57.418 người (theo báo cáo từ TTYT huyện Tuy Đức, 2018).



Hình 2.1. Bản đồ các xã nghiên cứu thuộc huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông

- Huyện có 17 nhóm dân tộc thiểu số, song hai dân tộc chính bản địa M'Nông và H'Mông di cư từ các tỉnh phía Bắc vào đây sinh sống, định cư trên 15 năm. Thu nhập chính người dân là từ sản phẩm nông nghiệp như trồng lúa gần nhà hoặc trong rừng, rẫy cà phê, tiêu, khoai tây. Huyện có 6 trạm y tế xã và hai phòng khám quân dân y và Trung tâm Y tế huyện. Mùa khô ở đây là từ tháng 11 đến tháng 4 và mùa mưa là từ tháng 5 đến tháng 10.
- Trong 3 xã nghiên cứu của huyện Tuy Đức đã được lựa chọn dựa trên bảng phân vùng dịch tễ thực hiện bởi Bộ Y tế Việt Nam, bao gồm các khu vực bệnh sốt rét lưu hành từ mức độ nhẹ đến nặng (Bộ Y tế, Phiên bản 2014);
- Dân số ba xã được chọn nghiên cứu lần lượt là xã Đắk Buk So là 12.275 người, Đắk Ngo là 11.900 người và xã Quảng Trục là 9.227 người.
- Mẫu máu lấy được soi và làm test chẩn đoán nhanh chẩn đoán sốt rét tại chỗ, phân tích hoạt độ G6PD tại chỗ. Mẫu máu còn lại được bảo quản và phân tích

tình trạng NMTKTC tại la bộ sinh học phân tử Viện Sốt rét-KST-CT Quy Nhơn và phát hiện các biến thể thiếu G6PD tại Đại học Gyeongsang (Hàn Quốc).

- Thời gian:

- + Từ tháng 10/2018 - tháng 12/2020: Thu thập và phân tích mẫu thực địa;
- + Từ tháng 01/2021 - tháng 05/2022: Phân tích phân tử các mẫu nghiên cứu.

2.3. Thiết kế nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu là nghiên cứu mô tả cắt ngang nhằm mô tả đặc điểm dịch tễ học sốt rét ở những người không biểu hiện triệu chứng có mật độ ký sinh trùng trong máu dưới ngưỡng phát hiện của kính hiển vi hoặc test chẩn đoán nhanh. Đồng thời, xác định tỷ lệ thiếu G6PD trong cộng đồng (Đối với mục tiêu 1 và 3);
- Thiết kế nghiên cứu là mô tả tiến hành trong phòng thí nghiệm đánh giá tỷ lệ NMTKTC và các biến thể thiếu G6PD (Đối với mục tiêu 2).

2.4. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu để đánh giá tỷ lệ phân bố người NMTKTC được tính theo công thức:

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

Trong đó:

N: Là cỡ mẫu cần tính cho các điểm nghiên cứu;

Z: Là chỉ thống kê tương ứng với mức tin cậy CI95%, khi đó $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$;

p: Là tỷ lệ nhiễm KSTSR xác định trên những người không biểu hiện triệu chứng từ một nghiên cứu trước đó tại các vùng SRLH (Malika Imwong và cộng sự, 2015);

d: Là độ chính xác tương ứng với mức độ ảnh hưởng;

Tỷ lệ mắc sốt rét trên NMTKTC là khác nhau trong khu vực có mức độ SRLH khác nhau, nên các khu vực đó đòi hỏi số lượng đối tượng khác nhau. Từ dữ liệu nghiên cứu Malika Imwong và cộng sự (2013), tỷ lệ nhiễm trên NMTKTC ở Đông Nam Á, bao gồm Việt Nam có thể ước tính tỷ lệ nhiễm xấp xỉ trong các khu vực SRLH cao, vừa và nhẹ lần lượt là 15%, 10% hoặc 5%.

Dựa trên dữ liệu từ nghiên cứu các tỉnh ở Việt Nam, số đối tượng không biểu hiện triệu chứng cần để đánh giá từ các khu vực khác nhau được ước tính như sau:

- Tại khu vực bệnh lưu hành nặng (Quảng Trục): Với tỷ lệ nhiễm ước tính là 15% ($p = 0,15$), $q = 1-p = 0,85$, độ chính xác lựa chọn của $d = 0,03$, cỡ mẫu là 544;
- Tại khu vực bệnh lưu hành vừa (Đăk Ngo): Với tỷ lệ nhiễm ước tính là 10% ($p = 0,10$), $q = 1-p = 0,90$, độ chính xác lựa chọn của $d = 0,02$, cỡ mẫu là 864;
- Tại khu vực bệnh lưu hành nhẹ (Đăk Buk So): với tỷ lệ nhiễm ước tính là 5% ($p = 0,05$), $q = 1-p = 0,95$, độ chính xác lựa chọn của $d = 0,012$, cỡ mẫu là 1.267.

Bảng 2.1. Cỡ mẫu xét nghiệm người không biểu hiện triệu chứng để ước tính tỷ lệ nhiễm sốt rét ở những vùng sốt rét lưu hành khác nhau

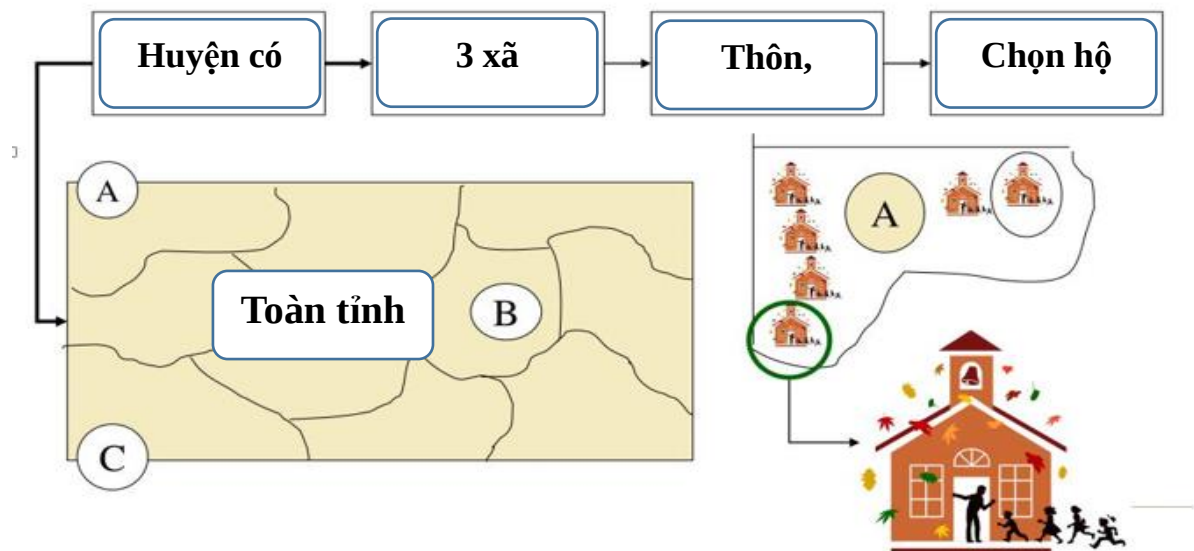
Tỷ lệ nhiễm dự đoán (p)	Độ chính xác (d)					Cỡ mẫu tính được	Cộng + 10%
	0,01	0,012	0,02	0,03	0,04		
0,0125	474	329	119	53	30		
0,0500	1825	1267	456	203	114	1267	1.393
0,0700	2501	1737	625	278	156		
0,1000	3457	2401	864	384	216	864	950
0,1200	4057	2817	1014	451	254		
0,1500	4898	3401	1225	544	306	544	598
0,2000	6147	4268	1537	683	384		
0,2500	7203	5002	1801	800	450		
Tổng số mẫu						2.675	2.940

Do đó, cỡ mẫu tối thiểu cần có đối với 3 xã/ huyện là 2675, tuy nhiên để tránh mất mẫu trong quá trình điều tra, nên cỡ mẫu này thêm 10%, cuối cùng cỡ mẫu làm tròn số là 2940 người. Trong nghiên cứu chỉ sàng tuyển điều tra chỉ 2809 người.

2.5. Phương pháp chọn mẫu

Kỹ thuật lấy mẫu đa tầng đại diện từ các hộ gia đình gồm 2940 người tại 3 xã thuộc mỗi huyện, xét nghiệm lam máu giếm sa chuẩn, RDTs và RT-qPCR để chẩn đoán. Sơ đồ chọn mẫu là từ danh sách huyện có SRLH nặng của tỉnh Đăk Nông, chọn ra huyện có tỷ lệ KSTSR cao nhất, trong đó chọn ra 3 xã trong huyện có số BNSR cao và từ các xã chọn các làng có BNSR cao nhất.

Người mang KSTSR không triệu chứng được định nghĩa trong nghiên cứu này là sự có mặt của KSTSR trên lam máu ngoại vi, trên test chẩn đoán nhanh dương tính, trên xét nghiệm sinh học phân tử dương tính kèm theo nhiệt độ cơ thể dưới 37,5°C và không có thêm các triệu chứng khác liên quan đến sốt rét.



Hình 2.2. Quy trình chọn mẫu nghiên cứu để điều tra

2.6. Thu thập mẫu nghiên cứu

Việc tuyển chọn người không biểu hiện triệu chứng để phát hiện nhiễm KSTSR được tiến hành hai thời điểm trùng với 2 đỉnh lan truyền khác nhau và số lượng người tham gia qua 2 đợt thu thập mẫu điều tra xấp xỉ bằng nhau.

- Đợt 1: Từ tháng 5 đến tháng 7 (đỉnh bệnh thấp);
- Đợt 2: Từ tháng 11 đến tháng 01 năm sau (đỉnh bệnh cao).

Việc lấy mẫu 2 giai đoạn vào thời điểm đỉnh bệnh của vùng nghiên cứu giúp đề xuất chiến lược can thiệp điều trị hàng loạt hoặc mở rộng hay không.

2.7. Công cụ nghiên cứu và phương pháp thu thập số liệu

2.7.1. Công cụ nghiên cứu

Công cụ thu thập số liệu gồm các sổ đăng ký danh sách người tham gia nghiên cứu, sổ xét nghiệm lam máu, test nhanh, sinh học phân tử và phiếu điều tra.

Phiếu điều tra thông tin trên từng đối tượng tham gia nghiên cứu gồm cả các câu hỏi nghiên cứu và bộ câu hỏi này có thực hiện điều tra thử và chỉnh sửa lại trước khi tiến hành nghiên cứu tại thực địa.

Phân công nhiệm vụ từng thành viên: Tại ba xã thực hiện song song đồng thời, mỗi nhóm gồm có y tế thôn/y tế xã bản ghi danh sách, bác sỹ khám bệnh, kỹ thuật viên lấy máu xét nghiệm (lam, test, giấy thấm), xét nghiệm viên lấy mẫu phân tích G6PD và xét nghiệm viên bảo quản mẫu làm PCR.

2.7.2. Phương pháp thu thập số liệu

Số liệu thô có được qua các xét nghiệm cận lâm sàng qua phân tích các mẫu máu lấy đầu ngón tay với thể tích yêu cầu là 200 μ L (0,2 mL) trên mỗi người.

(i) Kỹ thuật khám lâm sàng

Sau khi đăng ký tham gia sàng lọc trước khi vào nghiên cứu, người tham gia được hỏi bệnh và thăm khám như một ca bệnh nghi ngờ sốt rét (họ và tên, tuổi, địa chỉ cư trú, địa chỉ làm việc trong thời gian 14 ngày qua, nghề nghiệp liên quan đến phơi nhiễm sốt rét, các phòng bệnh cá nhân, tiền sử mắc sốt rét, đo thân nhiệt, các triệu chứng về sốt nóng, rét run, run lạnh, nhức đầu, mỏi cơ toàn thân,...).

(ii) Kỹ thuật đo nhiệt độ cơ thể

Sử dụng loại nhiệt kế thủy ngân quen thuộc mà các cơ sở y tế khám chữa bệnh dùng và áp dụng đo thân nhiệt ở nách, phù hợp cho cả người lớn và trẻ em. Trước khi đo cho bệnh nhân, khuyên bệnh nhân hoặc đối tượng tham gia nghiên cứu dùng áo lau khô hố nách (nếu có mồ hôi), sau đó cầm một đầu nhiệt kế vẩy nhẹ vạch đo xuống dưới mức tam giác màu đỏ, sau đó đặt nhiệt kế vào hố nách đo.

Giữ nhiệt kế ở nách, ép sát khuỷu tay vào ngực trong khoảng 5 phút, với trẻ em cần có cha mẹ, hoặc người giám hộ đi cùng giữ tay trong khi đo, tránh rơi và vỡ nhiệt kế. Giữ tay khép vào, phần cẳng tay để vắt ngang ngực trong suốt thời gian đo. Chờ 5 phút rồi rút nhiệt kế ra và đọc kết quả và $+0,5^{\circ}\text{C}$, nếu nhiệt độ ở nách từ $37,5^{\circ}\text{C}$ trở lên được xem là sốt.

(iii) Xét nghiệm lam máu soi kính hiển vi

Lam máu được dán nhãn và làm giọt mỏng và dày để đếm mật độ KST. Lam máu giọt mỏng được cố định cồn methanol, nhuộm nhanh (dung dịch giêm sa 10% trong 15 phút) và đọc dưới KHV với độ phóng đại 1000x xác định nhiễm KSTSR và nếu nhiễm, thì lam này cũng để xác định mật độ KSTSR. Lam máu thứ hai cùng với lam giọt mỏng cố định methanol được nhuộm dd giêm sa 4% trong 45 phút).

Việc đếm số lượng thể vô tính được thực hiện dựa trên số bạch cầu thường là 200 với một máy đếm cầm tay. Khi số lượng thể vô tính ít hơn 100 trên 200 bạch cầu, việc đếm được thực hiện trên vi trường với ít nhất 500 bạch cầu. Một lam máu được coi là âm tính khi kiểm tra trên 1.000 bạch cầu mà không có KSTSR. Mật độ được thể hiện qua lượng KST/ μL , được tính bằng cách chia số lượng thể vô tính cho số lượng bạch cầu đếm được và sau đó nhân với mật độ bạch cầu giả định (thường là $\times 8.000$ trên μL).

Hai kỹ thuật viên chuyên ngành có kỹ năng soi phát hiện KSTSR được cấp chứng chỉ đảm bảo chất lượng do TCYTTG cấp đọc tất cả lam một cách độc lập và mật độ KSTSR được tính bằng việc lấy trung bình của hai kết quả của hai kỹ thuật viên đếm được. Các lam máu với kết quả trái ngược (khác nhau giữa hai kỹ thuật viên về chẩn đoán loài, mật độ KSTSR lệch nhau trên 50% hoặc khác nhau về sự hiện diện KSTSR) được kiểm tra lại bằng một XNV thứ 3 (có kinh nghiệm và đã có chứng chỉ QA của TCYTTG), mật độ KSTSR được tính bằng việc lấy trung bình hai kết quả đếm được gần nhau nhất.

(iv) Kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán nhanh SD-Bioline HRP2/pLDH Pf/Pv

Trên nguyên tắc về sắc ký miễn dịch phát triển test nhanh chẩn đoán sốt rét, trên test này vừa có kháng thể để phát hiện kháng nguyên protein giàu histidine của *P. falciparum* (PfHRP2), loài kháng nguyên hòa tan trong nước, có thể sinh ra từ thể vô tính và giao bào non của *P. falciparum*, vừa phát hiện kháng nguyên *Plasmodium* lactate dehydrogenase (pLDH), là một glycolytic enzyme hòa tan của thể vô tính và hữu tính còn sống của các loài *Plasmodium* spp., phân biệt bằng các isomer pLDH, sản phẩm này được kiểm định và đánh giá bởi tổ chức WHO/FIND. Khi phiên giải kết quả cần lưu ý kháng nguyên có thể tồn tại dương tính kéo dài 7-14 ngày trong mẫu máu người bệnh và Kết quả chỉ ổn định trong vòng 1 giờ;

Quy trình làm test gồm có bước chuẩn bị test và các thành phần đi kèm, mẫu máu được trích từ ống máu tổng cho vào trong giếng của mẫu thử bằng pipet khoảng 5 μL sau khi đặt khay lên mặt bàn phẳng, thêm dung dịch đệm khoảng 4 giọt (60 μL) vào giếng. Đợi hợp chất máu và dung dịch đệm này mao dẫn lên trên và đọc kết quả trong 15 phút. Nếu âm tính chỉ có duy nhất vạch màu đỏ tại vị trí C, kết quả

không hợp lệ nếu không có vạch đỏ trên khay test hoặc không có vạch chứng vị trí C; dương tính *P.falciparum* (vạch đỏ C và 1) và dương tính cả *P.falciparum* và *P.vivax* khi xuất hiện đồng thời 3 vạch đỏ tại vị trí C, 1 và 2.

(v) Kỹ thuật phân tử RT-qPCR phát hiện loài và thể *Plasmodium* spp.

Những người mang ký sinh trùng không biểu hiện triệu chứng có thể có mật độ ký sinh trùng $< 1/\mu\text{L}$ máu. Phương pháp qPCR siêu nhạy làm rõ đáng kể tỷ lệ cao người không biểu hiện triệu chứng với mật độ hiện diện trong máu thấp ở quần thể dân cư, với giới hạn phát hiện là 22 KST/mL, cũng như trên các ca âm tính theo xét nghiệm giếm sa/ hoặc test nhanh [33].

Nghiên cứu áp dụng phương pháp cải tiến dựa trên phát hiện số bản sao RNA của gen RNA 18s, có thể xuất hiện lên tới 10^6 bản sao KST so với 5 bản sao của gen RNA 18s, điều mà chỉ được dùng ở các phương pháp PCR hiện tại. Việc phát hiện các bản sao RNA ưu điểm hơn là DNA để tăng độ nhạy hơn một bậc độ phóng đại mà không đòi hỏi thể tích máu tĩnh mạch lớn hơn, nên phương pháp này áp dụng trong nghiên cứu. Cần 50 μL máu đầu ngón tay đưa vào eppendorf có chứa 250 μL chất phản ứng RNA-protect (Qiagen) và sau đó dùng cho việc trích xuất RNA với kit chẩn đoán Rneasy (Qiagen) theo quy trình Wampfler và cộng sự .

Mẫu dương tính được xác định bằng RT-qPCR “một bước”, cho phép việc phát hiện 4 loài *Plasmodium* spp. trên người (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* và *P. malariae*), cùng với việc xác định chính xác loài KSTSR khi tiến hành ở những mẫu dương tính với độ đặc hiệu theo phương pháp RT-qPCR. Hơn nữa, trong các mẫu *P. falciparum* và *P. vivax*, nếu hiện diện giao bào trong mẫu *P. falciparum* và *P. vivax* qua phương pháp RT-qPCR, phát hiện bản sao đặc hiệu giao bào đối với lần lượt các gen *Pfs25* hoặc *Pvs25*, được thể hiện riêng trong giao bào giai đoạn V.

Bên cạnh việc xác định tỷ lệ nhiễm trên người không có triệu chứng bằng rt-qPCR định tính, thì các mẫu áp dụng kỹ thuật qPCR dựa trên DNA được tiến hành để định lượng mật độ KST trong máu ở những mẫu dương tính. Đối với các mẫu này, DNA và RNA được tách chiết đồng thời bằng kit Allprep DNA/RNA (Qiagen) và so sánh được độ nhạy có khả năng phát hiện bằng cách sử dụng 2 phương pháp qPCR (qPCR dựa trên DNA so với RT-qPCR).

(vi) Xét nghiệm đánh giá hoạt độ G6PD và Haemoglobine (Hb)

Trên người, thiếu G6PD là bệnh lý thiếu G6PD phổ biến nhất, ước tính ảnh hưởng khoảng 8% dân số thế giới, đặc biệt là những người đang sống ở vùng bệnh SRLH. Tình trạng G6PD được xác định bằng cảm biến sinh học CareStart™ G6PD (Access Bio, USA) cho phép định lượng hoạt độ G6PD.

Tỷ lệ thiếu G6PD trong quần thể nghiên cứu cung cấp dữ liệu quan trọng cho các chiến lược LTSR trong tương lai mà ở đó một loại thuốc thuộc nhóm 8-aminoquinoline như là PQ được sử dụng để diệt giai đoạn thể ngủ trong tế bào gan ở những BNSR nhiễm *P. vivax*. Việc định lượng hoạt độ G6PD của người tham gia nghiên cứu được chuẩn hóa theo nồng độ hemoglobin (Hb) của người đó, nồng độ này được tính bằng thiết bị CareStart™ Hb (Access Bio, Mỹ). Đối với trường hợp thiếu G6PD và đo nồng độ Hb thì cần khoảng 10μL máu đầu ngón tay. Quy trình đo và đọc kết quả theo Quy trình thực hành chuẩn.

Về quy trình thực hành chuẩn (SOPs), quy trình thực hành này mô tả các quy trình xác định hoạt độ G6PD ở những người tham gia sau khi chấp thuận. Dụng cụ và thiết bị trong bộ cảm ứng dùng để xét nghiệm gồm máy phân tích cảm biến CareStart™ G6PD, que thử dùng định lượng đo hoạt độ G6PD trên máu. Hệ thống cảm biến và bộ nhớ lưu trữ Tối thiểu 1.000 kết quả và hệ thống nạp máu tự động;

- Các miếng dán ghi nhãn sẵn số ID, ngày thu thập, găng tay vô trùng thực hiện xét nghiệm, pipet điều chỉnh được với các đầu tip dùng một lần 10μL, ống BD-microtainer EDTA 500μL có thể chứa 200 - 250μL máu.



Hình 2.3a. Máy đo hoạt độ G6PD



Hình 2.3b. Máy đo nồng độ Hb

Định lượng hoạt độ G6PD được chuẩn hóa trên nồng độ Hb và nồng độ này cũng được tính thông qua bộ CareStart™ Hb đồng thời trên cùng mẫu máu (10μL máu chích đầu ngón tay).

Giá trị hoạt độ G6PD được tính bằng IU/g Hb).

Định lượng hoạt độ G6PD của người tham gia được xác định bằng bộ cảm biến CareStart™ G6PD trong máu toàn phần.

Về quy trình thực hiện do kỹ thuật viên và bác sĩ nghiên cứu của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn tham gia tiến hành, trước khi thực hành trên đối tượng, tham gia tập huấn tại thực địa trước khi triển khai. Các bước hướng dẫn sử dụng đi vào chế độ thiết lập, đặt giờ, ngày, tháng, năm, âm lượng của âm thanh cảnh báo. Trước khi xét nghiệm máu, kỹ thuật viên phải làm quen hướng dẫn sử dụng có giải thích mã máy phân tích và làm thế nào để thử máy bằng 1 que thử và dd đối chứng;

- Quy trình xét nghiệm như sau:

- + Chạy test ở mức nhiệt độ môi trường từ 10-40°C;
 - + Nhấn cái nút ở giữa hoặc đưa que vào trong cổng chứa que để bật máy phân tích lên. Tất cả biểu tượng xuất hiện trên màn hình ngay và sau đó mã số hiệu thị trên màn hình. Nhấn nút ở giữa để vào chế độ đo;
 - + Lấy que CareStart™ G6PD mới từ chai và đóng nắp ngay sau khi lấy;
 - + Đưa que này cùng với nhãn dán G6PD mặt hướng lên trên vào cho tới khi nó dừng lại. Một âm thanh bíp phát ra và biểu tượng giọt máu nhấp nháy;
 - + Sử dụng pipette điều chỉnh được đầu tip 100µL, hút 20µL máu đã pha trong ống BD-microtainer EDTA 500µL có chứa 200-250µL máu chích đầu ngón tay của người tham gia vào trong que thử;
 - + Âm thanh bíp phát ra khi buồng máu (5µL) của que chứa giọt máu;
 - + Một biểu tượng hình chữ nhật nhấp nháy trên màn hình và sau đó phép đo được tiến hành tự động với tiếng bíp phát ra. Việc đếm ngược bắt đầu từ 240 giây. Khi đồng hồ đếm ngược về 1, kết quả test xuất hiện cùng với một đơn vị (U/dL) trên màn hình và được bộ nhớ máy phân tích lưu lại;
 - + Nhấn vào nút đẩy ra ở phía sau của máy phân tích để tháo que thử đã dùng khỏi máy phân tích. Để tắt máy phân tích, nhấn và giữ nút ở giữa trong 3 giây. Chữ “off” xuất hiện trên màn hình và máy tắt.
- Về phiên giải kết quả:

+ Máy phân tích cảm biến sinh học đo tổng hoạt độ G6PD trong máu toàn phần (IU/dL) và phạm vi của kết quả test: 0-300 U/dL của máu;

+ Hoạt độ G6PD được chuyển đổi sang U/g Hb để tính ra ngưỡng lâm sàng đối với các hoạt độ G6PD thông thường, trung bình và thiếu;

+ Kết quả mỗi người tham gia được ghi vào phiếu kết G6PD và Hb của tên từng người. Cần phải loại trừ các yếu tố làm sai lệch kết quả trên người.

Vứt bỏ các que thử sau khi đã mở hộp 3 tháng và chỉ sử dụng các que test phù hợp đi kèm của nhà sản xuất.

(vii) Kỹ thuật xác định biến thể thiếu G6PD trên hồng cầu

Mẫu máu được xác định thiếu hụt G6PD qua điều tra được phân tích. Phương pháp phân tích tỷ lệ thiếu G6PD và các biến thể G6PD theo quy trình Goo Youn-Kyoung và cộng sự (2014). Tách chiết DNA bằng kit genomic DNA Prep kit theo hướng dẫn nhà sản xuất đưa ra.

Phân tích biến thể G6PD bằng bộ sinh phẩm DiaPlexC G6PD genotyping kit (Asian type; SolGent, Hàn Quốc). Bộ sinh phẩm này có thể phân biệt được 5 biến thể thường gặp ở các nước trong khu vực Tây Thái Bình Dương trên gen G6PD bằng kỹ thuật sinh học phân tử PCR-RFLP [90].

Bộ sinh phẩm có thể phân biệt được 5 biến thể gen G6PD bằng phản ứng sinh học phân tử. Bộ sinh phẩm xác định biến thể gồm:

- + 2 ống hỗn hợp PCR và 1 ống hỗn hợp môi;
- + 1 ống thang chuẩn DNA và 1 ống chứng dương đột biến;
- + 1 ống chứng dạng đại.
- Thành phần cho một phản ứng PCR như sau:
 - + PCR master mix 12,5
 - + Môi hỗn hợp 2, nước khử ion 8,5, DNA khuôn 2
- Chu kỳ phản ứng PCR như sau:
 - + Chu kỳ phản ứng 95°C trong 15 phút;
 - + 30 chu kỳ bao gồm 95°C trong 30 giây;
 - + 60°C trong 30 giây; 72°C trong 40 giây và 72°C trong 10 phút.
- Điện di trên gel 2% trong 30 phút cường độ 100V, nhuộm gel bằng dung dịch

redsafe. Kiểm tra kết quả dưới đèn tử ngoại;

- Kết quả phân tích cụ thể như sau:
 - + Biến thể Vanua Lava: có kích thước 154 bp;
 - + Biến thể Mahidol có kích thước: 337 bp;
 - + Biến thể Coimbra có kích thước 234 bp;
 - + Biến thể Viangchan có kích thước 501 bp;
 - + Biến thể Union có kích thước 803 bp;
 - + Biến thể Canton có kích thước 681 bp;
 - + Biến thể Kalping có kích thước 557 bp.

Trường hợp những mẫu phát hiện có nhiều băng thì có thể tiến hành giải trình tự toàn bộ gen G6PD (kích thước khoảng 5,8Kb), đối chiếu với ngân hàng gen (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2539>) để xác định các biến thể khác [90].

Phương pháp PCR-RFLP để phân tích kiểu gen đột biến xác định biến thể G6PD thực hiện tại Đại học Gyeongsang (Hàn Quốc):

1.Viangchan: Cặp mồi đột biến được thiết kế bởi Nuchprayoon và cộng sự (2002)

871F: 5'-TGGCTTTCTCTCAGGTCTAG-3'

G6PD10R: 5'-GTCGTCCAGGTACCCTTTGGGG-3'

Kích thước sản phẩm: 126 bp.

2.Mahidol: Cặp mồi đột biến được thiết kế bởi Huang và cộng sự (1996)

487F: 5'-GCGTCTGAATGATGCAGCTCTGAT-3'

487R: 5'-CTCCACGATGATGCGGTTCAAGC-3'

Kích thước sản phẩm: 104 bp

3.Union: Cặp mồi đột biến được thiết kế bởi Huang và cộng sự (1996)

1360F: 5'-ACGTGAAGCTCCCTGACGC-3'

1360R: 5'-GTGAAAATACGCCAGGCCTTA-3'

Kích thước sản phẩm: 214 bp

4.Canton: Cặp mồi đột biến được thiết kế bởi Huang và cộng sự (1996)

1376F: 5'-ACGTGAAGCTCCCTGACGC-3'

1360R: 5'-GTGAAAATACGCCAGGCCTTA-3'

Kích thước sản phẩm: 214 bp

5. Kaiping: Cặp mồi đột biến được thiết kế bởi Huang và cộng sự (1996)

1388F: 5'-ACGTGAAGCTCCCTGACGC-3'

1388R: 5'-GTGCAGCAGTGGGGTGAACATA-3'

Kích thước sản phẩm: 227 bp

Chu trình PCR được thực hiện như dưới đây:

95°C 5 phút }
95°C 45 giây }

56°C 45 giây Lặp lại 40 chu kỳ.

72°C 45 giây

72°C 7 phút

Thử nghiệm RFLP: Thực hiện theo bảng dưới đây:

Bảng 2.3. Biến thể và các enzyme phân cắt giới hạn áp dụng phân tích

Biến thể G6PD	Enzym phân cắt giới hạn	Ngưỡng bình thường (bp)	Ngưỡng đột biến (bp)
Viangchan	Xba I	126	106+20
Mahidol	Hind II	104	82+22
Union	Hha I	142+45+27	187+27
Canton	Afl II	214	194+20
Kaiping	Nde I	227	206+21

Điện di và phân tích trên gel agarose 3%.

2.8. Quy trình nghiên cứu

2.8.1. Sàng tuyển đối tượng tham gia nghiên cứu

Khi đối tượng đến đăng ký khám và xét nghiệm, sau khi lấy phiếu chấp thuận tham gia nghiên cứu, cung cấp thông tin về dân số, thông số chức năng sống, trả lời câu hỏi nghiên cứu và sức khỏe, người tham gia nghiên cứu, cung cấp mẫu máu đầu ngón tay (tổng thể tích 200µL trong tube lớn). Trong đó, trích 50µL máu này bằng một pipet tự động và đưa trực tiếp vào ống eppendorf có chứa chất bảo vệ RNA (RNAprotect của hãng Qiagen, Mỹ) dành cho phân tích phân tử RNA của *Plasmodium* spp. Lấy thêm 50µL máu đưa vào ống heparin, pha trộn để chuẩn bị

sẵn sàng làm lam máu, xét nghiệm G6PD, đo nồng độ hemoglobin, rồi tính hoạt độ.

Người tham gia nào được chẩn đoán SR dương tính trên lam hay test nhanh được bác sĩ nhóm nghiên cứu điều trị theo Hướng dẫn Bộ Y tế (2016) [1].

Nghiên cứu không đòi hỏi phải có các đợt theo dõi nghiên cứu như các thử nghiệm lâm sàng, nên người tham gia sau khi đã cung cấp mẫu đơn tự nguyện tham gia, các mẫu máu chích đầu ngón tay và thông tin cần thiết cho mẫu báo cáo ca bệnh là họ đã hoàn thành tất cả yêu cầu nghiên cứu.

Mẫu báo cáo ca bệnh, thông tin cá nhân người tham gia và mẫu đơn tự nguyện tham gia dành cho người lớn được đính kèm ở phụ lục. Thông tin người tham gia và mẫu đơn cho phép từ cha mẹ/ người giám hộ dành cho trẻ em, thông tin người tham gia đơn đồng ý tham gia của trẻ em tuổi từ 10-17 tuổi đính kèm ở phụ lục.

2.8.2. Giám sát và báo cáo các biến cố (nếu có)

Nghiên cứu này không có sự can thiệp dùng thuốc, nên biến cố bất lợi được phát hiện trong quá trình lấy máu đầu ngón tay được báo cáo theo yêu cầu chi tiết. Tất cả đợt thu thập mẫu được tiến hành bởi nhóm nghiên cứu được đào tạo các quy trình kỹ thuật lấy máu vô trùng nhằm tối thiểu hóa các rủi ro này. Trong trường hợp các biến cố xảy ra hay một biến cố bất lợi nghiêm trọng, thì nghiên cứu viên chính thông báo cho Hội đồng Đạo đức Y sinh Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn trong khoảng thời gian Hội đồng đã chỉ định rõ và không nhận thêm người tham gia nào vào cho tới khi các chi tiết của biến cố bất lợi này được đánh giá đầy đủ.

2.9. Biến số và chỉ số đánh giá trong nghiên cứu

Bảng 2.2. Các biến số, chỉ số và công cụ thu thập trong nghiên cứu

Mục tiêu	Biến số nghiên cứu	Các chỉ số	Định nghĩa biến số	Công cụ thu nhập
Thông tin chung	Dân số điều tra	Tổng số dân tại điểm nghiên cứu đã được	Dân số hiện có của địa phương NC	Phỏng vấn theo bộ câu hỏi và hồi cứu số liệu
	Tuổi	Tỷ lệ % nhóm tuổi ≥ 5 - < 15 tuổi ≥ 15 - < 70 tuổi	Tuổi được tính theo năm sinh	

Mục tiêu	Biến số nghiên cứu	Các chỉ số	Định nghĩa biến số	Công cụ thu nhập
	Giới tính	Định tính giới Số lượng nam và nữ	Nam và nữ	CRFs
	Dân tộc	Số lượng Tỷ lệ các dân tộc	Nhóm dân tộc hiện có tại địa phương	
Mục tiêu 1	Người mang KSTSR không triệu chứng	Nhóm có thể vô tính - Nhóm tuổi - Giới tính - Dân tộc	- Từng nhóm tuổi có NMTKTC; - Từng giới tính có NMTKTC; - Từng dân tộc có NMTKTC.	Số liệu phân tích phân tử từ mẫu máu người tham gia
	Người mang KSTSR không triệu chứng	Nhóm có thể giao bào - Nhóm tuổi - Giới tính - Dân tộc	- Từng nhóm tuổi có người mang giao bào; - Từng giới tính có người mang giao bào; - Từng dân tộc có người mang giao bào.	Số liệu phân tích phân tử từ mẫu máu của đối tượng tham gia nghiên cứu
Mục tiêu 2	Tình trạng thiếu G6PD và biến thể thiếu G6PD	- Thiếu G6PD theo nhóm tuổi, giới; - Thiếu G6PD theo nhóm dân tộc; - Thiếu G6PD theo vùng địa lý - Các biến thể G6PD	- Các số lượng và tỷ lệ ca thiếu G6PD theo từng biến: + Tuổi, giới, dân tộc + Vùng địa lý - Biến thể thiếu G6PD	Thu thập từ dữ liệu phân tích các mẫu máu của từng đối tượng

2.10. Xử lý và phân tích số liệu

2.10.1. Quản lý vật tư và dữ liệu

Nghiên cứu viên chính đảm bảo rằng đề cương nghiên cứu được tuân thủ chặt chẽ và tất cả dữ liệu thu thập, ghi lại một cách đúng đắn trong mẫu báo cáo ca bệnh hay (case record form-CRF). Bất kỳ thay đổi nào hoặc chỉnh sửa nào đối với

CRF được ghi đánh dấu với ngày tháng và chữ ký của người chỉnh sửa.

Việc chỉnh sửa phải được giải thích và không nên xóa mờ nội dung ban đầu. Nghiên cứu viên chịu trách nhiệm cho việc lưu giữ an toàn các CRF và danh sách số nghiên cứu xác định người tham gia hoàn toàn trong một nơi an toàn (tức là tủ có khóa) tại Viện. Các kết quả phòng thí nghiệm được lưu trữ dưới dạng các bản sao giấy và điện tử trên các máy tính có đặt mật khẩu bảo vệ tại Viện. Các bản sao dữ liệu về báo cáo ca bệnh CRF và đăng ký dữ liệu có thể chia sẻ với các đồng chủ nhiệm và cán bộ dự án để phân tích dữ liệu.

Nghiên cứu viên hoàn thành CRF cho việc nhập liệu vào trong cơ sở dữ liệu máy tính. Cần phải duy trì một danh sách bảng kiểm các lam máu và các ống đựng máu cho phân tích phân tử để theo dõi việc thu thập dụng cụ và mẫu này.

Các bản sao giấy của tất cả dữ liệu gốc, bao gồm các bản chấp thuận của người tham gia nghiên cứu, các bản ghi hay đăng ký lâm sàng và cận lâm sàng được tiêu hủy và các bản ghi điện tử được xóa bỏ hay tiêu hủy theo quy định.

2.10.2. Các bản ghi người tham gia nghiên cứu

Những kết quả thông số về cận lâm sàng và lâm sàng của mỗi đối tượng tham gia nghiên cứu được giữ trong các thư mục CRF riêng. Các CRF và bản chấp thuận tham gia được lưu giữ riêng biệt của từng người tham gia. Trong quá trình nghiên cứu, tiếp cận các bản chấp thuận của người tham gia, bản báo cáo ca bệnh và đăng ký dữ liệu được nhóm nghiên cứu giữ. Các thành viên nhóm nghiên cứu cần đến các tài liệu này phải xin ý kiến và tuân thủ bảo mật các hồ sơ y khoa.

Nghiên cứu viên chính và đồng nghiên cứu viên đã hoàn thành khóa tập huấn GCP. Trong tất cả bản ghi điện tử của khâu phân tích dữ liệu, không được nhắc đến tên người tham gia mà chỉ dùng mã số nghiên cứu. Biện pháp này nhằm bảo vệ bí mật của thông tin y tế của người tham gia nghiên cứu. Tất cả CRF được lưu tại Viện trong ít nhất 10 năm sau khi hoàn thành nghiên cứu để trong tủ có khóa và có sự truy cập hạn chế.

2.10.3. Đảm bảo chất lượng nghiên cứu

- Nhằm tránh sai số trong suốt nghiên cứu, các thành viên tham gia được tập huấn quy trình kỹ thuật, phương pháp nghiên cứu cả trên thực địa và la bô dựa trên

các quy trình thực hành chuẩn (SOPs) và hiệu chuẩn thiết bị đưa vào phân tích mẫu nghiên cứu và triển khai quy trình demo tại Viện trước khi đi thực địa;

- Tất cả NCV chính, đồng nghiên cứu viên, thành viên tham gia chịu trách nhiệm khâu đảm bảo chất lượng đối với nghiên cứu trước, trong và sau quy trình.
- Điều này bao gồm các quy trình có liên quan đến việc tuyển chọn người tham gia, lưu trữ ống máu, lam kính có chứa máu phân tích phân tử, tài liệu nghiên cứu (mẫu báo cáo ca bệnh, quy trình SOPs, bản ghi), đào tạo, cung cấp nguồn lực và hậu cần liên quan nghiên cứu.

2.10.4. Phân tích dữ liệu

Dữ liệu điều tra được nhập liệu và phân tích bằng Excel (Macros, 2016), kiểm định ANOVA so sánh các tỷ lệ của nhiều nhóm, với giả thuyết biến nguyên nhân định tính không có tác động gì lên kết quả của biến định lượng.

2.10.5. Kết quả đầu ra từ nghiên cứu

- Số mẫu thu thập được phân tích theo giới, nhóm tuổi, nhóm dân tộc, nơi cư trú;
- Phân tích cơ cấu KSTSR được phát hiện thông qua XN lam máu chuẩn vàng giêm sa, RT-qPCR cả thể vô tính và giao bào từng loài *Plasmodium* spp;
- Phân tích mật độ từng loài hoặc nhiễm phối hợp trên bệnh nhân nghiên cứu theo chuẩn vàng giêm sa (nếu có) và RT-qPCR;
- Tỷ lệ và đặc điểm dịch tễ học của NMTKTC nhiễm từng loài *Plasmodium* spp. và nhiễm phối hợp các loài *Plasmodium* spp. Tỷ lệ người mang giao bào;
- Số lượng, tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD và các biến thể đột biến xác định;
- Liên quan giữa NMTKTC với mùa, giới tính, nhóm tuổi, vùng SRLH của 3 xã;
- Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD với giới tính, nhóm dân tộc.

2.11. Khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu viên chính đảm bảo tiến hành với những hướng dẫn hiện thời của Tuyên bố Helsinki (Seoul, 2008) và tuân thủ nguyên tắc Hướng dẫn Thực hành Lâm sàng tốt của Hội nghị Hòa hợp Quốc tế (ICH/GCP phiên bản cập nhật, 2005).

2.11.1. Chấp thuận Hội đồng Đạo đức Y sinh Viện Vệ sinh Dịch tễ TŨ

- Nghiên cứu thực hiện với đề cương đã được thông qua Hội đồng Đạo đức Y sinh Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn, tại Quyết định số

533/VSR-LSĐT ngày 15 tháng 8 năm 2018 và Hội đồng phê duyệt đề cương Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương;

- Tất cả thời điểm, tính an toàn luôn đảm bảo cho người tham gia nghiên cứu;
- Bất kỳ sự thay đổi nào cũng phải xin ý kiến chấp thuận của Hội đồng Đạo đức Y sinh và Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương trước khi thay đổi nghiên cứu;
- Nghiên cứu viên chính có trách nhiệm tuân theo các đánh giá của Hội đồng Đạo đức Y sinh học về quá trình thực hiện nghiên cứu được xem là thích hợp.

2.11.2. Cam kết tham gia nghiên cứu thông qua

- Bệnh nhân hoặc người nhà, giám hộ đồng ý chấp thuận sau khi nghe rõ quyền lợi và trách nhiệm khi tham gia, hoặc trong trường hợp không biết tiếng có thể nhờ người địa phương chuyển dịch ngôn ngữ nghe rõ trước khi tham gia;
- Tất cả câu hỏi bệnh nhân hoặc thân nhân đều phải được nhóm nghiên cứu trả lời rõ ràng, cụ thể. Ngay cả việc thực hiện xét nghiệm cho các đối tượng trong độ tuổi sinh sản cũng cần sự đồng ý.

2.11.3. Một số rủi ro và quyền lợi của đối tượng tham gia

- Các rủi ro khi lấy mẫu máu: Khi máu lấy qua chích đầu ngón tay có thể gây ra sự khó chịu nhẹ và nguy cơ nhiễm trùng rất nhỏ. Nguy cơ nhiễm trùng được giảm thiểu bằng cách dùng kỹ thuật vô trùng và kim vô trùng dùng một lần;
- Giải thích lợi ích cho người tham gia nghiên cứu gồm: Nếu trong máu xác định có KSTSR thì họ được điều trị tại TYT xã hoặc TTYT huyện miễn phí. Bác sỹ kiểm tra sức khỏe chung như đo thân nhiệt, mạch, nhịp tim, nhịp thở, cũng như các dấu chứng/triệu chứng y khoa gần đây. Nếu có bất kỳ vấn đề gì liên quan đến sức khỏe của người tham gia được các bác sỹ tham vấn, chuyển đến TYT/ hoặc TTYT huyện khám thêm.

2.11.4. Bảo mật thông tin và số liệu

- Thông tin liên quan đối tượng nghiên cứu được bảo mật và chỉ chia sẻ với các thành viên trong nhóm nghiên cứu (ẩn danh, làm mã nghiên cứu);
- Trưởng nhóm phải đảm bảo giữ hồ sơ, sản phẩm nghiên cứu cẩn trọng.

2.11.5. Dịch vụ chăm sóc y tế

- Chăm sóc y tế hoàn toàn miễn phí về bệnh sốt rét trong suốt quá trình nghiên cứu (về thuốc điều trị sốt rét) và theo dõi bệnh nhân sau uống thuốc;
- Nếu có vấn đề y tế khác không liên quan nhiễm sốt rét, nghiên cứu viên chính có trách nhiệm chuyển cho bệnh nhân điều trị trong khả năng tốt nhất.

2.11.6. Sự khích lệ và động viên đối tượng tham gia hoàn tất

- Tất cả bệnh nhân trong diện nghiên cứu được xét nghiệm và dùng thuốc (nếu có kết quả phù hợp) hoàn toàn miễn phí;
- Luôn luôn khuyến khích họ đến điểm nghiên cứu để đạt số mẫu như yêu cầu đề cương nhưng phù hợp với y đức.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua thời gian từ năm 2018 đến 2021, nhóm nghiên cứu thực hiện lấy mẫu người tham gia nghiên cứu tại các vùng sốt rét lưu hành (SRLH) khác nhau không biểu hiện triệu chứng vào các thời điểm giữa mùa khô và giữa mùa mưa trong năm tại địa bàn 3 xã Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So tương ứng với ba vùng ốt rét lưu hành sốt rét nặng, vừa và nhẹ của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông.

Áp dụng các phương pháp phân tích phân tử định lượng siêu nhạy, cải tiến dựa trên phát hiện số bản sao RNA của gen 18S RNA theo quy trình một bước xác định và phân biệt 4 loài KSTSR *Plasmodium* spp. thường nhiễm trên người tại vùng sốt rét lưu hành này gồm *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* và *P. malariae*.

Đồng thời, các mẫu máu này cũng xét nghiệm đánh giá tình trạng về hoạt độ G6PD bằng bộ cảm biến sinh học CareStart™ G6PD (Access Bio, Mỹ).

Một số kết quả nghiên cứu được ghi nhận trình bày như sau:

3.1. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng *Plasmodium* spp. ở người không biểu hiện triệu chứng và xác định loài *Plasmodium* spp. bằng phương pháp RT-qPCR

3.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu tại 3 xã thuộc huyện Tuy Đức

Bảng 3.1. Đặc điểm chung về nhân chủng học đối tượng tham gia nghiên cứu tại 3 xã của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông

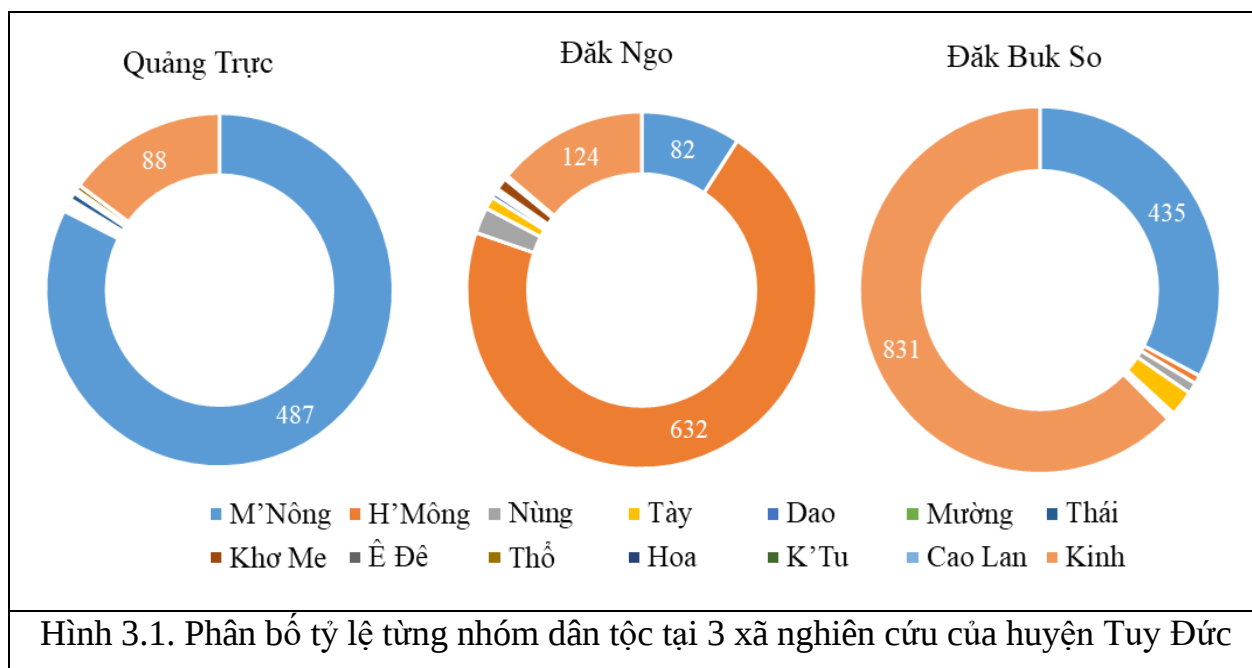
Đặc điểm nhân chủng	Quảng Trục		Đắk Ngo		Đắk Buk So	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Giới tính	591		890		1328	
Nam	225	38,07	328	36,85	516	38,86
Nữ	366	61,93	562	63,15	812	61,14
Nhóm tuổi	591		890		1328	
≥ 5 - < 15	107	18,11	93	10,45	152	11,45
≥ 15 - < 70	484	81,89	797	89,55	1176	88,55

Phân tích giới tính nam và nữ lần lượt tại từng xã có mức độ lưu hành sốt rét từ nặng đến vừa và nhẹ của Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So như sau 225 người (38,07%)/366 (61,93%); 328 người (36,85%)/562 (63,15%) và 516 người (38,86%)/812 (61,14%).

Nhóm người trưởng thành (≥ 15) chiếm ưu thế tại 3 xã Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So lần lượt là 484 người (81,89%); 797 người (89,55%) và 1176 người (88,55%) và nhóm trẻ em (≥ 5 -< 15) chiếm thấp hơn, với 107 người (18,11%); 93 người (10,45%) và 152 người (11,45%).

Bảng 3.2. Đặc điểm về các nhóm dân tộc tham gia nghiên cứu tại 3 xã của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông

Đặc điểm nhóm dân tộc	Quảng Trục		Đắk Ngo		Đắk Buk So	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Dân tộc	591		890		1328	
M'Nông	487	82,40	82	9,21	435	32,75
H'Mông	0	0	632	71,01	10	0,75
Nùng	1	0,17	21	2,36	13	0,98
Tày	2	0,34	10	1,12	30	2,26
Dao	2	0,34	4	0,44	4	0,30
Mường	2	0,34	3	0,33	3	0,23
Thái	4	0,68	1	0,11	0	0
Khơ Me	1	0,17	10	1,12	0	0
Ê Đê	1	0,17	0	0	1	0,07
Thổ	3	0,51	0	0	0	0
Hoa	0	0	1	0,11	0	0
K'Tu	0	0	0	0	1	0,07
Cao Lan	0	0	2	0,22	0	0
Kinh	88	14,89	124	13,93	831	62,58



Mỗi xã nghiên cứu có ưu thế một số lượng nhóm dân tộc đặc trưng hoặc bản địa tại chỗ hoặc họ di cư từ các tỉnh miền núi phía Bắc vào khu vực các tỉnh Tây Nguyên nói chung và huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông nói riêng. Trong đó, tại xã Quảng Trục, nhóm dân tộc chiếm ưu thế gồm M'Nông là 487 người (82,4%), tiếp đến dân tộc Kinh 88 người (14,89%), các dân tộc khác chiếm <3%.

Tại xã Đắk Ngo, nhóm dân tộc chiếm chủ yếu là người H'Mông là 632 người (71,01%), tiếp đến Kinh 124 (13,93%) và M'Nông là 82 người (9,21%), các dân tộc khác chiếm tỷ lệ thấp (<3%). Tại xã Đắk Buk So, số người Kinh là 831 người (62,58%), M'Nông là 435 người (32,75%), các dân tộc khác chiếm thấp hơn.

Bảng 3.3. Đặc điểm chung nhóm nghiên cứu tại 3 xã của huyện Tuy Đức

Đặc điểm phân tích (N = 2809)	Xã nghiên cứu		
	Quảng Trục (n=591)	Đắk Ngo (n=890)	Đắk Buk So (n=1328)
Số mẫu mỗi xã	591	890	1328
Tuổi trung bình	39,6 ± 15,7	36,6 ± 15,2	39,2 ± 15,1
Thân nhiệt trung bình	36,9 ± 0,1	36,9 ± 0,2	36,9 ± 0,4
Làm nông, rẫy, đi rừng (%)	90,1%	85,9%	79,7%

Theo số mẫu thực tế tính toán cỡ mẫu, tại từng xã Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So thu thập lần lượt được 591 mẫu, 890 mẫu và 1.328 mẫu.

Tuổi trung bình đối tượng nghiên cứu ở ba xã Quảng Trục, Đắk Ngo, Đắk Buk So lần lượt ($39,6 \pm 15,7$) tuổi; ($36,6 \pm 15,2$) tuổi và ($39,2 \pm 15,1$) tuổi và thân nhiệt trung bình lần lượt tại 3 xã là ($36,9 \pm 0,1$) $^{\circ}\text{C}$; ($36,9 \pm 0,2$) $^{\circ}\text{C}$ và ($36,9 \pm 0,4$) $^{\circ}\text{C}$.

Số người tham gia vào nghiên cứu phần lớn đang làm nông, làm rẫy, đi rừng và có hoạt động ngủ lại nhà rẫy chiếm tại 3 xã trên là 90,1%; 85,9% và 79,7%.

Bảng 3.4. Đặc điểm chung về nhóm đối tượng người lớn tham gia nghiên cứu

Đặc điểm phân tích (N = 2809)	Đắk Buk So (n=1328)	Đắk Ngo (n=890)	Quảng Trục (n=591)
Số mẫu người lớn mỗi xã	1176 (88,55%)	797 (89,55%)	484 (81,89%)
Tuổi trung bình (≥ 15 tuổi)	$39,6 \pm 15,7$	$36,6 \pm 15,2$	$39,2 \pm 15,1$
Cân nặng TB (kg)	$55,0 \pm 8,1$	$54,8 \pm 7,4$	$52,9 \pm 6,2$
Nhiệt độ TB ($^{\circ}\text{C}$)	$36,9 \pm 0,1$	$36,9 \pm 0,2$	$36,9 \pm 0,4$

Phân tích dữ liệu trên nhóm người lớn trưởng thành tại mỗi xã Đắk Buk So, Đắk Ngo và Quảng Trục lần lượt là 1176 người (88,55%), 797 (89,55%) và 484 người (81,89%) trong tổng số nghiên cứu tại mỗi điểm nghiên cứu.

Độ tuổi trung bình trên nhóm người lớn tại 3 xã lần lượt ($39,6 \pm 15,7$), ($36,6 \pm 15,2$) và ($39,2 \pm 15,1$) tuổi, cân nặng trung bình ở người lớn là ($55,0 \pm 8,1$), ($54,8 \pm 7,4$) và ($52,9 \pm 6,2$) kg. Nhiệt độ trung bình của nhóm đối tượng tham gia tại mỗi xã cũng tương đương với ($36,9 \pm 0,1$) $^{\circ}\text{C}$, ($36,9 \pm 0,2$) $^{\circ}\text{C}$ và ($36,9 \pm 0,4$) $^{\circ}\text{C}$.

Bảng 3.5. Đặc điểm chung về nhóm đối tượng trẻ em tham gia tại 3 xã

Đặc điểm phân tích (N = 2809)	Đắk Buk So (n=1328)	Đắk Ngo (n=890)	Quảng Trục (n=591)
Số mẫu mỗi xã	152 (11,44%)	93 (10,45%)	107 (18,10%)
Tuổi trung bình (≥ 5 -<15)	$12,4 \pm 1,8$	$11,9 \pm 1,7$	$12,8 \pm 1,9$
Cân nặng TB (kg)	$39,4 \pm 5,6$	$33,9 \pm 5,7$	$39,3 \pm 5,2$
Nhiệt độ TB ($^{\circ}\text{C}$)	$36,8 \pm 0,2$	$36,7 \pm 0,1$	$36,9 \pm 0,2$

Dữ liệu phân tích trên nhóm trẻ tại mỗi xã Đăk Buk So, Đăk Ngo và Quảng Trục lần lượt là 152 người (88,55%), 93 (89,55%) và 107 người (81,89%) trong tổng số nghiên cứu tại mỗi điểm nghiên cứu.

Độ tuổi trung bình trên nhóm người lớn tại 3 xã lần lượt ($12,4 \pm 1,8$); ($11,9 \pm 1,7$) và ($12,8 \pm 1,9$) tuổi, cân nặng trung bình ở đối tượng người lớn là ($39,4 \pm 5,6$), ($33,9 \pm 5,7$) và ($39,3 \pm 5,2$) kg.

Nhiệt độ trung bình của nhóm đối tượng tham gia tại mỗi xã với ($36,8 \pm 0,2$)°C, ($36,7 \pm 0,1$)°C và ($36,9 \pm 0,2$)°C.

3.1.2. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng *Plasmodium* spp. ở người không triệu chứng

Sau khi đã đánh giá về mặt lâm sàng, đo thân nhiệt và thăm khám triệu chứng không liên quan đến sốt rét, tất cả đối tượng tham gia được lấy máu mao mạch đầu ngón tay, xét nghiệm lam máu đều âm tính, trong khi đó test chẩn đoán nhanh (Pf/Pv HRP2/pLDH) phát hiện kháng nguyên cho kết quả dương tính 5 trường hợp.

Tất cả mẫu máu được bảo quản theo kỹ thuật quy trình chuẩn, phân tích tại khoa Sinh học phân tử của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn, xác định tỷ lệ KST *Plasmodium* spp. dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR vào thời điểm giữa mùa mưa và giữa mùa khô như sau:

Bảng 3.6. Xét nghiệm lam máu và test chẩn đoán nhanh 3 xã, huyện Tuy Đức

TT	Tên xã nghiên cứu	XN lam máu Giêm sa		XN test nhanh	
		Dương tính	Âm tính	Dương tính	Âm tính
1	Quảng Trục (n=591)	0	591	2 (0,34%)	589
2	Đăk Ngo (n=890)	0	890	2 (0,22%)	888
3	Đăk Buk So (n=1328)	0	1328	1 (0,08%)	1327
	Tổng số	0	2809	5 (0,18%)	2804

Trong số các đối tượng tham gia nghiên cứu xét nghiệm vừa lam máu vừa test nhanh đồng thời trên mẫu máu làm RT-qPCR tại ba xã, số liệu cho thấy tại cả ba xã đều cho kết quả xét nghiệm lam máu chuẩn vàng giêm sa âm tính.

Tuy nhiên, khi xét nghiệm test nhanh thì dương tính tại Quảng Trục là 2 ca (0,34%), xã Đăk Ngo là 2 ca (0,22%) và tại Đăk Buk So là 1 ca (0,08%).

Bảng 3.7. Tỷ lệ KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR tại 3 xã của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa mưa

Tên xã	Thời điểm giữa mùa mưa					Giá trị P
	Số mẫu phân tích	Âm tính		Dương tính		
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Quảng Trục ⁽¹⁾	305	266	87,2	39	12,8	p ^{(1),(2)} < 0,05
Đăk Ngo ⁽²⁾	445	429	96,4	16	3,6	p ^{(2),(3)} < 0,05
Đăk Buk So ⁽³⁾	663	653	98,5	10	1,5	p ^{(1),(3)} < 0,01
Tổng số	1.413	1348 (95,4%)		65 (4,6%)		

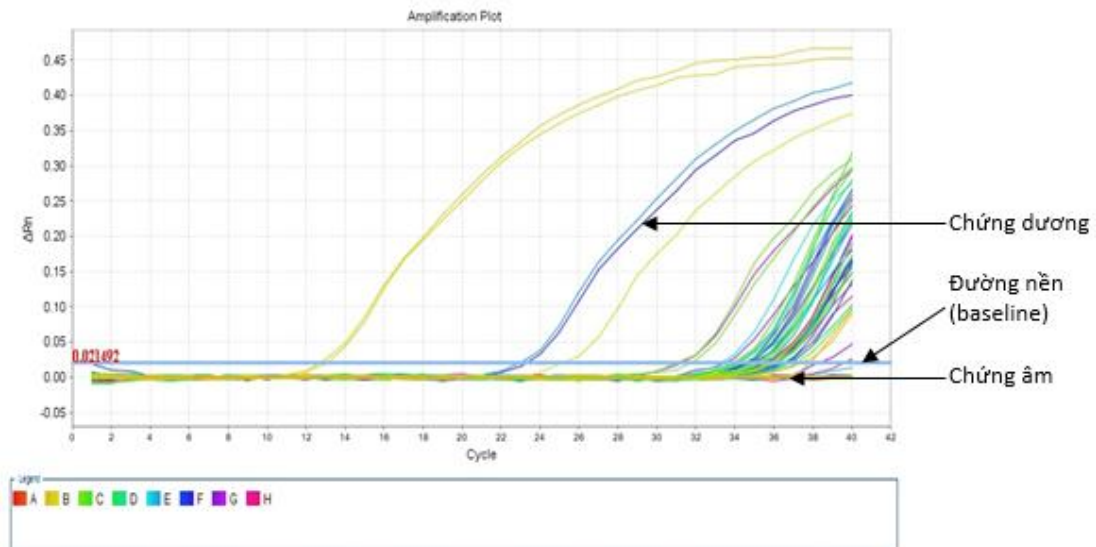
Kiểm định ANOVA, so sánh các tỷ lệ dương tính tại 3 xã

Tỷ lệ xét nghiệm RT-qPCR dương tính tại ba xã Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa mưa lần lượt là 12,8% (39/305); 3,6% (16/445) và 1,5% (10/663) và tỷ lệ dương tính chung của 3 xã là 4,6% (65/1413).

Bảng 3.8. Tỷ lệ KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR tại 3 xã của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa khô

Tên xã	Thời điểm giữa mùa khô					Giá trị P
	Số mẫu phân tích	Âm tính		Dương tính		
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Quảng Trục ⁽¹⁾	286	250	87,4	36	12,6	p ^{(1),(2)} < 0,05
Đăk Ngo ⁽²⁾	445	429	96,4	16	3,6	p ^{(2),(3)} < 0,05
Đăk Buk So ⁽³⁾	665	653	98,2	12	1,8	p ^{(1),(3)} < 0,01
Tổng số	1.396	1332 (95,4%)		64 (4,6%)		

Kiểm định ANOVA, so sánh các tỷ lệ dương tính tại 3 xã

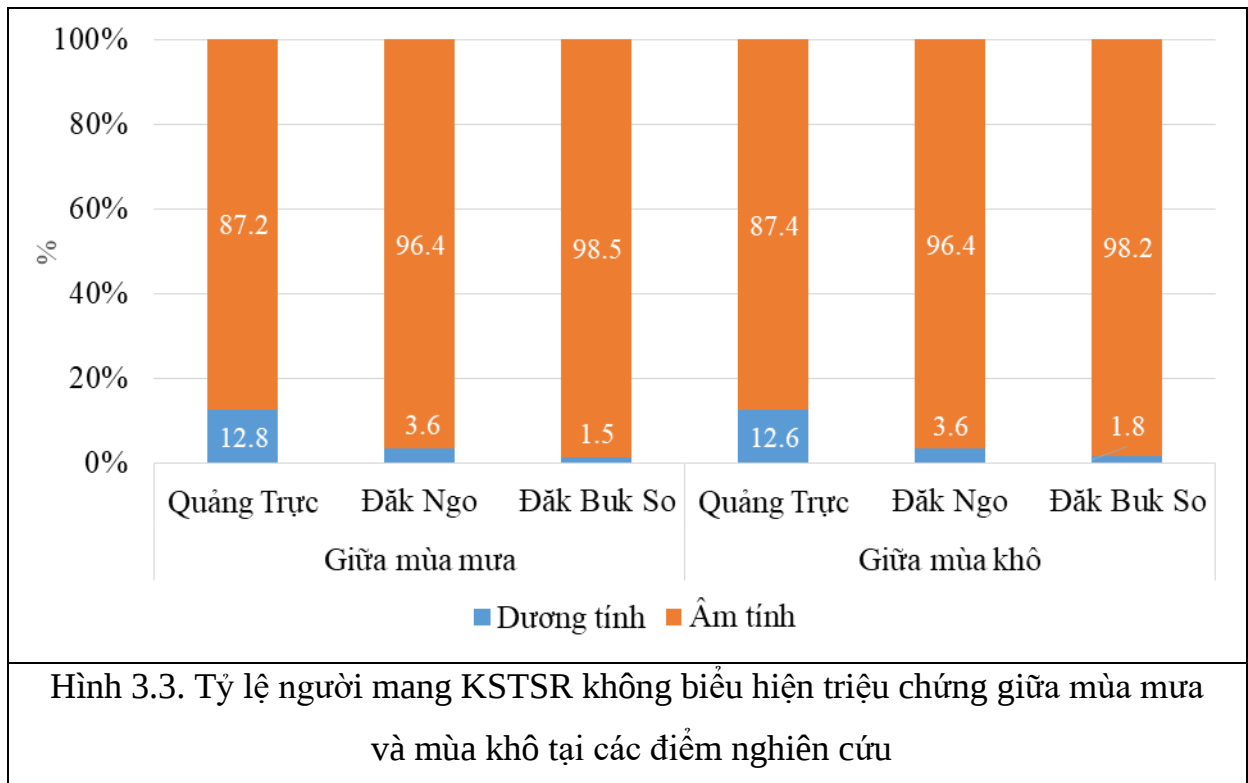


Hình 3.2. Xác định giống *Plasmodium* spp. trên nhóm nghiên cứu bằng kỹ thuật RT-qPCR trên hệ thống máy ABI 7500 fast

Tỷ lệ xét nghiệm RT-qPCR dương tính tại ba xã Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa khô lần lượt là 12,6% (36/286); 3,6% (16/445) và 1,8% (12/665) và tỷ lệ dương tính chung của 3 xã là 4,6% (64/1396).

Bảng 3.9. So sánh tỷ lệ nhiễm KSTSR trên người không biểu hiện triệu chứng tại thời điểm giữa mùa mưa và mùa khô

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu phân tích	Dương tính		Số mẫu phân tích	Dương tính	
		n	%		n	%
Quảng Trục	305	39	12,8	286	36	12,6
Đắk Ngo	445	16	3,6	445	16	3,6
Đắk Buk So	663	10	1,5	665	12	1,8
Tổng số	1.413	n = 65 (4,6%)		1.396	n = 64 (4,6%)	

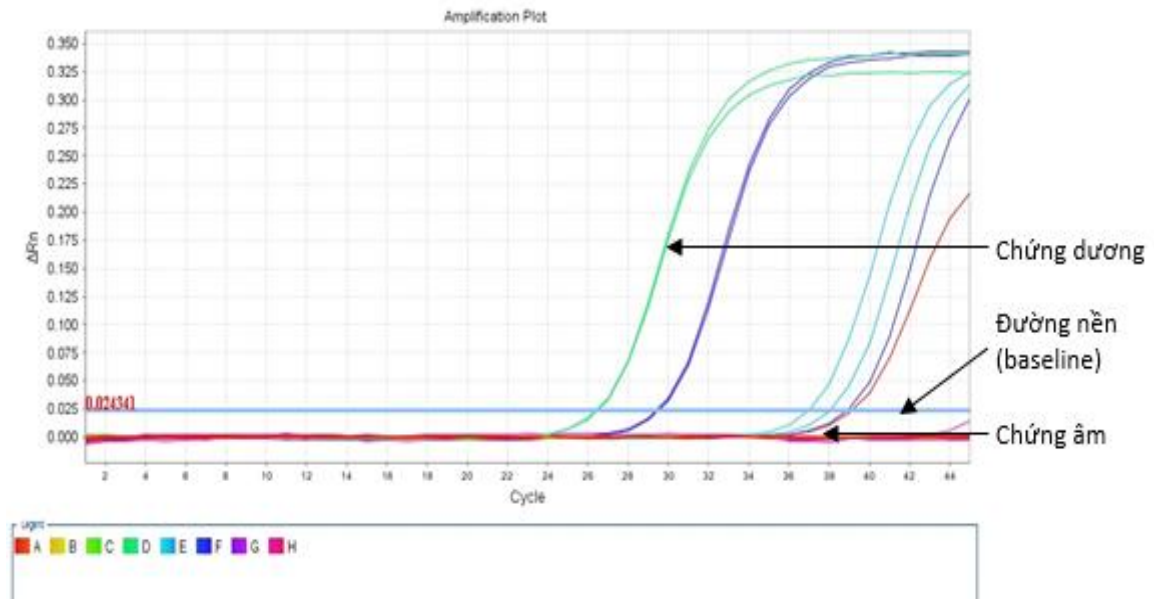


Tỷ lệ dương tính KSTSR chung ở giữa hai mùa mưa và giữa mùa khô cùng là 4,6%. So sánh tỷ lệ KSTSR dương tính tại ba xã nghiên cứu của Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So vào hai thời điểm giữa mùa mưa và giữa mùa khô lần lượt là 12,8% và 12,6%; 3,6% và 3,6%; 1,5% và 1,8%.

Tỷ lệ nhiễm KST không triệu chứng không khác nhau giữa các mùa khô và mưa, nhưng có sự khác nhau giữa các vùng LHSR của ba xã.

Bảng 3.10. Định loài *Plasmodium* spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét huyện Tuy Đức

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu phân tích	Dương tính		Số mẫu phân tích	Dương tính	
		n	<i>P.fal</i>		n	<i>P.fal</i>
Quảng Trục	305	39	39	286	36	36
Đắk Ngo	445	16	16	445	16	16
Đắk Buk So	663	10	10	665	12	12

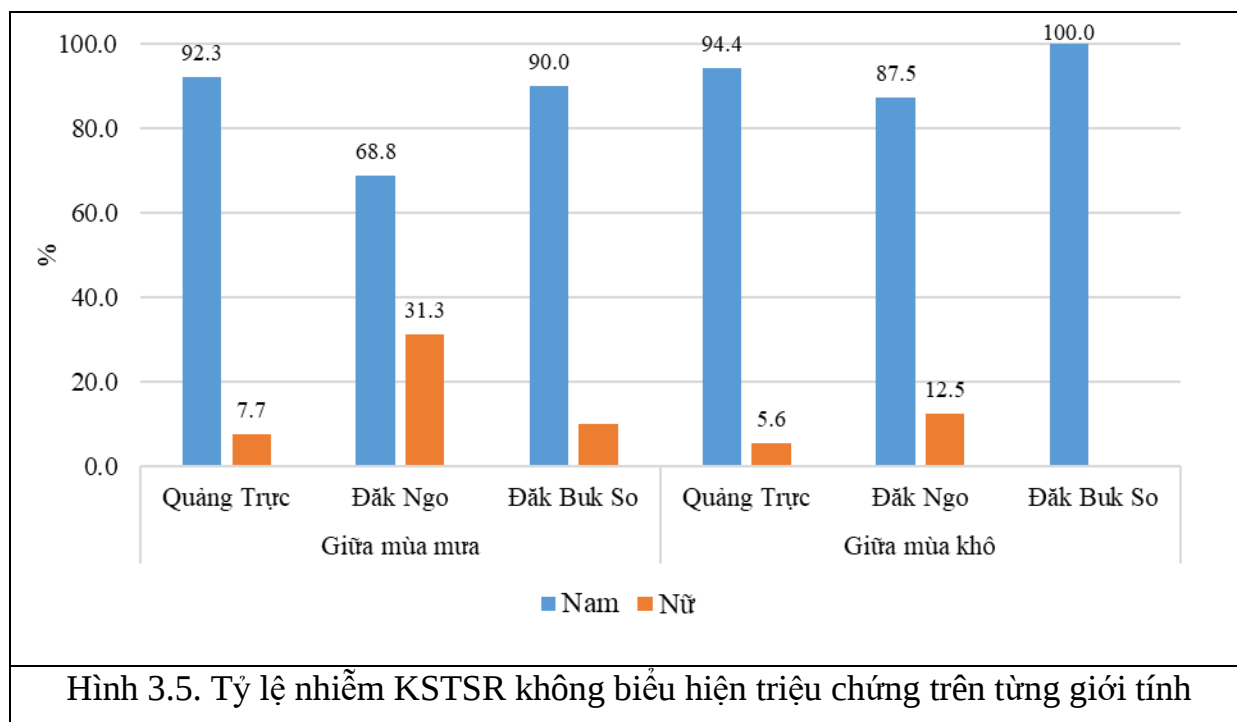


Hình 3.4. Định loài *Plasmodium* spp. trên nhóm có kết quả KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR trên hệ thống máy ABI 7500 fast.

Số liệu về phân tích định loài KSTSR, cho thấy trong số 100% số ca dương tính với giống *Plasmodium* đều là loài *P. falciparum* ở tại hai thời điểm giữa mùa mưa và mùa khô. Chưa thấy mẫu dương tính với *P. vivax* hoặc loài khác, hoặc mẫu dương mà chưa xác định được loài.

Bảng 3.11. Nhiễm KST *Plasmodium* spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét theo giới tính

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu (+)	Dương tính		Số mẫu (+)	Dương tính	
		Nam	Nữ		Nam	Nữ
Quảng Trục	39	36	3	36	34	2
Đăk Ngo	16	11	5	16	14	2
Đăk Buk So	10	9	1	12	12	0
Tổng số	65	56 (86,15%)	9 (13,85%)	64	60 (93,76%)	4 (6,24%)



Trong số 65 trường hợp nhiễm *P. falciparum* không triệu chứng ở giữa mùa mưa, có 56 ca (86,15%) là nam và 9 ca (13,85%) là nữ.

Giữa mùa khô có 64 ca *P.falciparum* thì số nam chiếm tỷ lệ cao 60 ca (93,76%) và nữ giới là 4 ca (6,24%).

3.1.3. Tỷ lệ người mang giao bào *Plasmodium* spp. trên người không biểu hiện triệu chứng bằng kỹ thuật phân tích RNA RT-qPCR

Bảng 3.12. Xác định giao bào của *Plasmodium* spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu phân tích	Giao bào <i>P.f</i>		Số mẫu phân tích	Giao bào <i>P.f</i>	
		Số lượng	Tỷ lệ %		Số lượng	Tỷ lệ %
Quảng Trục	305	2	0,66	286	0	0
Đắk Ngo	445	1	0,22	445	0	0
Đắk Buk So	663	0	0	665	0	0

Phân tích xác định có hay không các giao bào trên các đối tượng tham gia nghiên cứu cho thấy vào thời điểm giữa mùa mưa ở xã Quảng Trục có 2 ca (0,66%) có giao bào *P. falciparum* trên các ca có KST *P. falciparum* dương tính và tại xã Đắk Ngo có 1 ca (0,22%), còn xã Đắk Buk So thì không có giao bào.

Trong thời điểm mùa khô thì không có xã nào phát hiện ca có giao bào *Plasmodium* spp. trên người tham gia.

Bảng 3.13. Xác định giao bào của *Plasmodium* spp. tại 3 xã lưu hành sốt rét

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu phân tích	Thế vô tính + giao bào <i>P.f</i>		Số mẫu phân tích	Thế vô tính + giao bào <i>P.f</i>	
		Số lượng	Tỷ lệ %		Số lượng	Tỷ lệ %
Quảng Trục	305	2	0,66	286	0	0
Đăk Ngo	445	1	0,22	445	0	0
Đăk Buk So	663	0	0	665	0	0

Phân tích xác định có hay không các giao bào trên các đối tượng tham gia nghiên cứu cho thấy vào thời điểm giữa mùa mưa ở xã Quảng Trục có 2 ca (0,66%) có giao bào *P. falciparum* trên các ca có KST *P. falciparum* dương tính và tại xã Đăk Ngo có 1 ca (0,22%), còn xã Đăk Buk So thì không có giao bào.

3.2. Đánh giá hoạt độ G6PD bằng bộ cảm biến sinh học định lượng

3.2.1. Đặc điểm về mẫu nghiên cứu tại 3 xã của huyện Tuy Đức

Bảng 3.14. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu tại 3 xã huyện Tuy Đức

Đặc điểm quần thể nghiên cứu		Thông số phân tích
Tuổi trung bình (min, max)		35 (3; 69)
Giới tính	Nam (SL, %)	1069 (38,06%)
	Nữ (SL, %)	1740 (61,94%)
Xã cư trú	Quảng Trục (SL, %)	591 (21,04%)
	Đăk Ngo (SL, %)	890 (31,68%)
	Đăk Buk So (SL, %)	1328 (47,28%)
Số nhóm dân tộc tham gia điều tra		14

Trong quần thể nghiên cứu có 14 nhóm dân tộc khác nhau, độ tuổi trung bình là 35 tuổi, trong đó nam là 1069 (38,06%) và nữ là 1740 (61,94%).

Bảng 3.15. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu tại 3 xã huyện Tuy Đức

Đặc điểm quần thể nghiên cứu	Thông số phân tích
Hemoglobine (g/dL)*	12,0 (1,85)
Hoạt độ G6PD (IU/g Hb)*	9,03 (2,94)
*Hb và hoạt độ G6PD được mô tả qua số trung bình và độ lệch chuẩn	

Nồng độ Hb trung bình là $12,0 \pm 1,85$ (g/dL) và hoạt độ G6PD là $9,03 \pm 2,94$ (IU/g Hb).

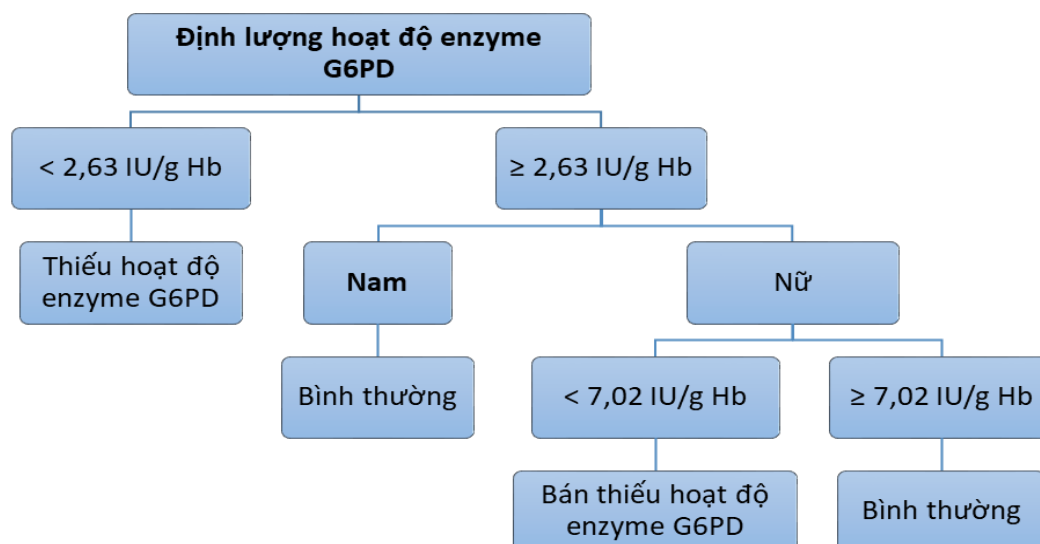
3.2.2. Đặc điểm hoạt độ G6PD của quần thể nghiên cứu

Bảng 3.16. Đặc điểm về hoạt độ G6PD trên quần thể nghiên cứu

Giá trị	Tổng số	Nữ	Nam	Nam (điều chỉnh)
Số lượng	2809	1740	1069	1037
Trung bình (95% CI) IU/g Hb	9,03	9,16	8,83	9,03
Độ lệch chuẩn	2,94	2,88	3,03	2,77
Trung vị (95% CI) IU/g Hb	8,93	9,07	8,71	8,78
Khoảng	0 - 31,4	0,09 - 31,40	0 - 21,49	1,02 - 21,49
CI: Confidence interval (khoảng tin cậy); IU: Int' unit (ĐV quốc tế); Hb:Haemoglobin				

Giá trị trung bình (GTTB) của hoạt độ G6PD chung là 9,03 IU/g Hb, trong đó GTTB ở nữ là 9,16 và ở nam là 8,83 và GTTB ở nhóm nam giới có hiệu chỉnh là 9,03. Giá trị trung vị trên nhóm nam điều chỉnh là 8,78 IU/g Hb.

3.2.3. Sơ đồ phân loại hoạt độ G6PD ở các ngưỡng 30% và 80%



IU: International unit (đơn vị quốc tế); Hb: haemoglobin

Hình 3.6. Sơ đồ phân loại thiếu hoạt độ G6PD theo các mốc 30% và 80% của giá trị bình thường (8,78 IU/g Hb)

Các ngưỡng phân loại ở mức 30% và 80% của hoạt độ G6PD trong toàn bộ quần thể dựa trên giá trị bình thường được xác định lần lượt là 2,63 IU/g Hb và 7,02 IU/g Hb.

3.2.4. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo giới tính

Bảng 3.17. Tỷ lệ thiếu, bán thiếu và bình thường của hoạt độ G6PD phân tích theo từng giới tính nam, nữ

Giới tính	Phân loại thiếu hoạt độ G6PD			Tổng số	Giá trị p
	Thiếu G6PD	Không thiếu/ Bán thiếu			
		Bán thiếu	Bình thường		
Nam ^a (n, %)	39 (3,65%)	-	1030 (96,35%)	1069	p ^{(a)(b)} < 0,001
Nữ ^b (n, %)	26 (1,49%)	340 (19,50%)	1374 (79,01)	1740	
Tổng số	65 (2,31%)			2809	

Phân tích tỷ lệ thiếu G6PD trên hồng cầu của quần thể chung và phân theo từng giới tính chỉ ra: Tỷ lệ thiếu G6PD trên nhóm nam giới là 39 ca (3,65%) và ở nhóm nữ giới là 26 ca (1,49%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Đặc biệt trên nhóm nữ có 340 ca (19,5%) biểu hiện tình trạng bán thiếu.

3.2.5. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo phân vùng địa lý

Bảng 3.18. Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo phân vùng địa lý

Điểm nghiên cứu	Tổng số điều tra	Thiếu hoạt độ G6PD		Giá trị p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Xã Quảng Trục ⁽¹⁾	591	30	5,1	$p^{(1)(2)} < 0,001$
Xã Đắk Buk So ⁽²⁾	1328	24	1,8	$p^{(1)(3)} < 0,001$
Xã Đắk Ngo ⁽³⁾	890	11	1,2	$p^{(2)(3)} < 0,005$
Tổng số	2809	65	2,31	

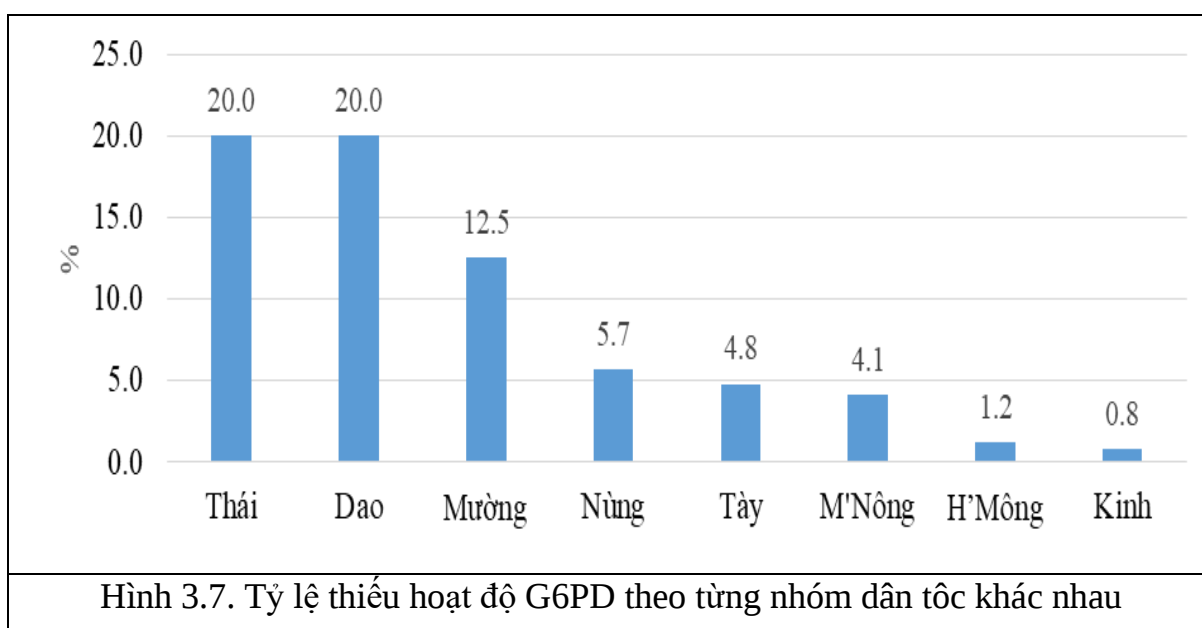
Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD trên hồng cầu của quần thể tại từng xã nghiên cứu cho thấy: Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD ở xã Quảng Trục là 5,1% (30/591), xã Đắk Ngo là 11/890 ca (1,2%) và ở xã Đắk Buk So là 24/1328 (1,8%).

Sự khác biệt thiếu hoạt độ G6PD theo từng vùng địa lý có ý nghĩa thống kê ($p < 0,005$).

3.2.6. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo nhóm dân tộc

Bảng 3.19. Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo từng nhóm dân tộc

TT	Dân tộc	Tổng số (n, %)	Thiếu hoạt độ G6PD	
			Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Kinh	1043	8	0,8
2	M'Nông	1004	41	4,1
3	H'Mông	642	8	1,2
4	Tày	42	2	4,8
5	Nùng	35	2	5,7
6	Khơ Me	11	0	0
7	Dao	10	2	20
8	Mường	8	1	12,5
9	Thái	5	1	20
10	Thổ	3	0	0
11	Ê Đê	2	0	0
12	Cao Lan	2	0	0
13	Hoa	1	0	0
14	Ktu	1	0	0
Tổng số		2809	65	2,31%



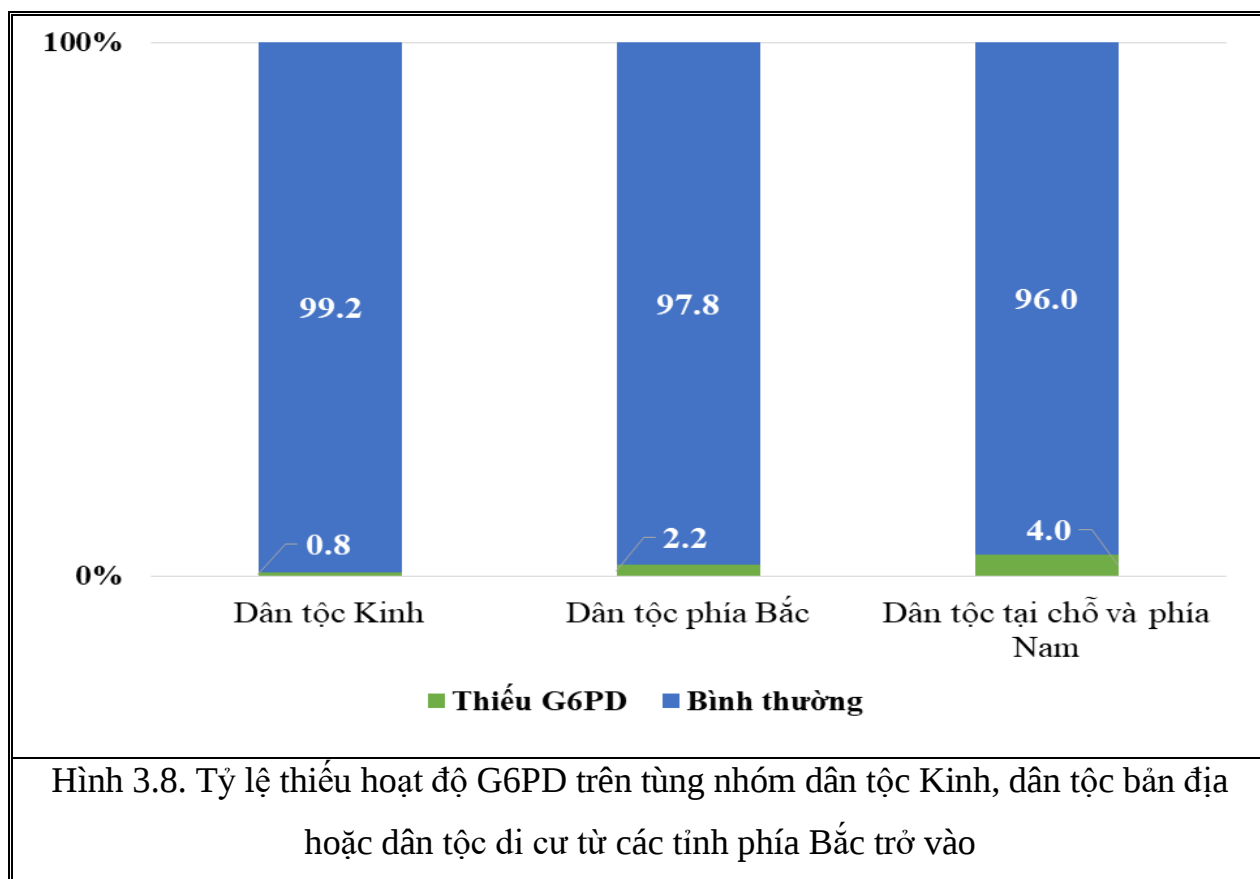
Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD có sự khác nhau giữa các nhóm dân tộc khi phân tích trên quần thể chung.

Trong đó, các nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc vào Tây Nguyên sinh sống đã lâu như dân tộc Thái là 20% (1/5), dân tộc Mường chiếm 12,5% (1/8), dân tộc Nùng là 5,7% (2/35), dân tộc Dao là 20% (2/10), dân tộc Tày là 4,8% (2/42), dân tộc M'Nông là 4,1% (41/1004) và dân tộc Kinh là 0,8% (8/1043).

Các dân tộc khác từ phía Nam lên Tây Nguyên (Khơ Me, Thổ, Cao Lan, Ê Đê, Hoa và Ktu) với cỡ mẫu thu thập rất thấp và chưa phát hiện trường hợp nào thiếu hoạt độ G6PD.

Bảng 3.20. Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo nhóm dân tộc tại bản địa chỗ và dân tộc di cư từ các tỉnh ngoài Bắc vào Tây Nguyên

Nhóm dân tộc	Tổng số điều tra	Thiếu hoạt độ G6PD		Giá trị p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Dân tộc Kinh ⁽¹⁾	1043	8	0,77	P ⁽¹⁾⁽²⁾ < 0,001 P ⁽²⁾⁽³⁾ < 0,005 P ⁽¹⁾⁽³⁾ < 0,001
Dân tộc phía Bắc di cư vào Tây Nguyên (Dao, Mường, Tày, Nùng, Thổ, Thái, H'Mông) ⁽²⁾	742	16	2,16	
Dân tộc tại chỗ hoặc phía Nam (M'Nông, Khơ Me, Ê Đê, Lào, Hoa, K'tu) ⁽³⁾	1024	41	4,00	
Kiểm định ANOVA so sánh các tỷ lệ thiếu G6PD trên các nhóm dân tộc khác nhau				



Phân tích tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo từng nhóm dân tộc theo sự ổn định tại chỗ và di cư từ nơi khác đến.

Trong đó, dân tộc Kinh có tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD là 0,77% (8/1043), các dân tộc bản địa tại chỗ hoặc từ miền Nam lên như M'Nông, Khơ Me, Ê Đê, Lào, Hoa, K'tu là 4% (41/1024).

Các nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh miền Bắc đi vào Tây Nguyên gồm Dao, Mường, Tày, Nùng, Thổ, Thái, H'Mông có tỷ lệ thiếu là 2,16% (16/742).

Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.21. Các biến thể thiếu G6PD phân theo nhóm dân tộc tại các vùng

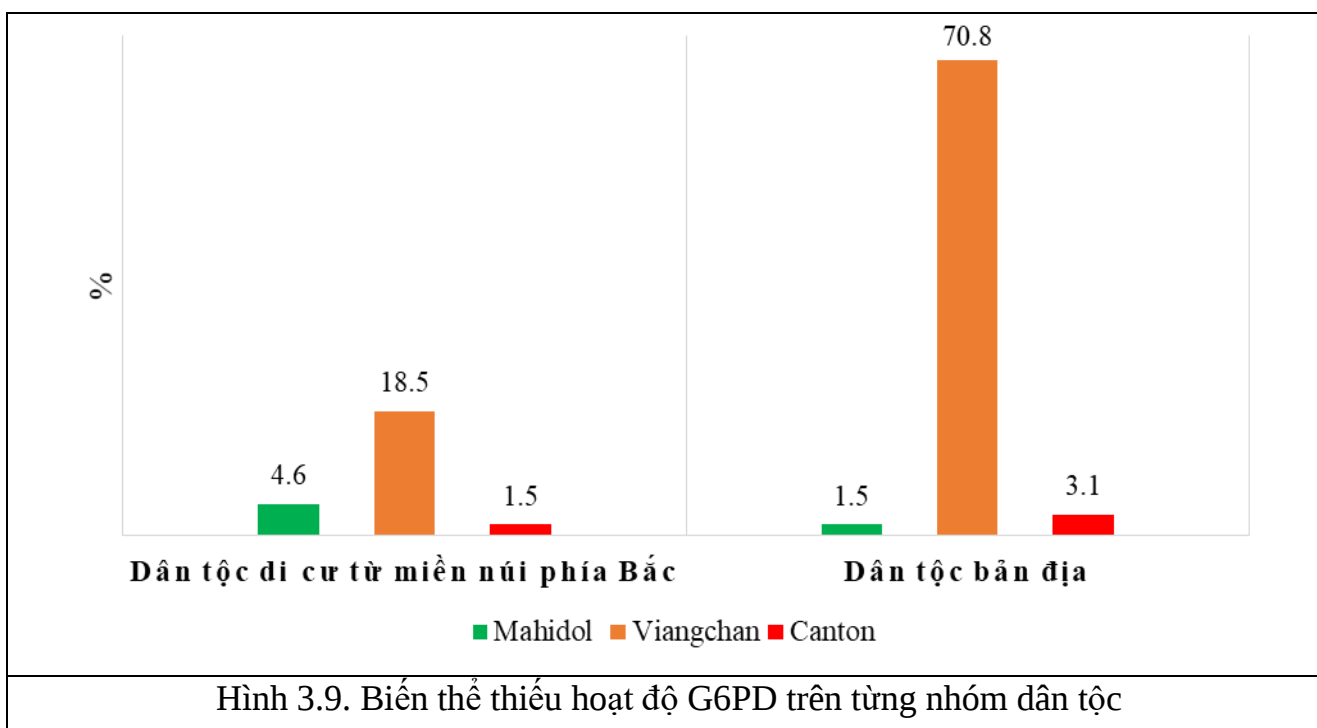
Biến thể G6PD	Biến thể thiếu hoạt độ G6PD phân theo dân tộc tại các vùng							
	Tày (n=42)	Nùng (n=35)	Mường (n=8)	H'Mông (n=642)	Thái (n=5)	Dao (n=10)	M'Nông (n=1004)	Kinh (n=1043)
487G→A (Mahidol)	0	1	0	2	0	0	0	1
592C→T (Coimbra)	0	0	0	0	0	0	0	0
563C→T (Mediterranean)	0	0	0	0	0	0	0	0
1360C→T (Union)	0	0	0	0	0	0	0	0
1376G→T (Canton)	0	0	0	0	0	1	1	1
1388G →A (Kaiping)	0	0	0	0	0	0	0	0
383T→C (Vanua)	0	0	0	0	0	0	0	0
871G →A (Viangchan)	2	1	1	6	1	1	40	6

Loại biến thể thiếu G6PD hay gặp nhất trên quần thể tại các điểm nghiên cứu là biến thể Viangchan (871G→A) với 58/65 trường hợp thiếu (89,23%), kế đến một số ca là biến thể Mahidol (487G→A) với 4/65 trường hợp (6,15%) và 3 trường hợp gặp biến thể thiếu G6PD loại Canton với 3/65 (4,62%).

Bảng 3.22. Các biến thể thiếu G6PD phân theo nhóm dân tộc bản địa và dân tộc di cư từ phía Bắc vào Tây Nguyên

Biến thể G6PD	Biến thể thiếu hoạt độ G6PD phân theo dân tộc tại chỗ và di cư							
	Tày (n=42)	Nùng (n=35)	Mường (n=8)	H'Mông (n=642)	Thái (n=5)	Dao (n=10)	M'Nông (n=1004)	Kinh (n=1043)
487G→A (Mahidol)	0	1	0	2	0	0	0	1
1376G→T (Canton)	0	0	0	0	0	1	1	1
871G →A	2	1	1	6	1	1	40	6

(Viangchan)								
Phân loại	Dân tộc di cư từ miền núi phía Bắc						Dân tộc bản địa	
Biến thể G6PD	Mahidol có 3/65 ca (4,62%) Viangchan có 12/65 (18,46%) Canton có 1/65 (1,54%)						Mahidol 1/65 (1,54%) Vianchang 46/65 (70,77%) Canton 2/65 (3,08%)	



Hình 3.9. Biến thể thiếu hoạt độ G6PD trên từng nhóm dân tộc

Nhận xét:

Trong số 65 trường hợp thiếu hoạt độ G6PD, phân thành nhóm dân tộc di cư từ phía Bắc vào Tây Nguyên và dân tộc tại bản địa cho thấy với nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh miền núi phía Bắc vào Tây Nguyên sinh sống và làm ăn có các biến thể thiếu enzyme loại Mahidol là 3/65 ca (4,62%), Viangchan có 12/65 (18,46%) và biến thể Canton có 1/65 (1,54%).

Trong khi đó, trên nhóm dân tộc bản địa, số trường hợp thiếu hoạt độ G6PD có biến thể G6PD Vianchang 46/65 (70,77%), biến thể G6PD Canton là 2/65 (3,08%) và biến thể G6PD Mahidol 1/65 (1,54%).

3.3. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD tại điểm nghiên cứu

3.3.1. Yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng

Bảng 3.23. Liên quan giữa mức độ vùng LHSR với người mang KSTSR không triệu chứng trong thời điểm giữa mùa mưa

Giữa mùa mưa	Số mẫu/ xã	Số ca (+)		Giá trị p
Tên xã		Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Quảng Trực ⁽¹⁾	305	39	12,8	$p^{(1),(2)} < 0,05$
Đăk Ngo ⁽²⁾	445	16	3,6	$p^{(2),(3)} < 0,05$
Đăk Buk So ⁽³⁾	663	10	1,5	$p^{(1),(3)} < 0,01$

Nhận xét:

Tỷ lệ NMTKTC qua xét nghiệm RT-qPCR dương tính tại ba xã ở các vùng SRLH khác nhau từ cao đến thấp của Quảng Trực, Đăk Ngo và Đăk Buk So của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa mưa cũng chỉ ra thấy từ cao xuống thấp lần lượt là 12,8% (39/305); 3,6% (16/445) và 1,5% (10/663). Sự khác biệt về tỷ lệ NMTKTC này giữa các vùng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

Bảng 3.24. Liên quan giữa mức độ vùng LHSR với người mang KSTSR không triệu chứng trong thời điểm giữa mùa khô

Giữa mùa khô	Số mẫu/ xã	Số ca (+)		Giá trị p
Tên xã		Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Quảng Trực ⁽¹⁾	286	36	12,6	$p^{(1),(2)} < 0,05$
Đăk Ngo ⁽²⁾	445	16	3,6	$p^{(2),(3)} < 0,05$
Đăk Buk So ⁽³⁾	665	12	1,8	$p^{(1),(3)} < 0,01$

Nhận xét:

Tỷ lệ NMTKTC qua xét nghiệm RT-qPCR dương tính tại ba xã ở các vùng SRLH khác nhau từ cao đến thấp của Quảng Trực, Đăk Ngo và Đăk Buk So của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa khô cũng chỉ ra thấy từ cao xuống thấp lần lượt là 12,6% (36/286); 3,6% (16/445) và 1,8% (12/665), sự khác biệt này cũng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

Bảng 3.25. Liên quan giữa tỷ lệ người mang KSTSR không triệu chứng với mùa truyền bệnh sốt rét (mưa và khô)

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu phân tích	Dương tính		Số mẫu phân tích	Dương tính	
		n	%		n	%
Quảng Trục	305	39	12,8	286	36	12,6
Đăk Ngo	445	16	3,6	445	16	3,6
Đăk Buk So	663	10	1,5	665	12	1,8
Tổng số	1.413	n = 65 (4,6%)		1.396	n = 64 (4,6%)	

Nhận xét:

Tỷ lệ dương tính NMTKTC chung ở giữa hai mùa mưa và giữa mùa khô đều cùng là 4,6%, không có sự khác biệt ý nghĩa. Tuy nhiên, tỷ lệ NMTKTC dương tính tại các vùng SRLH từ cao xuống thấp khác nhau giữa hai mùa mưa và mùa khô lần lượt là 12,8% và 12,6%; 3,6% và 3,6%; 1,5% và 1,8%.

Bảng 3.26. Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với giới tính trong thời điểm giữa hai mùa mưa và khô tại 3 xã SRLH khác nhau

Tên xã	Giữa mùa mưa			Giữa mùa khô		
	Số mẫu (+)	Dương tính		Số mẫu (+)	Dương tính	
		Nam	Nữ		Nam	Nữ
Quảng Trục	39	36 (92,3)	3 (7,7)	36	34 (94,4)	2 (5,6)
Đăk Ngo	16	11 (68,8)	5 (31,2)	16	14 (87,5)	2 (12,5)
Đăk Buk So	10	9 (90,0)	1 (10,0)	12	12 (100)	0 (0)
Tổng số	65	56 (86,15%) ⁽¹⁾	9 (13,85%) ⁽²⁾	64	60 (93,76%) ⁽³⁾	4 (6,24%) ⁽⁴⁾
		p ⁽¹⁾⁽²⁾ < 0,01			p ⁽³⁾⁽⁴⁾ < 0,01	

Tỷ lệ NMTKTC nhiễm theo giới ở nam luôn luôn cao hơn ở nữ vào thời điểm mùa mưa cũng như mùa khô, lần lượt 86,15% so với 13,85% (giữa mùa mưa) và 93,76% so với 6,24% (giữa mùa khô).

Tương tự, tính riêng tại 3 xã có mức độ SRLH từ cao đến thấp lần lượt vào mùa mưa là 92,3% so với 7,7% (ở xã Quảng Trục); 68,8% so với 31,2% (ở xã Đắk Ngo) và 90% so với 10% (ở xã Đắk Buk So).

Sự khác biệt về NMTKTC với giới tính ở trong thời điểm giữa hai mùa có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

Bảng 3.27. Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng tại 3 xã với giới tính trong thời điểm giữa mùa mưa

TT	Giới tính	Tổng số phân tích	Người mang KST không triệu chứng	Người không mang KST	OR (95%CI)
1	Nam	616	56 (9,09%)	560 (90,91%)	OR = 0,1
2	Nữ	797	9 (1,13%)	788 (98,87%)	OR = 0,01
	Tổng số	1413	64 (4,60%)	1349 (95,40%)	OR (nam/nữ) = 10

Liên quan giữa giới tính với tình trạng người nhiễm KSTSR không triệu chứng vào thời điểm giữa mùa mưa, số liệu phân tích cho thấy nam giới có nguy cơ nhiễm KSTSR cao gấp 10 lần so với nữ giới (với tỷ suất chênh OR = 10).

Bảng 3.28. Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng tại 3 xã với giới tính trong thời điểm giữa mùa khô

TT	Giới tính	Tổng số phân tích	Người mang KST không triệu chứng	Người không mang KST	OR (95%CI)
1	Nam	453	60 (13,25%)	393 (86,75%)	OR = 0,15
2	Nữ	943	4 (0,42%)	939 (99,58%)	OR = 0,004
	Tổng số	1396	64 (4,60%)	1332 (95,40%)	OR (nam/nữ) = 37,5

Liên quan giữa giới tính với tình trạng người nhiễm KSTSR không triệu chứng vào thời điểm giữa mùa khô, số liệu phân tích cho thấy nam giới có nguy cơ nhiễm KSTSR cao gấp 37,5 lần so với nữ giới (với tỷ suất chênh OR = 37,5).

Bảng 3.29. Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với nhóm tuổi tại 3 xã lưu hành sốt rét khác nhau

Nhóm tuổi	aOR	Khoảng tin cậy 95%CI
$\geq 5 - < 15$ tuổi	1	1 - 1
$\geq 15 - < 30$ tuổi	0,52	0,21 - 1,27
$\geq 30 - < 45$ tuổi	1,64	0,74 - 4,27
$\geq 45 - < 70$ tuổi	1,46	0,38 - 3,10

Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với từng nhóm tuổi được phân tích tại 3 xã SRLH khác nhau cho thấy có sự khác biệt tỷ lệ NMTKTC giữa nhóm tuổi $\geq 30 - < 45$ tuổi và nhóm tuổi $\geq 45 - < 70$ tuổi cao hơn nhóm tuổi $\geq 10 - < 15$ tuổi, lần lượt 1,64 và 1,46 lần. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Trong khi đó nhóm tuổi $\geq 15 - < 30$ tuổi thấp hơn nhóm tuổi $\geq 5 - < 15$ tuổi, sự khác biệt không có ý nghĩa ($p=0,062$).

Bảng 3.30. Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với các nhóm dân tộc khác nhau tại 3 xã có mức độ SRLH khác nhau

Xã lưu hành sốt rét	Giữa mùa mưa		Giữa mùa khô	
	Dân tộc bản địa	Dân tộc khác	Dân tộc bản địa	Dân tộc khác
Quảng Trục	39 (100)	0	36 (100)	0
Đăk Ngo	14 (87,5)	2 (12,5)	16 (100)	0
Đăk Buk So	7 (70,0)	3 (30,0)	10 (83,3)	2 (16,7)
Tổng số	60 (92,3%)	5 (7,7%)	62 (96,9%)	2 (3,1%)

Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với các nhóm dân tộc khác nhau tại 3 xã có mức độ SRLH khác nhau cho thấy: phần lớn tỷ lệ NMTKTC ở nhóm dân tộc bản địa cao hơn so với các dân tộc khác lần lượt ở giữa mùa mưa là 92,3% (60/65) so với 7,7% (5/65) và giữa mùa khô là 96,9% (62/64) so với 3,1% (2/64).

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

3.3.2. Yếu tố liên quan đến tình trạng thiếu G6PD

Bảng 3.31. Liên quan giữa thiếu, bán thiếu hoạt độ G6PD với giới tính

Giới tính	Phân loại thiếu hoạt độ G6PD			Tổng số	Giá trị p
	Thiếu hoạt độ G6PD	Không thiếu/ Bán thiếu			
		Bán thiếu	Bình thường		
Nam ⁽¹⁾ (n, %)	39 (3,65%)	-	1030 (96,35%)	1069	p ⁽¹⁾⁽²⁾ < 0,001
Nữ ⁽²⁾ (n, %)	26 (1,49%)	340 (19,50%)	1374 (79,01)	1740	

Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD theo từng giới tính chỉ ra tỷ lệ thiếu G6PD trên nam giới là 39 ca (3,65%) và ở nữ là 26 ca (1,49%), sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,001$) và tỷ lệ thiếu trên nam cao gấp 2,45 lần so với nhóm nữ.

Đặc biệt trên nhóm nữ còn có 340 ca (19,5%) biểu hiện tình trạng bán thiếu hoạt độ G6PD, trên nam thì không.

Bảng 3.32. Liên quan giữa thiếu - bán thiếu hoạt độ G6PD và giới tính

Giới tính	Số mẫu xét nghiệm	Mẫu thiếu-bán thiếu	Tỷ lệ (%)	OR (95%CI)	Giá trị p
Nam	1069	39	3,65	5,8 (3,2 - 10,8)	0,012
Nữ	1740	366	21,03		
Tổng số	2809	405	14,42		

OR: Odd ratio: tỷ suất chênh trong điều tra ngang; CI: Khoảng tin cậy

Liên quan giới và tỷ lệ thiếu-bán thiếu G6PD cho thấy thiếu-bán thiếu G6PD ở nữ cao gấp 5,8 lần so với nam, sự khác biệt có ý nghĩa ($p=0,012$).

Bảng 3.33. Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD và giới tính

Giới tính	Số mẫu xét nghiệm	Mẫu thiếu-bán thiếu	Tỷ lệ (%)	OR (95%CI)	Giá trị p
Nam	1069	39	3,65	2,5 (1,9 - 4,2)	0,034
Nữ	1740	26	1,49		
Tổng số	2809	405	14,42		

OR: Odd ratio: tỷ suất chênh trong điều tra ngang; CI: Khoảng tin cậy

Nếu chỉ tính riêng về các mẫu thiếu chứ không gộp mẫu bns thiếu ở nữ giới thì liên quan giữa giới tính và thiếu G6PD chỉ ra nam giới thiếu G6PD cao hơn so với nữ gấp 2,5 lần và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,034$).

Bảng 3.34. Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD với các nhóm dân tộc

TT	Dân tộc	Tổng số (n, %)	Thiếu hoạt độ G6PD	
			Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Kinh	1043	8	0,8
2	M'Nông	1004	41	4,1
3	H'Mông	642	8	1,2
4	Tày	42	2	4,8
5	Nùng	35	2	5,7
6	Khơ Me	11	0	0
7	Dao	10	2	20
8	Dân tộc khác	22	2	9,1
Tổng số		2809	65	2,31%

Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD với các nhóm dân tộc cho thấy:

Có sự khác nhau, trong đó các nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc vào Tây Nguyên sinh sống như Thái là 20% (1/5), Mường 12,5% (1/8), Nùng 5,7% (2/35), Dao 20% (2/10), Tày 4,8%(2/42), M'Nông 4,1% (41/1004)

Dân tộc Kinh là 0,8% (8/1043).

Các dân tộc khác từ phía Nam lên Tây Nguyên (Khơ Me, Cao Lan, Hoa và Ktu) với tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD chung là 9,1% (2/22).

Bảng 3.35. Liên quan giữa các nhóm dân tộc với thiếu hoạt độ G6PD chung tại 3 xã

Dân tộc	Số mẫu xét nghiệm	Dương tính	Tỷ lệ (%)	OR	95%CI	Giá trị p
Kinh	1043	8	0,8	1	Tham chiếu	
M'Nông	1004	41	4,1	5,1	(3,6 - 7,2)	0,014
H'Mông	642	8	1,2	1,5	(0,7 - 1,9)	0,048
Khác*	120	8	6,7	8,4	(4,9 - 12,8)	0,013
Tổng số	2809	65	2,31			

OR: Odd ratio: tỷ suất chênh trong điều tra ngang; CI: Khoảng tin cậy

Khi phân tích thiếu hoạt độ G6PD trên các nhóm dân tộc chiếm ưu thế về số lượng tham gia nghiên cứu gồm dân tộc Kinh, M'Nông, H'Mông và một nhóm các dân tộc khác (Tày, nùng, Khơ Me, Dao, Khơ Mú, Hoa,...) chỉ ra ở dân tộc M'Nông, H'Mông và các dân tộc khác thiếu hoạt độ G6PD lần lượt cao hơn gấp 5,1; 1,5 và 8,4 lần so với dân tộc Kinh.

Sự khác biệt về thiếu hoạt độ G6PD giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Chương 4

BÀN LUẬN

Qua thời gian từ năm 2018-2021, nhóm nghiên cứu thực hiện lấy mẫu người tham gia nghiên cứu không biểu hiện triệu chứng tại các vùng sốt rét lưu hành (SRLH) với mức độ lưu hành khác nhau vào các thời điểm giữa mùa khô và giữa mùa mưa trong năm tại địa bàn 3 xã Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So tương ứng với ba vùng SRLH nặng, vừa và nhẹ của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông, đây cũng là huyện trọng điểm với bệnh nhân sốt rét hàng năm cao nhất của Đắk Nông.

Áp dụng các phương pháp phân tích phân tử định lượng siêu nhạy, cải tiến dựa trên phát hiện số bản sao RNA của gen 18S RNA trên các mẫu máu đã thu được và bảo quản bằng RNA protect kit, phân tích theo quy trình “một bước” xác định và phân biệt 4 loài KSTSR *Plasmodium* spp. thường gây nhiễm trên người tại các vùng sốt rét lưu hành tại Việt Nam nói chung và Đắk Nông nói riêng, gồm loài *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* và *P. malariae*.

Đồng thời, các mẫu máu này cũng đồng thời xét nghiệm, đánh giá tình trạng về hoạt độ G6PD bằng bộ cảm biến sinh học CareStart™ G6PD biosensor (Access Bio, Mỹ). Một số kết quả nghiên cứu được ghi nhận trình bày như sau:

4.1. Tỷ lệ nhiễm KST *Plasmodium* spp. ở người không biểu hiện triệu chứng

4.1.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu tại 3 xã SRLH

Trong số đối tượng tham gia nghiên cứu điều tra, giới tính nam và nữ lần lượt tại từng xã có mức độ lưu hành sốt rét từ nặng đến vừa và nhẹ của các xã Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So đều cho thấy nữ cao hơn nam, lần lượt tại từng xã là 225 (38,07%)/366 (61,93%); 328 (36,85%)/562 (63,15%) và 516 (38,86%)/812 (61,14%) vì điểm đặc biệt tại các vùng SRLH Tây Nguyên thường khi đi rừng rẫy và lập nương trên rẫy ở xa hộ gia đình thì cả vợ và chồng đều tham gia và thường khi thu hoạch xong thì vợ vận chuyển nông sản, củi, lúa rẫy về nhà trước và chồng còn ở lại. Hơn nữa, theo phong tục, một số nhóm dân tộc ở Tây Nguyên còn cho thấy các phụ nữ trong gia đình tham gia rất tích cực nương rẫy, đóng vai trò chính làm các công việc nặng, trong khi các ông chồng chỉ ở nhà bế bồng con và làm việc

nhà nên cho thấy nguy cơ mắc sốt rét cả nam và nữ trong độ tuổi trưởng thành đều có thể xảy ra, nên việc tiếp cận cả đối tượng tại các vùng SRLH trên cả nhóm nam và nữ có ý nghĩa không những đánh giá con số thực hiện trạng nhiễm ký sinh trùng sốt rét không biểu hiện triệu chứng mà còn đánh giá tình trạng thiếu hoạt độ G6PD trên cả hai giới đầy đủ hơn và là cơ sở để can thiệp các mô hình và biện pháp Phòng chống sốt rét (PCSR) và loại trừ sốt rét (LTSR) phù hợp nhất từ nay đến năm 2025 và năm 2030.

Trong các đối tượng tham gia nghiên cứu, cho thấy nhóm tuổi người lớn trưởng thành (≥ 15 tuổi) trở lên chiếm ưu thế tại 3 xã Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So lần lượt là 484 người (81,89%); 797 người (89,55%) và 1176 người (88,55%) và nhóm tuổi trẻ em (≥ 10 -< 15) chiếm tỷ lệ thấp hơn với lần lượt 107 người (18,11%); 93 người (10,45%) và 152 người (11,45%). Vì đối tượng này cũng thường xuyên đi cùng bố mẹ vào rừng, rẫy và tham gia vào các vụ mùa của gia đình và buôn làng, nên chúng có thường xuyên ở lại nhà rẫy cùng với gia đình trong thời gian dài có thể 1 tuần đến 10 ngày, nên nguy cơ phơi nhiễm với muỗi sốt rét cũng khó tránh khỏi.

Về phân loại từng nhóm dân tộc trong các đối tượng tham gia vào nghiên cứu cho thấy ở mỗi xã điều tra có ưu thế một số nhóm dân tộc đặc trưng thuộc vùng Tây Nguyên hoặc nhóm dân tộc bản địa, tại chỗ hoặc có khi cả khu vực có nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh miền núi phía Bắc vào khu vực các tỉnh Tây Nguyên nói chung và huyện Tuy Đức, tỉnh Đăk Nông nói riêng từ 10-15 năm qua.

Tại xã Quảng Trục, nhóm dân tộc bản địa tại chỗ chiếm ưu thế là người M'Nông với 487 người (82,4%), tiếp đến dân tộc Kinh 88 người (14,89%), một số người thuộc các dân tộc khác như Nùng, Tày, Dao, Mường, Thái, Khơ Me, Ê Đê, Thổ chiếm dưới 3%. Tại xã Đăk Ngo, nhóm dân tộc chiếm chủ yếu là người H'Mông có mặt ở hầu hết các buôn, làng của xã là 632 người (71,01%), tiếp đến là dân tộc Kinh 124 (13,93%) và dân tộc M'Nông bản địa Tây Nguyên là 82 người (9,21%), các dân tộc khác từ các tỉnh phía Bắc hoặc Nam vào đây như dân tộc Nùng, Tày, Dao, Mường, Thái, Khơ Me, Ê Đê, Thổ, Hoa, K'Tu, Cao Lan chiếm tỷ lệ mỗi dân tộc chỉ thấp dưới 3%. Tại xã Đăk Buk So, đa số người dân tộc Kinh

chiếm cao 831 người (62,58%), dân tộc M'Nông bản địa chiếm 435 người (32,75%), các dân tộc khác như người dân tộc H'Mông, Nùng, Tày, Dao, đặc biệt dân tộc Mường chiếm tỷ lệ thấp hơn (< 3%).

Theo số mẫu tính toán tổng số tại 3 xã là 2940 người, song tại 3 xã khi thu thập mẫu máu trên người chỉ có 2809 mẫu tại các xã, trong đó xã Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So chỉ thu thập lần lượt được 591 mẫu, 890 mẫu và 1328 mẫu. Sở dĩ, số mẫu đạt được thấp hơn so với ước tính ban đầu bởi vào mùa mưa nhiều người dân trong độ tuổi lao động lên đường đi làm thuê tại các tỉnh khác, một số nhóm khác đi rẫy tập trung chưa về, đặc biệt tham gia bảo vệ rừng hoặc làm theo mùa vụ tại các tỉnh Bình Phước, Bình Dương hoặc vào mùa khô thì đi làm rừng thoe các công ty không chịu về tham gia nghiên cứu.

Độ tuổi trung bình người tham gia nghiên cứu ở ba xã Quảng Trục, Đăk Ngo, Đăk Buk So của huyện Tuy Đức lần lượt ($39,6 \pm 15,7$) tuổi; ($36,6 \pm 15,2$) tuổi và ($39,2 \pm 15,1$) tuổi và thân nhiệt trung bình lần lượt tại 3 xã là ($36,9 \pm 0,1$) $^{\circ}\text{C}$; ($36,9 \pm 0,2$) $^{\circ}\text{C}$ và ($36,9 \pm 0,4$) $^{\circ}\text{C}$, tất cả đều không ghi nhận sốt. Số người tham gia vào nghiên cứu phần lớn đang làm nông, làm rẫy, làm các công việc liên quan đến rừng rẫy (lấy măng tre, mật ong, lan rừng, trồng keo, lúa rẫy, mía, mì, bắp, đậu) và có hoạt động ngủ lại nhà rẫy có khi ngắn chỉ 3-5 ngày hoặc dài hơn từ 1 tuần-10 ngày hoặc hơn, chiếm tỷ lệ tại 3 xã trên là 90,1%; 85,9% và 79,7%.

Phân tích dữ liệu trên nhóm người lớn trưởng thành tại mỗi xã Đăk Buk So, Đăk Ngo và Quảng Trục lần lượt là 1176 người (88,55%), 797 (89,55%) và 484 người (81,89%) trong tổng số đối tượng nghiên cứu tại mỗi điểm nghiên cứu. Độ tuổi trung bình trên nhóm người lớn trưởng thành tại 3 xã lần lượt ($39,6 \pm 15,7$), ($36,6 \pm 15,2$) và ($39,2 \pm 15,1$) tuổi, cân nặng trung bình ở đối tượng nghiên cứu người lớn là ($55,0 \pm 8,1$), ($54,8 \pm 7,4$) và ($52,9 \pm 6,2$) kg. Nhiệt độ trung bình của nhóm đối tượng tham gia tại mỗi xã cũng tương đương với ($36,9 \pm 0,1$) $^{\circ}\text{C}$, ($36,9 \pm 0,2$) $^{\circ}\text{C}$ và ($36,9 \pm 0,4$) $^{\circ}\text{C}$. Dữ liệu phân tích trên nhóm trẻ tại mỗi xã Đăk Buk So, Đăk Ngo và Quảng Trục lần lượt là 152 người (88,55%), 93 (89,55%) và 107 người (81,89%) trong tổng số nghiên cứu tại mỗi điểm nghiên cứu.

Độ tuổi trung bình trên nhóm người lớn tại 3 xã lần lượt ($12,4 \pm 1,8$); ($11,9 \pm 1,7$) và ($12,8 \pm 1,9$) tuổi, cân nặng trung bình ở đối tượng nghiên cứu người lớn là ($39,4 \pm 5,6$); ($33,9 \pm 5,7$) và ($39,3 \pm 5,2$) kg. Nhiệt độ trung bình của nhóm đối tượng tham gia tại mỗi xã cũng tương đương với ($36,8 \pm 0,2$)°C, ($36,7 \pm 0,1$)°C và ($36,9 \pm 0,2$)°C. Số liệu này tương đương một số nghiên cứu khác về mặt điều tra dịch tễ học sốt rét, đa phần họ gặp trên các nhóm người lớn, cả nam và nữ, khi có các ổ dịch bùng phát (kể cả dịch do *P. falciparum* hay *P. vivax*) thì cả người lớn và trẻ em cũng đều bị nhiễm và chiếm một tỷ lệ nhiễm KSTSR đồng thời với bố mẹ do chúng đi cùng với gia đình vào nơi có ổ bệnh.

4.1.2. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng *Plasmodium* spp. ở người không triệu chứng

Sau khi đã đánh giá về mặt lâm sàng, đo thân nhiệt và thăm khám triệu chứng để đánh giá các dữ liệu này phù hợp với tiêu chuẩn chọn người không có triệu chứng lâm sàng, đặc biệt là không có sốt tại thời điểm lấy máu xét nghiệm. Nhìn chung, các đối tượng tham gia nghiên cứu đang sống hoặc làm việc lâu dài trong vùng sốt rét lưu hành (SRLH) ở ba xã này, nên ít nhiều họ đã có miễn dịch chống lại sốt rét (dù không miễn dịch có thể bền vững), nên nếu có nhiễm thì cũng không, hoặc ít biểu hiện hoặc biểu hiện triệu chứng thường không nghĩ đến bệnh sốt rét, đặc biệt triệu chứng sốt bị che lấp trên các đối tượng đang có miễn dịch hoặc bán miễn dịch, đây chính là điểm quan trọng trong nghiên cứu này khi đề cập có hay không NMTKTC không biểu hiện triệu chứng trong cộng đồng, nếu có cùng với một tỷ lệ người bệnh sốt rét có triệu chứng trở thành tăng gánh nặng bệnh tật hơn trong cộng đồng và là một thách thức kỹ thuật cho Lộ trình phòng chống và loại trừ sốt rét (LTSR) tại khu vực đó từ nay đến năm 2025 đối với loài *P. falciparum* và vào năm 2030 đối với tất cả loài *Plasmodium* spp theo kế hoạch.

Tất cả đối tượng nghiên cứu được lấy máu đầu ngón tay, xét nghiệm lam máu và test chẩn đoán nhanh (*Pf/Pv* HRP2/pLDH Ag) đồng thời cho thấy tại cả ba xã đều cho kết quả xét nghiệm lam máu chuẩn vàng giêm sa âm tính. Tuy nhiên, khi xét nghiệm với test nhanh thì dương tính với kháng nguyên *Pf*HRP2 tại Quảng Trục là 2 ca (0,34%), xã Đăk Ngo là 2 ca (0,22%) và tại Đăk Buk So là 1 ca (0,08%) trong mùa mưa. Điều này cũng hoàn toàn phù hợp vì xét nghiệm lam máu

nhuộm giêm sa có độ nhạy thấp hơn so với test chẩn đoán nhanh đã sử dụng để phát hiện kháng nguyên *Pf/Pv* HRP2/pLDH khi trên lam máu có ngưỡng mật độ KSTSR thấp trong máu ngoại vi thể hiện qua nhiều nghiên cứu so sánh giữa các xét nghiệm phân tử dựa trên nền PCR (PCR-based assay), test nhanh và giêm sa thì độ nhạy của PCR luôn cao nhất, kể đến là test nhanh và cuối cùng là giêm sa.

Tất cả mẫu máu được bảo quản theo quy trình kỹ thuật chuẩn, bảo quản mẫu và vận chuyển về phân tích tại khoa Sinh học phân tử của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn, xác định tỷ lệ KST *Plasmodium* spp. dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR vào thời điểm giữa mùa mưa và giữa mùa khô.

Tỷ lệ xét nghiệm RT-qPCR dương tính tại ba xã Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So của huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa mưa lần lượt là 12,8% (39/305); 3,6% (16/445) và 1,5% (10/663) và tỷ lệ dương tính chung của 3 xã là 4,6% (65/1413). Trong khi đó, vào thời điểm giữa mùa khô lần lượt là 12,6% (36/286); 3,6% (16/445) và 1,8% (12/665) và tỷ lệ dương tính chung của 3 xã là 4,6% (64/1396). Tỷ lệ dương tính KSTSR *Plasmodium* spp. chung ở giữa hai mùa mưa và mùa khô cùng là 4,6%. So sánh tỷ lệ KSTSR dương tính tại ba xã nghiên cứu của Quảng Trục, Đăk Ngo và Đăk Buk So vào hai thời điểm giữa mùa mưa và giữa mùa khô lần lượt cho thấy không có sự khác biệt không có ý nghĩa về tỷ lệ nhiễm thời điểm giữa mùa khô và mùa mưa lần lượt tại 3 xã là 12,8% và 12,6%; 3,6% và 3,6%; 1,5% và 1,8% và tất cả ca nhiễm này đều xảy ra trên người lớn trưởng thành và nam giới nhiễm cao hơn nữ giới. Tuy sự thay đổi về tỷ lệ giữa hai mùa không có ý nghĩa, nhưng khác biệt có ý nghĩa giữa các vùng lưu hành sốt rét ở vùng nặng (xã Quảng Trục), vừa (xã Đăk Ngo) và nhẹ (xã Đăk Buk So).

Trong số 65 trường hợp nhiễm trùng *P. falciparum* không triệu chứng ở giữa mùa mưa, có 56 ca (86,15%) là nam và 9 ca (13,85%) là nữ. Trong khi đó, vào giữa mùa khô có 64 ca nhiễm *P. falciparum* thì số nam giới chiếm tỷ lệ cao 60 ca (93,76%) và nữ giới là 4 ca (6,24%). Số liệu này tương tự như một số nghiên cứu về điều tra dịch tễ hoặc số liệu báo cáo sốt rét hàng tháng, hàng quý và hàng năm tại các vùng SRLH ở miền Trung-Tây Nguyên thì số nhiễm *P. falciparum* cao hơn so với *P. vivax* trong cơ cấu các loài KSTSR và ngay cả trong các nghiên cứu đánh

giá hiệu lực thuốc, kháng thuốc cũng ghi nhận số bệnh nhân cao hơn ở loài *P. falciparum* và nam giới chiếm ưu thế. Các dữ liệu về ca bệnh dương tính không có triệu chứng lâm sàng trên một lần nữa cho thấy ngoài số ca bệnh sốt rét có KSTSR dương tính có triệu chứng được xác định bằng các công cụ thường quy của Chương trình Quốc gia Phòng chống sốt rét và Tổ chức Y tế thế giới khuyến cáo dùng (lam máu nhuộm giem sa soi dưới kính hiển và test nhanh phát hiện kháng nguyên của KSTSR) đang triển khai tại các cơ sở y tế từ trung ương đến y tế cơ sở, thì vẫn còn một tỷ lệ người mang KSTSR thể vô tính tồn tại được phát hiện bằng các kỹ thuật sinh học phân tử siêu nhạy, có cải tiến như RT-qPCR trong cộng đồng dân đang sống và làm việc tại các vùng SRLH mà trước đó họ đã từng mắc sốt rét với mật độ thấp dưới ngưỡng phát hiện của KHV hoặc không đủ nồng độ kháng nguyên để tạo phản ứng dương tính trên que thử test.

Số liệu về phân tích định loài KST *Plasmodium* spp. trên nhóm có kết quả KSTSR dương tính bằng kỹ thuật RT-qPCR trên hệ thống máy ABI 7500 fast cho thấy trong số 100% số ca dương tính với giống KST *Plasmodium* đều được xác định là loài *P. falciparum* đơn thuần ở tại hai thời điểm giữa mùa mưa và mùa khô. Chưa thấy mẫu dương tính với *P. vivax* hoặc loài khác, hoặc mẫu dương nhiễm phối hợp hoặc mẫu mà chưa xác định được loài.

Điều này phù hợp với cơ cấu KSTSR tại các điểm nghiên cứu tại các tỉnh miền Trung-Tây Nguyên trong thời gian 3 năm gần đây với tỷ lệ *P. falciparum* thường cao hơn *P. vivax*, nhất là tại các vùng trọng điểm về sốt rét và điều này lại càng nguy hiểm hơn do vùng nghiên cứu huyện Cư Jut là vùng đã được xác định kháng thuốc artemisinin và thuốc đi kèm piperazine phosphate. Bên cạnh đó, việc phát hiện thêm bước xác định có hay không tồn tại giao bào *Plasmodium* spp. dựa trên kỹ thuật RT-qPCR để đánh giá nguy cơ lan truyền bệnh sốt rét trong vùng khi còn tồn tại giao bào của *P. falciparum* và cả *P. vivax*.

Nghiên cứu này chỉ ra một tỷ lệ nhỏ nhưng ở đây là vùng có kháng thuốc artemisinine, nếu có thể xác định các điểm nóng có tỷ lệ *P. falciparum* cao, thì có thể có cơ sở hợp lý để tiến hành loại trừ chủ đích tới một khu vực cụ thể. Bên cạnh đó, điều quan trọng khó biết rõ là những vật chủ chứa không biểu hiện triệu chứng

mang cùng một loài KSTSR trong khoảng thời gian bao lâu, vì điều này giúp xác định tác động đối với tỷ lệ mắc mới và tỷ lệ hiện mắc trong vùng lan truyền [18]. Nếu những người có bán miễn dịch này không chứa KSTSR trong một thời gian dài hơn, những “ổ chứa” này phải bị tái nhiễm để duy trì nhiễm bệnh.

Liệu rằng các ca bệnh có mật độ KSTSR thấp như trên chỉ được phát hiện bằng kỹ thuật RT-qPCR khi có điều kiện thuận lợi về muỗi sốt rét *Anopheles* spp. tồn tại thì chúng có thể đóng vai trò như một ổ chứa và nguồn phát tán bệnh sang các hộ gia đình khác trong vùng hoặc ngoài vùng và cũng chính các vấn đề này góp phần thêm vào nhóm các yếu tố thách thức trong lộ trình phòng chống và loại trừ sốt rét tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông nói riêng và miền Trung-Tây Nguyên nói chung, bởi với các công cụ xét nghiệm thường quy hiện dùng ở trên thì không thể bao phủ việc phát hiện, chẩn đoán và quản lý ca bệnh đầy đủ, nên tiếp tục tồn tại mầm bệnh trong cộng đồng và ca bệnh sốt rét tại chỗ vẫn còn đó.

Việc giải thích loài được phát hiện ở 3 xã của huyện Tuy Đức đều là loài *P. falciparum* (100%) và các ca bệnh này đều được điều trị theo phác đồ khuyến cáo quốc gia vì theo định nghĩa thì NMTKTC có KSTSR trên xét nghiệm dựa vào PCR đều được coi là ca bệnh [75]. Đặc biệt, số liệu chưa thấy sự có mặt của *P. vivax* có thể do một số lý do: (i) Trong cơ cấu KSTSR thì tỷ lệ *P. falciparum* thường cao hơn so với *P. vivax* và *P. vivax* thường nhiễm với mật độ thấp so với loài *P. falciparum*; (ii) Điều tra nghiên cứu này đang tiến hành tại vùng có chủng *P. falciparum* kháng thuốc, trong khi *P. vivax* vẫn còn nhạy với thuốc hiện dùng, nên có thể tồn tại các chủng *P. falciparum* kháng và các chủng nhạy của *P. vivax* đã được điều trị triệt căn trước đó; (iii) Trong thực tế, mật độ nhiễm của *P. vivax* trên người thường rất thấp hơn rất nhiều so với *P. falciparum*, nên không thể phát hiện nếu chúng ta thực hiện kể cả sinh học phân tử.

Nghiên cứu của Peipei Li và cộng sự (2014) dùng công cụ nested-PCR phát hiện sốt rét trên mẫu giấy thấm qua để điều tra dịch tễ. Tổng số 1708 người tham gia nghiên cứu cắt ngang và xét nghiệm PCR trên giấy thấm được so sánh với KHV và nested-PCR chuẩn trên 204 mẫu giấy thấm của ca có sốt tại Thái Lan và Myanmar. Số liệu cho thấy kỹ thuật PCR trên giấy thấm có ngưỡng phát hiện ~ 0,2

KST/ μ L máu *P. falciparum*. Với 204 mẫu thực địa, độ nhạy phương pháp có thể so sánh với nested-PCR chuẩn và cao hơn có ý nghĩa với kết quả KHV. Sử dụng kỹ thuật PCR trên mẫu giấy thấm trong một nghiên cứu điều tra cắt ngang tại Thái Lan và Myanmar phát hiện NMTKTC lần lượt là 1,9% (12/638) và 6,2% (66/1.070) so với kết quả KHV chỉ phát hiện 1,3% (8/638) và 0,04% (4/1.070) và kết luận rằng PCR trên mẫu giấy thấm nhạy hơn soi KHV và có độ nhạy cao khi phát hiện NMTKTC, đây là công cụ tiềm năng để điều tra dịch tễ trong tương lai.

Tác giả Seleshi Kebede Mekonnen và cộng sự (2014) so sánh công cụ KHV với nested-PCR trong chẩn đoán *P. falciparum* và *P. vivax* tại phía nam của Ethiopia cho thấy 75% dân Ethiopia có nguy cơ mắc với sự tồn tại hai loài *P. falciparum* và *P. vivax*. Xét nghiệm KHV xác định loài *Plasmodium* spp. trên tổng số 1.416 bệnh nhân có sốt, có 314 ca dương tính *P. falciparum*, *P. vivax* hay nhiễm phối hợp bằng lam máu được kiểm tra lại bằng PCR. Các mẫu máu đầu ngón tay qua phân tích loài *Plasmodium* spp. tại 3 vùng địa lý khác nhau. Tất cả 314 ca dương tính, có 7 ca (2%) âm tính với phương pháp PCR, trong 180 ca dương tính *P. falciparum* bằng KHV thì xác định PCR thấy có 111 (61,7%) ca, còn lại 44 ca (24,4%) nhiễm *P. vivax*, 18 ca (10%) nhiễm phối hợp *P. falciparum* và *P. vivax*, 2 ca (1,1%) nhiễm phối hợp *P. falciparum* với *P. malariae* và 5 ca (2,8%) âm tính. Trong số 131 ca chẩn đoán kính hiển vi là *P. vivax*, thì xác định lại PCR là 110 (84%) nhiễm *P. vivax* đơn thuần, 14 ca (10,7%) nhiễm *P. falciparum*, 2 ca (1,5%) nhiễm *P. malariae*, 3 ca (2,3%) nhiễm phối hợp *P. falciparum* và *P. vivax* và ca (1,5%) âm tính. Số liệu trên cho thấy vai trò của công cụ PCR khắc phục (+) giả, ca nhiễm phối hợp ghi nhận đầy đủ, một số loài phiên giải nhằm cần lưu ý và cải thiện chẩn đoán. Phát hiện số ca (+) giả bằng PCR có thể cung cấp tỷ lệ mắc thật sự trong vùng địa lý và có tác động quan trọng về mặt dịch tễ học.

Nghiên cứu của Hofmann N và cộng sự (2015) sử dụng kỹ thuật phân tử siêu nhạy phát hiện *P. falciparum* phát hiện nhiều bản sao tại vị trí đích subtelomeric nhằm mục đích đưa ra tỷ lệ nhiễm chính xác ở quần thể. Một tỷ lệ lớn NMTKTC được xác định góp phần vào lan truyền bệnh. Các kỹ thuật PCR khác vẫn còn giới

hạn do có quá nhiều trình tự đích trong mẫu DNA, nên việc phát hiện trở nên không hoàn hảo khi mật độ thấp [33].

Tăng độ nhạy chẩn đoán của kỹ thuật PCR định lượng (qPCR) này đáng tin cậy cho cả trường hợp mật độ KST rất thấp và chỉ ra tỷ lệ nhiễm trong cộng đồng của loài *P. falciparum*, XN đạt ngưỡng phát hiện 0,03-0,15 KST/ μ L trong máu và nhạy gấp 10 lần hơn kỹ thuật chuẩn sử dụng đích 18S rRNA qPCR. Điều tra cắt ngang trên quần thể tại Tanzania, 295/498 mẫu dương tính với kỹ thuật siêu nhạy, kính hiển vi bỏ sót 169 ca (57%), phương pháp 18S rRNA qPCR bỏ sót 48 ca (16%), trong đó 40% ca mang giao bào được phát hiện thông qua phương pháp RT-PCR định lượng Pfs25 [33].

Để đưa loại XN phân tử này vào sàng lọc quy mô rộng và lượng mẫu lớn thì cần điều chỉnh sao cho thuận lợi, cả hai XN siêu nhạy này đều có giá trị phát hiện trên mẫu có mật độ cực thấp *P. falciparum* ngay cả dưới ngưỡng phát hiện của phương pháp 18S rRNA qPCR. Tỷ lệ nhiễm tính được trong cộng đồng được xác định rất lớn bởi độ nhạy của công cụ chẩn đoán. Ngay cả khi dùng công cụ chẩn đoán phân tử chuẩn, tỷ lệ nghiên cứu quần thể này vẫn còn ước tính bỏ sót 8% so với kỹ thuật siêu nhạy này, nên chúng có ý nghĩa giúp chẩn đoán, giám sát cộng đồng tốt hơn về bức tranh dịch tễ học sốt rét và kế hoạch can thiệp tốt nhất.

Sau đó, Natalie E Hofmann cùng cộng sự (2018) đánh giá một kỹ thuật sinh học phân tử siêu nhạy so với PCR chuẩn đang dùng trong chương trình LTSR qua điều tra cắt ngang cộng đồng, nhiễm trùng dưới ngưỡng phát hiện KHV là yếu tố góp phần vào lan truyền trong quần thể, nhưng các công cụ hiện nay không đủ đánh giá đầy đủ [51]. Các phương pháp siêu nhạy và lấy mẫu phức tạp có thể tối đa hóa khắc phục các nhược điểm xét nghiệm cổ điển, song khó có thể khả thi áp dụng tại cộng đồng như thường quy được. Quy trình lấy máu 200 μ L trong điều tra cắt ngang tại hai làng lưu hành sốt rét vừa ven biển của tỉnh Madang, Papua New Guinea xét nghiệm PCR siêu nhạy định lượng (us-qPCR) cả thể vô tính và giao bào *P. falciparum* và *P. vivax* so sánh với xét nghiệm chuẩn 18S rRNA qPCR, us-qPCR, test nhanh và test nhanh siêu nhạy phát hiện *P. falciparum*.

Điều tra qua 300 đối tượng từ năm 2016-2017, xét nghiệm qPCR chuẩn phát hiện 87/161 ca *P. falciparum* (54%) và 73/141 ca *P. vivax* (52%) đóng vai trò như một phương pháp tham chiếu. Kết quả đã cho thấy phương pháp us-qPCR xác định thêm 11 ca (7%) *P. falciparum* và 14 ca (10%) *P. vivax*. Tổng số 80/93 ca (86%) nhiễm giao bào *P. falciparum* và 75/82 ca (91%) giao bào *P. vivax* bằng phương pháp us-qPCR. Xét nghiệm test nhanh siêu nhạy cũng đã bỏ sót *P. falciparum* từ các ca đã chẩn đoán qPCR chuẩn, kể cả giao bào cao. Mô hình dịch tễ phù hợp với qPCR chuẩn và phương pháp tham chiếu. Vì tỷ lệ của *P. vivax* giảm theo tuổi, nên tỷ lệ nhiễm *P. vivax* không thể phát hiện bằng qPCR chuẩn.

Hầu hết các vùng có ổ chứa NMTKTC có tiềm năng lan truyền được xác định bằng us-qPCR với mẫu máu đầu ngón tay. Phân tích thể tích máu lớn hơn giúp phát hiện nhiễm *P. falciparum* và *P. vivax* dù mật độ rất thấp không thể lan truyền. Tại Gambia, Joseph Okebe và cộng sự (2015) đã nghiên cứu khả năng diệt giao bào của primaquin trên nhóm NMTKTC cùng với phác đồ DHA-PPQ, các tác giả nhận định việc phát triển các công cụ chẩn đoán nhạy cao giúp làm gián đoạn lan truyền, giảm khả năng kháng thuốc lan rộng và tiến tới LTSR [40]. Nghiên cứu này gồm 4 nhánh, ngẫu nhiên có đối chứng, nhãn mở nhằm xác định và so sánh hiệu quả của 3 liều đơn khác nhau primaquin phối hợp với DHA-PPQ trên nhóm NMTKTC có mang giao bào và có hoạt độ G6PD bình thường.

Tổng số 1200 người đưa vào nghiên cứu và theo dõi 42 ngày với đánh giá ban đầu là tỷ lệ người mang giao bào *P. falciparum* ở ngày thứ 7 theo dõi bằng xét nghiệm phân tử và đánh giá thứ hai là thử nghiệm sinh học xác định tính nhiễm với muỗi. Tại châu Phi, tỷ lệ thiếu G6PD tương đối cao nên ảnh hưởng đến tiềm năng dùng primaquin để giảm lan truyền. Tuy nhiên, sàng lọc G6PD không thể khả thi về chi phí và các khó khăn phiên giải kết quả nguy cơ tán huyết do thuốc PQ điều này còn lệ thuộc vào liều PQ có thể diệt giao bào và ngăn chặn lan truyền là quan trọng để giúp cho cộng đồng an toàn dùng thuốc.

Nghiên cứu của Isaac Ghinai và cộng sự (2017) đánh giá dịch tễ học sốt rét ở Myanmar thông qua đánh giá ổ chứa NMTKTC, đồng thời giáp với vùng kháng thuốc do chủng *P. falciparum* với Campuchia và Thái Lan, nếu muốn loại trừ căn

đánh giá đầy đủ về phương diện dịch tễ toàn bộ thông qua điều tra cắt ngang tại đô thị Phyu, vùng Bago thuộc miền Trung Myanmar [39] trong suốt mùa mưa. Tất cả dữ liệu lâm sàng và hành vi được ghi nhận, lấy giọt máu trên giấy thấm làm PCR và huyết thanh. Các mẫu *P. falciparum* dương tính được phân tích tìm đột biến gen K13 liên quan đến kháng artemisinin. Tỷ lệ huyết thanh và PCR đặc hiệu được phân tích hồi quy xác định các yếu tố nguy cơ dương tính với *P. falciparum*. Kết quả cho thấy trong 1638 người từ 500 hộ, tỷ lệ dương tính PCR thấp (2,5%) và hầu hết không có sốt (93%). *P. falciparum* là loài phổ biến nhất và 5 ca có đột biến gen K13 liên quan đến *P. falciparum* kháng thuốc. *P. knowlesi* cũng được phát hiện (1%) và *P. vivax* là 0,4%. Tỷ lệ huyết thanh dương tính là 9,4% đối với *P. falciparum* và 3,1% với *P. vivax*. Sự đảo nghịch huyết thanh đối với *P. falciparum* là 0,003/năm trong toàn bộ quần thể, nhưng ở nam giới trên 23 tuổi cao nhất. Số liệu cho thấy tình trạng lan truyền tiếp tục, có thể liên quan đến YTNC hành vi trên đối tượng nam giới độ tuổi lao động, đồng thời số liệu về đột biến gen kháng thuốc và sự có mặt loài *P. knowlesi* cho thấy thách thức trong LTSR.

Tadesse FG và cộng sự (2015) đánh giá về NMTKTC nhiễm *P. falciparum* và *P. vivax* không thể phát hiện được bằng lam máu và test nhanh tại vùng SRLH thấp ở Ethiopia [66]. Điều tra ngang tại Malo, Ethiopia trên 555 mẫu máu kiểm tra có *P. falciparum* và *P. vivax* bằng lam máu và test nhanh, nested-PCR. Phân tích các mẫu *P. falciparum* xác định kiểu gen thông qua tính đa hình gen mã hóa protein bề mặt thoi trùng (merozoite surface protein-2_MSP2). Kết quả cho thấy tất cả người tham gia đều không sốt, âm tính với KHV và test nhanh, nhưng nested-PCR lại nhiễm đơn thuần *P. falciparum* 5,2% (29/555), *P. vivax* 4,3% (24/555) và nhiễm phối hợp 0,2% (1/555). Tất cả, ngoại trừ 1 ca nhiễm đơn dòng nhờ vào phân tích kiểu gen MSP-2. Việc phát hiện nhiều ca nhiễm trùng được phát hiện bởi công cụ phân tử mà không thể xác định qua lam máu hay test nhanh là câu hỏi liệu có thể loại trừ thành công sốt rét hay không?

Rupam Tripura và cộng sự (2017) tại Campuchia đánh giá tỷ lệ NMTKTC của 20 làng phía Tây cho biết tỷ lệ *P. falciparum* giảm trong 10 năm qua không song song với giảm tỷ lệ *P. vivax*, không rõ sự lan truyền tại chỗ vẫn tồn tại kéo dài

như thế nào vì các ca NMTKTC vẫn còn tại và lan truyền thông qua nhóm dân di biến động. Áp dụng kỹ thuật phân tử siêu nhạy tại 20 thôn của Battambang, phía tây Campuchia để phát hiện *P. falciparum* và *P. vivax* vào mùa lan truyền [64]. Các dữ liệu dịch tễ và dân số học cũng như mẫu máu tĩnh mạch từ 50 người lớn tình nguyện ngẫu nhiên mỗi làng. Mẫu máu được xét nghiệm *Plasmodium* spp. bằng test nhanh, KHV và PCR siêu nhạy định lượng (uPCR), tiếp đó các mẫu dương được định loài *Plasmodium* spp. Trong 1000 mẫu thì có 91 ca (9,1%) dương tính bằng uPCR, 7 ca (0,7%) dương tính bằng KHV và 2 ca (2%) bằng test nhanh [64]. Tỷ lệ nhiễm *P. vivax* bằng uPCR là 6,6%, *P. falciparum* 0,7% và loài khác (1,8%). Các YTNC đến nhiễm gồm có người trưởng thành, nam giới, tiền sử đi rừng và đã từng mắc sốt rét. Trong số ca được chẩn đoán do y tế thôn bản, 43,9% (297/634) và 38,4% (201/523) trong số các nhóm dân di biến động.

P. vivax xác định bằng uPCR có liên quan ý nghĩa với tỷ lệ mắc mới ca *P. vivax* trong năm 2014-2015 ($p < 0,05$), ngược lại không có mối liên quan trên nhóm nhiễm *P. falciparum* ($p = 0,36$ và $p = 0,59$). Số liệu tỷ lệ nhiễm *Plasmodium* spp. cho thấy không tương xứng về các ổ chứa giữa các thôn điều tra và tỷ lệ sốt rét ở đó. Mối liên quan ở đây cũng biểu hiện nhiễm *P. vivax* cao gấp 9 lần *P. falciparum* và nếu không dùng thuốc primaquin điều trị tịet căn, *P. vivax* tiếp tục lan truyền ngay cả khi *P. falciparum* giảm xuống và dân di biến động liên quan.

Trong một nghiên cứu của Tamirat Gebru và cộng sự (2017) về tuổi thọ của giao bào trên môi trường *in vitro* cho biết các giao bào trưởng thành của *P. falciparum* có thể lưu hành trong máu một vài ngày và có thể lây truyền từ vật chủ người sang muỗi. Dựa trên các phân tích từ các phân lập *P. falciparum* trên thực địa và trong phòng thí nghiệm, sử dụng phương pháp phân tích chẩn đoán phát hiện RT-qPCR, kết quả cho thấy tuổi thọ giao bào cao nhất trên *in vitro* *P. falciparum* (lúc này không có lệ thuộc vào yếu tố vật chủ) đạt đến chỉ gần 16-32 ngày và thời gian này dao động tùy thuộc vào độ nhạy phát hiện của KHV, đếm tế bào dòng chảy hay kỹ thuật RT-qPCR từ khi nuôi cấy giao bào đến khi chết KST cuối cùng với tỷ lệ sống sót trung bình 50% lần lượt là 6,5 ngày, 2,6 ngày và 3,5 ngày tùy theo kỹ thuật phát hiện. Mật độ giao bào đạt cao nhất trung bình 19 ngày kể từ khi

nuôi cấy giao bào trong la bê và sau đó giảm dần và mật độ này khác nhau tùy theo từng chủng *P. falciparum*. Trong khi đó, thời gian tồn tại giao bào *P. falciparum* trong máu ở điều kiện nghiên cứu *in vivo* đánh giá kháng thuốc, sau khi điều trị thuốc ACTs có thể là Arterakin® hay Pyramax® cho thấy thời gian tồn tại giao bào chỉ từ 48-84 giờ theo đánh giá dựa trên lam máu soi dưới KHV (Huỳnh Hồng Quang và cs., 2015).

Hoặc nguyên do thứ hai, có thể mật độ KSTSR rất thấp như thế thì giao bào cũng rất thấp theo tỷ lệ tương ứng vì trên thực tế lâm sàng đã cho thấy số ca có giao bào trên số bệnh nhân nhiễm *P. falciparum* được chẩn đoán bằng KHV cũng rất thấp dù mật độ KST thể vô tính khi đó rất cao và có triệu chứng. Ngược lại, trên những ca nhiễm *P. vivax* đơn thuần (thường mật độ KST thể vô tính thấp hơn so với *P. falciparum*) hoặc nhiễm phối hợp có *P. vivax* thì phần lớn số ca có phát hiện đồng thời cả giao bào *P. vivax*, tuy nhiên trong nghiên cứu này chưa phát hiện trường hợp nào nhiễm *P. vivax* ở dạng NMTKTC.

Qua kết quả trên, có thể thấy vai trò của xét nghiệm RT-qPCR định lượng tại các vùng SRLH khác nhau đang trong chiều hướng giảm số ca sốt rét hoặc biến động và sốt rét dai dẳng ở huyện Cư Jut, tỉnh Đắk Nông rất quan trọng, nếu chỉ dừng lại ở các phương pháp và công cụ xét nghiệm thường quy (giêm sa và test nhanh) đang được khuyến cáo thì chúng ta vẫn còn một tỷ lệ - dù nhỏ nhưng cũng là rào cản về mặt kỹ thuật trong loại trừ sốt rét trong thời gian đến vì NMTKTC còn là ổ chứa tiềm tàng trong cộng đồng và vai trò giá trị của công cụ RT-qPCR là không thể phủ nhận về mặt độ nhạy và độ đặc hiệu cũng như tính chính xác của chúng vì phát hiện các bản sao của chất liệu di truyền RNA hoặc DNA của KSTSR trong máu bệnh nhân.

Hiện nay trong Hướng dẫn Chẩn đoán và Điều trị sốt rét của Bộ Y tế (Bộ Y tế, 2016 và phiên bản mới Bộ Y tế, 2020) [1],[2] nêu ra có 3 phương pháp xét nghiệm chẩn đoán sốt rét gồm “chuẩn vàng” lam máu nhuộm giêm sa, test chẩn đoán nhanh phát hiện kháng nguyên và sinh học phân tử PCR, tuy nhiên phần lớn các cơ sở y tế từ tuyến trung ương (các phòng khám của Viện nghiên cứu, các bệnh viện bệnh nhiệt đới, các bệnh viện tuyến trung ương) đến các cơ sở điều trị tuyến

tỉnh (bệnh viện đa khoa tỉnh, bệnh viện đa khoa khu vực, bệnh viện đa khoa tư nhân), tuyến huyện (bệnh viện đa khoa huyện, trung tâm y tế huyện) và các trạm y tế xã, phòng khám đa khoa khu vực đều áp dụng chủ yếu hai công cụ quan trọng là test nhanh và lam máu nhuộm giêm sa để chẩn đoán và theo dõi diễn tiến điều trị chứ chưa triển khai kỹ thuật khuếch đại chuỗi PCR để phục vụ chẩn đoán mà phần lớn loại xét nghiệm này phục vụ cho các nghiên cứu là chính và ở nghiên cứu này đã áp dụng loại xét nghiệm nhạy hơn PCR thường, nested-PCR, đó là loại RT-qPCR để đánh giá thực trạng nhiễm *Plasmodium* spp. trên nhóm NMTKTC, đánh giá thực trạng nhiễm sốt rét trong bối cảnh các tỉnh đang trong lộ trình loại trừ sốt rét.

Trong 15 năm trở lại đây, ngoài các phương pháp cổ điển để chẩn đoán sốt rét ở người thì các kỹ thuật dựa trên nguyên lý khuếch đại chuỗi hay phản ứng trùng hợp PCR như Nested-PCR, real-time PCR, ultra-PCR, LAMP, ultra-PCR đang được sử dụng ngày càng rộng rãi trong chẩn đoán bởi PCR có khả năng tạo hàng triệu bản sao trong trình tự “gen mục tiêu” thông qua khâu sao chép tổng hợp của DNA trong điều kiện đã được cài đặt sẵn trên *in vitro* với sự có mặt các cặp mồi đặc hiệu. Phương pháp PCR lồng (nested PCR), sản phẩm của phản ứng PCR lần 1 làm khuôn cho phản ứng PCR lần 2. Nested PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu để nhân bản bộ gen của loài *Plasmodium* spp. trong phản ứng PCR lần 1. Sau đó, tiếp tục dùng các cặp mồi đặc hiệu cho *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. knowlesi* trong phản ứng PCR lần thứ 2.

Kỹ thuật này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, có thể phát hiện KSTSR khi ở mật độ rất thấp mà các phương pháp khác khó hoặc không thể phát hiện được và đây được xem là “chuẩn vàng mới” trong sàng lọc và chẩn đoán KSTSR do độ nhạy và độ đặc hiệu rất cao [82]. Real-time PCR có cùng nguyên lý với PCR, cũng là một phản ứng nhân lên các DNA, trình tự đặc hiệu nhưng dùng chất phát huỳnh quang hiện tín hiệu ngay trong bước bắt cặp mồi và kéo dài chuỗi. Do đó, phương pháp này vừa có thể phát hiện KSTSR vừa có thể định lượng KSTSR trong mẫu máu xét nghiệm theo thời gian thực dựa trên mẫu dò. Gần đây, phương pháp ultra PCR hay RT-qPCR dựa trên phát hiện chất liệu di truyền DNA hay RNA ra đời và

phát triển cho các kết quả chính xác và đặc biệt phương pháp định lượng dựa trên thời gian thực (real-time quantitative PCR hay viết tắt là RT-qPCR) nhằm phát hiện số bản sao RNA là mới nhất, giúp phát hiện nhạy hơn và đặc hiệu hơn cả DNA của *Plasmodium* spp. và nghiên cứu này đang thực hiện quy trình đó.

Sốt rét hiện vẫn là một vấn đề y tế công cộng quan trọng tại khu vực Tây Thái Bình Dương và Tiểu vùng Sông Mê Kông [82],[89]. Nổi tiếp thành công trong việc giảm thiểu số ca mắc BNSR 97% và số ca TVSR lên đến 99,8% trong giai đoạn từ năm 1991-2014, Việt Nam đang tiến hành Lộ trình loại trừ sốt rét từ nay đến 2030. Mặc dù, sự xuất hiện của vector tiềm năng, những ca bệnh ngoại lai từ các vùng SRLH trở về và ca bệnh ở giáp biên giới với nước có sốt rét.

Các vấn đề đó đang tạo thêm những trở ngại phức tạp cho kế hoạch LTSR tại Tiểu vùng sông Mê Kông chính là sự xuất hiện loài *P. falciparum* đa kháng thuốc, đặc điểm phức tạp của muỗi sốt rét, lượng lớn dân di cư tự do, quần thể dân cư thường xuyên làm việc và ngủ lại trong rừng, nên nguy cơ mắc sốt rét tái đi tái lại là khó tránh khỏi.

Sự góp phần của những NMTKTC mật độ thấp dưới ngưỡng phát hiện của KHV hoặc test nhanh đối với sự lan truyền sốt rét rất quan trọng, cần được phân tích cụ thể. Những ca nhiễm này thường bị bỏ sót không điều trị, kéo theo những KSTSR mang trong vật chủ đó không phải chịu áp lực chọn lọc thuốc. Điều quan trọng là phải biết được các vật chủ không biểu hiện triệu chứng này có thể chứa KSTSR kháng thuốc tới mức độ nào. Hơn nữa, đòi hỏi phải nắm rõ chi tiết về sự lan truyền của chủng *P. falciparum* kháng artemisinin trong và giữa các cộng đồng tại các vùng có mức độ lan truyền khác nhau để hiểu rõ khả năng KSTSR kháng thuốc lan rộng như thế.

Hơn nữa, vì SR đã giảm trong quần thể, những NMTKTC ở Việt Nam với mật độ KSTSR thấp này tiếp tục duy trì là một nguồn chứa quan trọng cho lan truyền bệnh. Các nhóm người này tạo ra thách thức khó loại trừ vì quá khó để xác định và xử lý triệt để ổ bệnh, đặc biệt là bằng các công cụ chẩn đoán thường quy như KHV và test nhanh. Biện pháp tiếp cận mới cần nghiên cứu giám sát tăng cường có thể hỗ trợ các chương trình PCSR theo đúng tiến độ lộ trình LTSR.

Một nghiên cứu đánh giá trên quần thể NMTKTC là một mối đe dọa nghiêm trọng lan truyền sốt rét trong cộng đồng (Kim A Lindblade và cs., 2014). Các biện pháp PCSR triển khai quy mô lớn đã làm giảm tỷ lệ mắc tử vong đáng kể trên toàn cầu, tuy nhiên đã có bằng chứng rằng các biện pháp can thiệp hiện tại không đủ để LTSR tại các vùng, nên cần xem xét tất cả yếu tố hiện có [41]. Sử dụng thuốc tác động vào đích ổ chứa như một lựa chọn để làm giảm lan truyền giữa người và muỗi. Một tỷ lệ NMTKTC lớn chưa được điều trị đúng đích thông qua các cơ sở y tế đóng vai trò quan trọng trong lan truyền, nên cần có phát hiện và xử lý ổ chứa để loại trừ cả vùng lan truyền từ thấp đến cao.

Lý giải về một số NMTKTC có thể do miễn dịch bán phần có thể làm giảm triệu chứng xuất hiện trên người. Miễn dịch mắc phải từ nhiễm KSTSR trước đó và phát triển nhanh hơn khi có phơi nhiễm, hầu hết trẻ em sống trong vùng SRLH bảo vệ chống lại và giảm đi nguy cơ sốt rét ác tính. Ngược lại, miễn dịch chống KSTSR tăng theo sự trưởng thành của hệ miễn dịch và một phần nào đó không lệ thuộc vào số lần phơi nhiễm trong vùng lan truyền. Một số nghiên cứu chỉ ra vào thời điểm tuổi trưởng thành có miễn dịch, mật độ KSTSR sau nhiễm thường giữ ở mức thấp, hay dưới ngưỡng phát hiện KHV và hầu hết người lớn nhiễm không biểu hiện lâm sàng rõ ràng.

Tuy nhiên, cũng có nhiều vùng NMTKTC có thể xảy ra ở bất cứ lứa tuổi nào. Phát triển miễn dịch chống lại sốt rét trên lâm sàng là đặc hiệu kháng nguyên qua trung gian phơi nhiễm với nhiều quần thể KSTSR khác nhau về mặt di truyền. Bảo vệ chéo có thể do các dòng tương tự về mặt di truyền khác nhau cùng tồn tại. Trong các vùng SRLH cao, người dân thường phơi nhiễm với đa dòng KSTSR, nhanh chóng dẫn đến hình thành miễn dịch và khi nhiễm thường không triệu chứng. Tuy nhiên, tại vùng lan truyền thấp, tỷ lệ nhiễm đa dòng thấp hơn và hình thành miễn dịch chậm hơn. Miễn dịch chống lại *P. vivax* có được nhanh chóng hơn so với *P. falciparum*. Điều tra miễn dịch tại Papua New Guinea, trẻ em từ 5-13 tuổi biểu hiện sốt gấp hơn 21 lần khi nhiễm *P. falciparum* so với *P. vivax*. Các số liệu này phản ánh trung thực vì trên các nhóm trẻ từ 1-4 tuổi gia tăng khả năng giữ mật độ *P. vivax*, nhưng không đối với *P. falciparum* dưới ngưỡng gây sốt.

NMTKTC có thể hiểu rằng rằng có liên quan đến phát hiện thể vô tính và/hoặc thể hữu tính và không có triệu chứng nào của sốt rét trong một thời gian cụ thể. Ngược lại, không có rõ ràng về NMTKTC là ám chỉ nhiễm trùng trong máu và không bao hàm thể ngủ trong gan. Thời gian áp dụng nhiễm trùng không triệu chứng cả trước và sau chẩn đoán khác nhau giữa các nghiên cứu. Một số nghiên cứu xác định NMTKTC khi không có sốt ở thời điểm điều tra, ngược lại một số khác đòi hỏi đến 60 ngày theo dõi không có triệu chứng lâm sàng.

Trong một số ca, sốt chỉ là triệu chứng lâm sàng được xem xét và còn các triệu chứng bệnh không đặc hiệu khác nữa. Khi theo dõi không giám sát được tiến triển các triệu chứng và mối quan tâm là KSTSR trong máu được phát hiện trong thời gian ủ bệnh có thể phân loại sai như một nhiễm trùng không triệu chứng, nhưng thời gian giữa hoàn thành chu kỳ tiềm tàng với cuối thời gian ủ bệnh ngắn (~1 ngày đối với *P. falciparum* và 4 ngày đối với *P. vivax*) điều này có thể xảy ra không thường xuyên. Một số yếu tố liên quan đến NMTKTC, trước hết phải kể đến miễn dịch-yếu tố quan trọng quyết định ca bệnh đó sinh triệu chứng không? Mức độ miễn dịch cá nhân đối với nhiễm trùng được xác định bởi tiền sử phơi nhiễm và tuổi. Miễn dịch tăng dẫn đến cải thiện với sự nhân lên của KSTSR và mật độ KSTSR giảm, nên giảm độ nặng bệnh. Điều tra tại Mozambique, các trẻ em dưới 10 tuổi với mật độ *P. falciparum* (1-499 KST/ μ l) có tỷ lệ sốt là 7,2%, so với 42,1% trong số các trẻ có mật độ ≥ 50.000 KST/ μ l. Tại Brazil, mật độ KSTSR so sánh giữa nhóm có triệu chứng (tuổi 12-78) và nhóm không triệu chứng (tuổi từ 4-56) không có sốt hay có triệu chứng trong 7 ngày trước khi lấy máu ở bệnh nhân nhiễm *P. vivax* và *P. falciparum*; mật độ thể vô tính tìm thấy thấp hơn trên nhóm không có triệu chứng đối với cả hai loài, mặc dù có sự khác biệt lớn hơn ở nhóm nhiễm *P. vivax*. Một vài ca NMTKTC có thể tồn lưu hoặc tái phát sớm sau điều trị.

Tại các vùng lan truyền thấp ở Sudan, có một tỷ lệ NMTKTC cao hơn vào mùa lan truyền từ tháng 9-12 thông qua xét nghiệm PCR so với các giai đoạn khác (35% so với 8%) dù đã được điều trị thuốc đầy đủ. Điều này có thể do KSTSR kháng thuốc nên tồn tại mật độ thấp sau điều trị. Đồng nhiễm có thể ảnh hưởng lên sự hình thành các triệu chứng bởi sự thay đổi miễn dịch và sự đồng nhiễm tác nhân

ký sinh trùng khác. Ngưỡng phát hiện của KHV ước tính có thể 4-20 KST/ μ l tại la-bô chuẩn, nhưng thực tế thường thấy 50-100 KST/ μ l ở điều kiện thực địa. Một test nhanh cho thấy có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn 90% đối với *P. falciparum* ở ngưỡng mật độ ≥ 200 KST/ μ l nhưng có thể không phát hiện nhiễm trùng ở mật độ thấp hơn. PCR được coi là xét nghiệm chuẩn vàng nếu mật độ thấp khoảng 0,02 KST/ μ l với quy trình thực hiện nhạy nhất.

Tỷ lệ NMTKTC có khác nhau giữa các loài *Plasmodium* spp. Tất cả loài có thể gây nhiễm không biểu hiện triệu chứng, nhưng vì *P. falciparum* và *P. vivax* lưu hành phổ biến trên toàn cầu nên NMTKTC nhiều hơn so với các loài khác. NMTKTC với loài *P. ovale* rất hiếm nhưng đáng chú ý, ngược lại loài *P. malariae* được biết tồn tại trong máu có thể không sinh hoặc sinh triệu chứng nhẹ. Bệnh nhân nhiễm *P. vivax* hình thành miễn dịch nhanh hơn so với *P. falciparum* và do đó có thể kiểm soát mật độ KSTSR ở mức độ cao hơn. So sánh tỷ lệ triệu chứng giữa các ca nhiễm *P. falciparum* với *P. vivax* tại các vùng có cả hai loài vẫn còn đang tranh luận. Soi KHV thấy tỷ lệ *P. falciparum* (37,5%) so với *P. vivax* (18,5%) tại Brazil không biểu hiện triệu chứng. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy tại vùng SRLH nặng Solomon thấy tỷ lệ *P. vivax* (97,1%) cao hơn so với *P. falciparum* (82,2%) không biểu hiện triệu chứng sốt. Tại Campuchia, 92% số ca nhiễm *P. falciparum* và 83% ca nhiễm *P. vivax* không có triệu chứng.

Điều quan trọng là NMTKTC có thể chuyển thành có triệu chứng. Nghiên cứu tại Brazil, 93 ca NMTKTC, trong đó có 33 người tuổi từ 5 trở lên được theo dõi đến 2 tháng sau nhiễm và 7 ca (10,7%) trở nên có triệu chứng. Một nghiên cứu NMTKTC với các trẻ em Tanzania tuổi từ 1-5 theo dõi sau 31 ngày, 55,9% (19/34) trẻ xuất hiện sốt, điều này có liên quan đến mật độ. Nghiên cứu tiến cứu về nguy cơ chuyển NMTKTC thành có triệu chứng ở các vùng lan truyền cao tại Tanzania với 265 ca không triệu chứng tuổi từ 1-84 qua 40 tuần và thấy 21 ca (7,9%) ca có sốt kèm theo mật độ KSTSR > 400 KST/ μ l. NMTKTC có thể ít có khả năng chuyển thành có triệu chứng hơn các ca có thể phát hiện KSTSR dưới KHV. Tại Uganda, 25/63 ca (39%) trẻ em từ 6 tháng đến 5 tuổi nhiễm trùng tiềm ẩn không triệu chứng thành có triệu chứng trong 20 tuần theo dõi so với 43/53 (82%) trẻ em nhiễm có

triệu chứng rõ ràng. Điều này cho thấy SR mật độ thấp có thể tồn tại dài mà không sinh ra triệu chứng.

Hiện chưa rõ yếu tố nào thúc đẩy dẫn đến có triệu chứng trên các bệnh nhân đó. Người ta cũng đưa ra ý tưởng tái nhiễm có thể thúc đẩy tăng mật độ và hình thành triệu chứng, nhưng các nghiên cứu khác chỉ ra triệu chứng có thể xuất hiện mà không có thay đổi nhiễm đa dòng.

Sự tồn tại NMTKTC có thể kéo dài thời gian bao lâu cũng quan trọng. Y văn cho thấy các quân nhân trở về từ các vùng SRLH đã kéo dài nhiễm trùng này đến 13 tháng với *P. falciparum*. Tiếp cận mô hình thống kê phối hợp với các kỹ thuật phân tử nhạy trong nghiên cứu thuần tập các nhóm tuổi ở Ghana với vùng có lan truyền *P. falciparum* cao, ước tính số NMTKTC có thời gian trung bình kéo dài đến 194 ngày. Tại các vùng có lan truyền theo mùa, NMTKTC mật độ thấp được coi tồn tại xuyên qua thời gian cả mùa khô và đến mùa mưa khi quần thể muỗi tăng theo môi trường ẩm ướt trở lại. *P. malariae* được coi là tồn tại KST có thể lên đến vài thập niên trên người.

4.1.3. Xác định có mặt giao bào *P. falciparum* trong các mẫu dương tính

Giao bào dù không có vai trò trực tiếp gây bệnh trong sốt rét, song có vai trò giúp lan truyền bệnh khi trong vùng mà bệnh nhân đang mang thể giao bào có muỗi sốt rét *Anopheles* spp. có thể làm lan truyền thông qua muỗi đốt từ người bệnh sang người lành. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ người mang giao vào tại thời điểm điều tra giữa mùa mưa và mùa khô cho thấy vào thời điểm giữa mùa mưa ở xã Quảng Trục có 2 ca (0,66%) có giao bào *P. falciparum* trên các ca có KST *P. falciparum* dương tính và tại xã Đăk Ngo có 1 ca (0,22%), còn xã Đăk Buk So thì không có giao bào. Trong thời điểm mùa khô thì không có xã nào phát hiện giao bào *Plasmodium* spp.

Giao bào không gây nên triệu chứng bệnh và người không có triệu chứng có thể hoặc không thể phát hiện giao bào. Mối liên quan giữa mật độ thể vô tính và giao bào rõ ràng, các giao bào có thể còn tồn tại một thời gian trong máu ngoại vi đến vài vài tuần sau khi thể vô tính được làm sạch.

Một thử nghiệm đã chỉ ra giao bào có thể tồn tại trung bình đến 55 ngày sau điều trị thuốc không phải ACTs và 13,4 ngày sau dung thuốc ACTs [35]. Một số

nghiên cứu chỉ ra hiện diện giao bào *P. falciparum* có liên quan đến không triệu chứng và mật độ KSTSR thể vô tính thấp [71]. Trong khi một số thuốc SR có thể kích thích sinh giao bào, mối liên quan này được phát hiện ngay cả điều trị hay không điều trị, điều này có thể tăng do xuất hiện đồng thời tự nhiên giữa việc chữa khỏi và chậm sinh giao bào *P. falciparum*. Tại biên giới Thái Lan, các ca *P. falciparum* không có sốt và mật độ thấp không lệ thuộc hay không liên quan đến việc tăng giao bào. Các nhà nghiên cứu ở Gambia đánh giá trên các trẻ em nhiễm *P. falciparum* dùng thuốc SR thấy không có sốt tại thời điểm vào nghiên cứu có nguy cơ giao bào trong máu đến 67% và mật độ thể vô tính thấp (<100.000 KST/ μ l) tăng nguy cơ 5 lần. Tương tự, trên trẻ em mắc *P. falciparum* tại Nigeria, không có sốt liên quan đến tăng 61% giao bào trong máu và mật độ thể vô tính < 5.000 KST/ μ l.

Khi tăng lượng giao bào *P. falciparum* từ thể vô tính, thì có một mối tương quan thuận giữa mật độ thể vô tính và giao bào, dẫn đến mối liên quan giữa mật độ thấp với NMTKTC và mật độ giao bào cũng thấp. Tuy nhiên, cũng có thể các yếu tố viêm và miễn dịch không đặc hiệu liên quan đến nhiễm trùng có triệu chứng có thể gây tác động nghịch trên quá trình sinh giao bào, dẫn đến mật độ giao bào tăng cao hơn trên các NMTKTC. Tại Brazil, người mang giao bào *P. vivax* không triệu chứng có mật độ giao bào thấp hơn so với nhóm có triệu chứng đo bằng PCR. Tuy nhiên, tại Kenya, người mang giao bào *P. falciparum* không triệu chứng có mật độ giao bào lại cao hơn, nhưng mật độ thể vô tính lại thấp hơn so với nhóm có triệu chứng. Sự mâu thuẫn này có thể suy luận sự khác nhau về mặt sinh học của *P. falciparum* và *P. vivax* và vẫn còn đang tiếp tục nghiên cứu.

NMTKTC có thể góp phần gây lan truyền vì nếu tồn tại đủ hoàn thành chu kỳ thì vẫn sinh giao bào, dù mật độ thấp và giao bào là một yếu tố quan trọng để muỗi có phát triển nhiễm trùng từ một lần chích máu. Phân tích 930 thí nghiệm lan truyền cho thấy có mối liên quan tuyến tính thuận giữa mật độ giao bào với tỷ lệ nhiễm trong muỗi. Điều này chỉ ra nếu nhiễm trùng không triệu chứng có liên quan đến mật độ giao bào thấp, thì các NMTKTC ít có khả năng dẫn đến nhiễm trùng trên muỗi. Nghiên cứu tại Brazil năm chỉ ra khả năng phát triển và tồn tại độc lập

với sự góp phần NMTKTC vào lan truyền, 1,2% muỗi hút máu NMTKTC so với 22% số muỗi hút máu ở NMTKTC phát triển thành nang trứng trong ruột muỗi. Các kỹ thuật cho muỗi ăn máu khác nhau trên 2 quần thể có thể ảnh hưởng lên so sánh nhưng nó có thể có mật độ giao bào thấp hơn trên NMTKTC.

Nhiều yếu tố liên quan đến sự có mặt triệu chứng làm thay đổi tính nhiễm trên muỗi. Tại Kenya, tỷ lệ muỗi nhỏ hơn có ý nghĩa hút máu từ các bệnh nhân có triệu chứng (0,6%) đã phát triển thành nang trứng hơn nhóm đã hút máu từ người không có triệu chứng, dù trên các ca có triệu chứng thì mật độ thể vô tính cao hơn nhưng mật độ giao bào thấp hơn các NMTKTC, các tác giả kết luận rằng sự phát triển các nang trứng trong muỗi tăng khi hút máu trên các NMTKTC không chỉ đơn thuần do mật độ giao bào cao mà còn tăng tính nhiễm của các giao bào này. Sự gia tăng chất lượng của giao bào này được thừa nhận bởi các tác giả khác, ngoài ra còn do các yếu tố khác như giai đoạn phát triển giao bào (đối với *P. falciparum*, triệu chứng có thể xảy ra sớm hơn khi giao bào không thể đạt đến mức độ trưởng thành để đủ gây nhiễm - một đặc tính vốn có của KSTSR, một tác động lên triệu chứng (đáp ứng sốt có thể ảnh hưởng lên tính nhiễm giao bào), hoặc đặc hiệu hơn với đáp ứng miễn dịch vật chủ như kháng thể làm giảm lan truyền bệnh. Liên quan giữa cường độ lan truyền với tỷ lệ NMTKTC đã được nghiên cứu: Tại vùng lan truyền thấp, tỷ lệ người nhiễm có triệu chứng thấp hơn ở vùng lan truyền cao vì mức độ miễn dịch của quần thể giảm.

Dữ liệu cho biết có sự gia tăng tỷ lệ ổ chứa KSTSR không triệu chứng làm tăng lan truyền. Nghiên cứu phân tử cho kết quả tỷ lệ NMTKTC cao, nhưng cũng đồng thời xác định người mang KSTSR phát hiện trên KHV cũng chỉ có 80% số ca có biểu hiện triệu chứng thôi. Phân tích 7 nghiên cứu chỉ ra 73-98% số NMTKTC là *P. falciparum* và 5 nghiên cứu cho thấy 64-100% số NMTKTC là *P. vivax*, nghĩa là miễn dịch có ảnh hưởng lên sự biểu hiện triệu chứng hay không.

Nghiên cứu tại Brazil, phát hiện ca bệnh chủ động và thụ động trong thời gian 14 tháng để xác định các ca mắc mới cho thấy có 96/326 (29,4%) ca được xác định là NMTKTC và ghi nhận không có mối liên quan giữa cường độ lan truyền với tỷ lệ NMTKTC, thông qua xét nghiệm PCR trên các đối tượng không triệu chứng với

cường độ lan truyền trong 34 nghiên cứu khác nhau tại 38 vùng sốt rét lưu hành gồm châu Mỹ Latinh ($n = 9$), châu Á ($n = 10$) và châu Phi ($n = 19$). Điều tra cắt ngang dựa vào quần thể, xác định ca bệnh bằng PCR. Nhóm tuổi khác nhau nhưng có mối liên quan thuận giữa cường độ lan truyền và tỷ lệ NMTKTC.

Một nghiên cứu cắt ngang dựa vào cộng đồng được tiến hành tại quận Debre Elias, vùng Ahara, Tây Bắc của Ethiopia với kỹ thuật lấy mẫu đa tầng đại diện hộ gia đình [17]. Tổng số 440 mẫu lấy ngẫu nhiên từ các hộ gia đình, trong đó mỗi hộ một người được xét nghiệm. Tỷ lệ mắc sốt rét được tính bằng kết quả KHV hoặc test nhanh CareStart™ PfHRP2/pLDH (Pf/Pv) Combo test. Một bộ câu hỏi cấu trúc được áp dụng để thu thập dữ liệu dân số xã hội học và các yếu tố nguy cơ. Mối liên quan giữa các biến phụ thuộc và độc lập được đưa vào phân tích hồi quy nhị biến và đa biến. Tỷ lệ sốt rét có triệu chứng và không triệu chứng và một số yếu tố liên quan chỉ ra qua 440 ca (333 ca không triệu chứng và 107 ca triệu chứng), tỷ lệ mắc chung là 5%, phần lớn là nhiễm *P. falciparum* (59,1%). Trong số các ca nhiễm không triệu chứng có tỷ lệ dương tính lần lượt 4,8% ($n=16$; 95%CI = 2,6-7,3) và 4,2% ($n=14$; 95%CI = 2,1-6,5) bằng xét nghiệm RDT và lam máu. Tương tự, tỷ lệ mắc sốt rét trong số 107 ca có triệu chứng là 7,5% ($n=8$; 95%CI = 2,8-12,6) bằng hoặc test nhanh hoặc lam máu. Sử dụng màn tẩm hóa chất, tính sẵn có màn tẩm hóa chất, nhà có máu hiên, tiền sử sốt rét, tiền sử trong gia đình có sốt rét có liên quan ý nghĩa đến mắc sốt rét ($p < 0,05$).

Một phân tích độ chính xác của các phương pháp chẩn đoán sốt rét không triệu chứng hay NMTKTC tại các nước châu Á (Cho Naing và cs., 2022) của test nhanh và lam máu. Chất lượng của phương pháp được đánh giá qua hệ thống công cụ QUADAS-2 và thẩm định lại độ chính xác đó bằng kỹ thuật PCR [25]. Độ nhạy của test nhanh cũng như KHV để phát hiện NMTKTC nhìn chung thấp, trong khi độ đặc hiệu là cao. Đối với *P. falciparum*, độ nhạy của test nhanh trên NMTKTC chỉ 59%, (95%CI:16-91%) hoặc bằng KHV là 55% (95%CI:25-82%), trong khi đối với *P. vivax*, độ nhạy của test nhanh là 51% (95%CI:7-94%) và của KHV là 54% (95%CI:11-92%). Dữ liệu trên cho thấy cả test nhanh và KHV đều có độ nhạy hạn chế và không phù hợp để chẩn đoán NMTKTC. Các phương pháp khác như PCR,

LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) phải được xem xét để tiếp cận chẩn đoán trong bối cảnh đẩy nhanh tiến độ LTSR. Tuy nhiên, cần có nhiều dữ liệu hơn nữa để cho phép khoảng chấp nhận và tính khả thi áp dụng của các phương pháp này để cho độ chính xác cao [25].

Trẻ em nhiễm sốt rét không triệu chứng được coi là một “nguy cơ tiềm ẩn” cho chiến lược phòng chống theo nghiên cứu của Đại học Y học nhiệt đới và Vệ sinh Luân Đôn, Đại học Y Raboud và California tại San Francisco điều tra cho biết tại Uganda, tập trung trên nhóm tuổi trẻ em trong độ tuổi đi học, nhằm bao phủ các can thiệp PCSR tốt hơn tại đây, đặc biệt là tiếp cận vào đích của ổ bệnh trong cộng đồng. Hơn nữa đây là nguồn bệnh lớn nhất tại các vùng có miễn dịch sốt rét cao do nhiễm liên tục trong vùng SRLH, gián đoạn quá trình lan truyền sốt rét thành công cũng cần phải làm sạch lượng KSTSR trong vật chủ người và ngăn chặn kháng thuốc song song với các công cụ khác như phòng chống vector, điều trị tiết căn ca bệnh. Nhóm nghiên cứu đã tìm thấy NMTKTC song song với nhóm có triệu chứng, nhóm trẻ trong độ tuổi đi học từ 5-15 tuổi chiếm 59%, nhóm dưới 5 tuổi là 26% và nhóm trên 16 tuổi là 16% và số liệu trên góp phần vào các khó khăn thách thức trong lộ trình LTSR tại Uganda cần quan tâm và can thiệp giảm nguy cơ, giảm lan truyền và duy trì vững các yếu tố, tránh tái bùng phát và sốt rét quay trở lại khi các biện pháp can thiệp giảm đi và quần thể muỗi làm lan truyền bệnh.

Một khía cạnh khác khi tìm hiểu tình trạng NMTKTC với hồ sơ phân tử, miễn dịch lâm sàng và ức chế miễn dịch trên các ca nhiễm *P. falciparum* trong cộng đồng các vùng SRLH (Stephanie I và cộng sự, 2022) vì từ lâu các nghiên cứu hiếm khi đề cập đến vấn đề này vì khi mang trong cơ thể KST luôn tạo ra miễn dịch thấp hay cao, nên hiếm khi có triệu chứng điển hình của sốt rét, nên không được phát hiện và điều trị tiết căn [62]. Để xác định xem tác động của NMTKTC, các nhà nghiên cứu đưa ra một hướng tiếp cận lồng ghép xem xét đáp ứng của kháng thể, động lực tế bào và hồ sơ dịch mã đồng thời trên các bệnh nhân *P. falciparum* có triệu chứng hay không có triệu chứng, đồng thời xem xét cả sai số do tế bào Th2 và tế bào B nhớ liệu có liên quan đến triệu chứng trên lâm sàng. Dù các đáp ứng bảo vệ này là có, song sốt rét không triệu chứng là một tín hiệu ức chế miễn dịch với

con đường điều hòa ngược lên chức năng tế bào T và CTLA-4 và các tác giả đã tìm thấy vai trò của tế bào CTLA-4 trong mô hình của NMTKTC thường do mật độ thấp nên tiến trình sinh miễn dịch đầy đủ và hiệu quả.

Tại các vùng lan truyền cao, tỷ lệ quần thể nhiễm có xu hướng giảm theo tuổi, ngược lại tỷ lệ NMTKTC tăng theo tuổi do miễn dịch mắc phải và sự hoàn chỉnh của hệ miễn dịch. Việc can thiệp vào nhóm đích NMTKTC hay không hiện nay chưa có ý kiến thống nhất dùng thuốc trên ổ chứa này, song không phải ở cơ sở y tế, hay quản lý ca bệnh cộng đồng [62]. Một số tiếp cận đích với thuốc đến các ổ chứa bệnh nhân không biểu hiện triệu chứng bằng hình thức chỉ định điều trị hàng loạt (Mass Drug Administration - MDA), tiếp cận thứ hai là sàng lọc tất cả cộng đồng bằng xét nghiệm và chỉ điều trị ca nào có nhiễm KTSR (Mass Screen and Treat-MSaT) hay còn gọi là phát hiện ca bệnh tích cực hơn và tiếp cận thứ ba là điều trị lặp lại trên các nhóm người có nguy cơ cao mà không cần XN hay điều trị hóa dự phòng từng đợt. Ngược với mục tiêu hai tiếp cận đầu tiên là làm giảm lan truyền, thì điều trị từng đợt được coi làm giảm gánh nặng và hậu quả liên quan trên nhóm nguy cơ, dù về mặt lý thuyết có thể tác động lên lan truyền và giảm ổ chứa từ nhóm nguy cơ cao rất có ý nghĩa [60],[62] và các tiếp cận này tùy thuộc vào điểm nóng lan truyền của bệnh sốt rét.

Tiếp cận và tận dụng dữ liệu NMTKTC có thể làm giảm lan truyền bệnh hay không hiện vẫn còn nhiều nghiên cứu thử nghiệm hoặc thí điểm? Một số mô hình nghiên cứu đã chỉ ra tiếp cận đích ổ chứa ký sinh trùng không triệu chứng bằng MSaT hoặc MDA cho kết quả giảm lan truyền. Griffn và cộng sự tìm thấy giảm tỷ lệ mắc từ 5-12% ở vùng lan truyền từ thấp đến vừa qua chương trình can thiệp 15 năm. Tại các vùng lan truyền cao, mô hình MSaT đơn thuần cho kết quả giảm lan truyền rõ rệt. Sử dụng mô hình tương tự, kiểm tra tác động của MDA và MSaT về độ bao phủ, thuốc lựa chọn, thời gian và độ nhạy của kỹ thuật sàng lọc cho thấy MDA cải thiện đáng kể LTSR [36] tại các vùng lan truyền quy mô nhỏ hơn. Tại các vùng lan truyền vừa, áp dụng MDA một đợt không có hiệu quả kéo dài nhưng thực hiện lặp lại có thể làm giảm lan truyền.

Các tác giả chỉ ra vùng lan truyền cao hơn với MsaT áp dụng giêm sa ít có tác động hơn MDA, nhưng quan tâm đến thông tin về tính nhiễm của ổ bệnh như thế vẫn còn giới hạn. Tác động được đánh giá là vừa phải và kéo dài chỉ vài tháng. Một thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng giả dược MDA tại Gambia, châu Phi năm 1999 cho thấy áp dụng một vòng MDA với thuốc sốt rét liều duy nhất artesunate cho kết quả giảm tỷ lệ mắc mới không bền vững qua 20 tuần theo dõi, nhưng sau đó có thể tăng lại [31].

Tại Việt Nam, số nghiên cứu về NMTKTC còn hạn hữu, chỉ có một nghiên cứu đa trung tâm tại các nước Đông Nam Á (Imwwong và cs., 2015) cho thấy các vùng SRLH nặng, vừa và nhẹ của tỉnh Bình Phước có tỷ lệ NMTKTC lần lượt 14,6%; 9% và 4,6% hoặc nghiên cứu của Huỳnh Hồng Quang và cộng sự (2016) [61] tiến hành tại 3 tỉnh đang tiến tới LTSR của Quảng Ngãi, Đà Nẵng và Thừa Thiên Huế cho tỷ lệ NMTKTC chung các vùng lan truyền chỉ 2% thông qua nested PCR [39]. Nhìn chung, những người nhiễm sốt rét lặp đi lặp lại qua thời gian theo dõi có thay đổi vì mức độ miễn dịch quần thể trong vùng bệnh lưu hành khác nhau. NMTKTC là nhiễm trùng “thầm lặng” nếu không điều trị, dễ dẫn đến nhiễm trùng mạn tính và kéo dài. NMTKTC có thể liên quan đến người mang giao bào lớn hơn, mặc dù cũng có mật độ giao bào thấp trên những cá nhân đó và có thể tự chúng mất đi thì làm thay đổi tính nhiễm [37],[38]. Tuy nhiên, tỷ lệ muỗi nhiễm tăng lên từ hậu quả ổ chứa của NMTKTC có thể cao do phối hợp với các cá nhân nhiễm có triệu chứng trong cùng quần thể đó. Tại vùng lưu hành thấp, NMTKTC góp phần vào khâu lan truyền tiềm ẩn trong vùng lan truyền, đặc biệt khi có lan truyền theo mùa thì nhóm NMTKTC đóng vai trò như một nguồn nhiễm cho một thế hệ muỗi mới sau khi bắt đầu vào mùa mưa. Hơn nữa, nguồn NMTKTC có thể nằm yên hoặc thay đổi theo chiều hướng tăng lên khi cơ thể suy giảm sức khỏe? Nên điều trị nhóm NMTKTC này không? [26],[45] hay không Tiếp cận nhóm NMTKTC nhằm tác động để giảm lan truyền để nhanh loại bỏ ổ chứa quan trọng và kỹ thuật sinh học phân tử giúp phát hiện NMTKTC tại vùng lan truyền.

Sự góp phần của NMTKTC và có triệu chứng góp phần như thế nào vào lan truyền vẫn còn chưa thấu đáo, đặc biệt chúng đóng vai trò nhiễm trùng tiềm tàng

không có triệu chứng ở cả vùng lan truyền thấp và cao, vì tỷ lệ ổ chứa không triệu chứng này cần xác định để can thiệp hiệu quả nhất [37]. Điều cần thiết là đánh giá cẩn thận chi phí-hiệu quả của các tiếp cận khác nhau để tác động trúng đích ổ chứa này. Các thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng dựa trên cộng đồng tại các vùng khác nhau với mức độ lan truyền *P. falciparum* và *P. vivax* khác nhau cần thực hiện trong lộ trình tiến tới LTSR.

Nghiên cứu tại Savannakhet (Lào) của Tiengkham Pongvongsa (2018) về đánh giá động lực lan truyền của nhiễm *P. falciparum* không triệu chứng và áp dụng điều trị hàng loạt bằng dihydroartemisinin-piperaquin và liều thấp primaquin [63]. Một loạt tiếp cận đan xen đảm bảo PCSR gồm màn tẩm hóa chất, chẩn đoán sớm, điều trị kịp thời. Mục tiêu chính là đánh giá hiệu quả và tính an toàn của MDA lên trên nhóm người mang *P. falciparum* không biểu hiện triệu chứng tại 4 làng có SRLH. Hai làng được chọn ngẫu nhiên cho MDA gồm 3 vòng với liệu trình thuốc, sau đó theo dõi 1 năm. Tổng số 1.036 người được đưa vào áp dụng với làng có dùng MDA sớm và 883 trong làng nhóm chứng (không MDA). Điều tra KSTSR mỗi 3 tháng bằng kỹ thuật uPCR tại 4 làng này. Số liệu cho thấy 84% (872/1036) dân tham gia nhóm MDA thì có 90% (781/872) hoàn tất 3 vòng MDA (9 liều). Tại các làng can thiệp MDA, tỷ lệ NMTKTC *P. falciparum* giảm từ 4,8% xuống còn 0,7% sau 12 tháng. Trong khi đó nhóm chứng giảm từ 17,5% xuống 11,6%. Phân tích nhị biến và đa biến về nhiễm trùng *P. falciparum* thấy giảm có ý nghĩa khi dùng MDA sớm và hoàn tất 3 vòng liệu trình MDA.

Một nghiên cứu của Melanie Bannister-Tyrrell (2018) về dịch tễ học phân tử NMTKTC tại tỉnh Ratanakiri, Campuchia với các yếu tố nguy cơ [34]. Điều tra cắt ngang mô tả tỷ lệ nhiễm *Plasmodium* spp. tại 3 làng. Phân tích hồi quy giữa nhiễm *Plasmodium* spp. với các yếu tố dùng màn, tần suất làm việc ở ngoài nông trại ban đêm ở người lớn, người già và trẻ em. Các YTNC khác như chất liệu tường vách, mùa vụ, thiết bị bắt sóng vệ tinh, máy móc phục vụ nông trang. Các YTNC không giải thích được sự khác biệt nhiễm trùng *Plasmodium* spp. giữa các làng mà chỉ cho thấy có sự lan truyền từng giai đoạn trong vùng mà các dân đi rừng và dân di biến động và cần phải can thiệp trên nhóm dân này.

Nghiên cứu của Gretchen Newby và cộng sự (2015) xem xét về MDA áp dụng trên nhóm NMTKTC là chỉ định dùng thuốc điều trị cho toàn quần thể tại cùng thời điểm làm thế nào giảm lan truyền. Tổng hợp y văn các nghiên cứu đa trung tâm nhằm đánh giá tác động thuốc MDA trên tỷ lệ nhiễm KST trong quần thể, tỷ lệ mắc mới và người mang giao bào từ việc áp dụng MDA [31]. Một số thử nghiệm ngẫu nhiên chùm và không ngẫu nhiên có đối chứng so sánh MDA với nhóm dùng giả dược, hoặc không dùng MDA và nghiên cứu không đối chứng trước và sau nghiên cứu MDA với các dữ liệu ban đầu. Tổng số 2 thử nghiệm ngẫu nhiên chùm, 8 nghiên cứu không ngẫu nhiên có đối chứng và 22 nghiên cứu không đối chứng. Tổng số có 22 nghiên cứu (29 so sánh) so sánh MDA với giả dược hoặc không can thiệp trong 2 so sánh tại vùng SRLH thấp ($\leq 5\%$), 12 trong vùng lưu hành vừa (6-39%) và 15 trong vùng SRLH cao ($\geq 40\%$), có 10 nghiên cứu đánh giá MDA với các biện pháp phòng chống vector khác. Nghiên cứu đã dùng các thuốc, thời gian và liều dùng, số lần MDA khác nhau. Nhìn chung, MDA về cơ bản làm giảm nguy cơ nhiễm trong máu, song một số nghiên cứu cho thấy tác động bền vững sau 6 tháng can thiệp MDA và các kết quả đó thực hiện tại các đảo nhỏ và vùng cao nguyên. Để đánh giá liệu MDA có tác động lên sự lan truyền trong một thời gian dài hay không thì cần nghiên cứu thêm.

Trong Chiến lược Kỹ thuật sốt rét toàn cầu (2016-2030) của TCYTTG cần chuyển đổi giám sát thành một hoạt động can thiệp cốt lõi và việc giám sát nhằm cung cấp thông tin để định hướng các biện pháp can thiệp và giúp các nhà hoạch định chính sách quản lý hiệu quả hơn thông qua bằng chứng hữu ích và kịp thời. Song song với các khó khăn kỹ thuật khác như muỗi kháng hóa chất, sự phục hồi vector, thay đổi tập tính đốt người, KSTSR kháng thuốc, thì một tỷ lệ NMTKTC như trên còn “tiềm ẩn” trong cộng đồng, vì không được phát hiện và điều trị nên chúng thành ổ chứa cơ hội lây truyền bệnh khi được muỗi đốt. Sự góp phần của NMTKTC mật độ thấp dưới ngưỡng phát hiện KHV hoặc RDTs đối với sự lan truyền rất quan trọng ở những vùng có số ca đang giảm thấp thì càng có nguy cơ quay trở lại, các ca nhiễm này thường không được điều trị, kéo theo dẫn đến việc

những KSTSR mang trong vật chủ đó không phải chịu áp lực thuốc chọn lọc, kể cả mang chủng kháng thuốc, đặc biệt là *P. falciparum*.

Hơn nữa, NMTKTC tạo ra thách thức cho LTSR vì quá khó để xác định và xử lý triệt để ổ bệnh, bất kể mức độ lan truyền nào, đặc biệt là bằng các công cụ chẩn đoán thường quy hiện nay. NMTKTC đóng vai trò quan trọng trong lan truyền, nên cần có phát hiện và xử lý ổ chứa là rất quan trọng để loại trừ cả vùng lan truyền thấp và cao [52]. Dù sao đi nữa, dưới áp lực của thuốc điều trị một thời gian qua, diện rộng dẫn đến áp lực thuốc trên quần thể *Plasmodium* spp. có thể dẫn đến đột biến và giá trị test nhanh có bị sai sót, hoặc kinh nghiệm một số cán bộ mới về KHV, thay đổi đột biến gen mất đoạn gen trên *P. falciparum* và *P. vivax* khiến cho khâu chẩn đoán có thể bị ảnh hưởng, chẩn đoán có thể sai sót [65],[72] và điều này vô cùng giá trị trong lộ trình LTSR tại các nước [73].

Miễn dịch bán phần có thể làm giảm các triệu chứng trên người, miễn dịch chống sốt rét mắc phải từ nhiễm trùng trước đó và phát triển nhanh hơn khi có phơi nhiễm tiếp theo khi sống trong vùng SRLH, nhất là vùng lưu hành cao vì người dân thường phơi nhiễm với đa dạng clone, dẫn đến nhanh chóng hình thành miễn dịch và khi nhiễm thường không biểu hiện triệu chứng. Tuy nhiên, tại vùng lan truyền thấp, tỷ lệ nhiễm đa dòng (multiclonal infection) thấp hơn và hình thành miễn dịch chậm hơn. Miễn dịch với *P. vivax* có được nhanh hơn so với *P. falciparum*. Tại vùng SRLH cao của Papua New Guinea, trẻ em từ 5-13 tuổi biểu hiện sốt gấp hơn 21 lần khi nhiễm *P. falciparum* so với *P. vivax* và trên nhóm trẻ từ 1-4 tuổi gia tăng khả năng kiểm soát mật độ *P. vivax* (nhưng không xảy ra với *P. falciparum*) dưới ngưỡng gây sốt, vì thế trong nghiên cứu này hầu hết chỉ có nhiễm *P. falciparum*(100%) đơn thuần. Tại các vùng SRLH thấp ở Sudan, có một tỷ lệ NMTKTC cao hơn vào mùa lan truyền từ tháng 9-12 qua xét nghiệm PCR so với các giai đoạn khác (35% so với 8%) dù đã được điều trị thuốc các ca bệnh đầy đủ. Điều này có thể do KST kháng thuốc nên tồn tại một lượng thấp sau khi điều trị, số liệu này có thể phù hợp với nghiên cứu vì các thời điểm điều tra có thể khác nhau và đây là vùng có kháng thuốc ở Việt Nam. Một số so sánh tỷ lệ triệu chứng giữa các cá nhân nhiễm *P. falciparum* với *P. vivax* được tiến hành tại các vùng có mật cả

hai loài những vẫn đang tranh luận. Soi KHV thấy tỷ lệ nhiễm *P. falciparum* (37,5%) so với *P. vivax* (18,5%) tại Brazil là không có triệu chứng. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy tại Solomon thấy tỷ lệ nhiễm *P. vivax* (97,1%) cao hơn so với *P. falciparum* (82,2%) không biểu hiện triệu chứng sốt. Tại Campuchia, 92% số ca nhiễm *P. falciparum* và 83% ca nhiễm *P. vivax* không có triệu chứng [30].

Hiện Việt Nam đang trên lộ trình LTSR *P. falciparum* vào năm 2025 và toàn bộ sốt rét vào năm 2030, nên việc xác định các khó khăn, thách thức và can thiệp LTSR để đạt đích là mục tiêu quan trọng [70], trong đó nên đề cập vấn đề NMTKTC. Điểm cuối cùng, đối với sốt rét do *P. vivax* hoặc *P. ovale* nếu không điều trị triệt căn và không diệt sạch KST thể vô tính này thì cũng khó quản lý bệnh nhân tránh khỏi tái phát xa trong tương lai khi còn một tỷ lệ thấp NMTKTC [27]. Trên cơ sở các dữ liệu về NMTKTC tại các tỉnh còn SRLH như hiện nay, các quốc gia cần có chính sách và các hoạt động chuyên môn làm thế nào đánh giá thực trạng này và có những biện pháp can thiệp thụ thể và hiệu quả [69].

4.2. Định lượng hoạt độ G6PD bằng bộ cảm biến sinh học CareStart G6PD

4.2.1. Đặc điểm về hoạt độ G6PD của quần thể nghiên cứu

Trong quần thể nghiên cứu chung từ 14 nhóm dân tộc khác nhau đang sinh sống tại 3 xã, có độ tuổi trung bình là 35 tuổi, trong đó nam giới là 1069 (38,06%) và nữ giới chiếm 1740 (61,94%). Nồng độ haemoglobine trung bình là $12,0 \pm 1,85$ (g/dL) và hoạt độ G6PD chung là $9,03 \pm 2,94$ (IU/g Hb).

Với giá trị trung bình của hoạt độ G6PD chung là 9,03 IU/g Hb, trong đó giá trị trung bình ở nữ là 9,16 và ở nam giới là 8,83 và giá trị ở nhóm nam giới có hiệu chỉnh là 9,03. Phân tích giá trị trung vị theo Hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới (2018), hoạt độ G6PD trong quần thể những người nam điều chỉnh là 8,78 IU/g Hb (n=1037) và giá trị này được định nghĩa là giá trị bình thường của hoạt độ G6PD trong quần thể chung để đánh giá tình trạng cho cả hai nhóm giới tính.

Ngưỡng phân loại ở mức 30% và 80% của hoạt độ G6PD trong toàn bộ quần thể dựa trên giá trị bình thường được xác định là 2,63 IU/g Hb và 7,02 IU/g Hb.

4.2.2. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo giới tính và nhóm dân tộc

Phân tích tỷ lệ thiếu G6PD trên hồng cầu của quần thể chung và phân theo từng giới tính chỉ ra: Tỷ lệ thiếu G6PD trên nhóm nam giới là 39 ca (3,65%) và ở nhóm nữ giới là 26 ca (1,49%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Đặc biệt trên nhóm nữ còn có biểu hiện tình trạng bán thiếu khá cao với 340 ca (19,5%). Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD có sự khác nhau giữa các nhóm dân tộc khi phân tích trên quần thể chung. Trong đó, dân tộc Thái là 20% (1/5), dân tộc Mường là 12,5% (1/8), dân tộc Nùng là 5,7% (2/35), dân tộc Dao là 20% (2/10), dân tộc Tày là 4,8%(2/42), dân tộc M'Nông là 4,1% (41/1004) và dân tộc Kinh là 0,8% (8/1043). Các dân tộc khác (Khơ Me, Thổ, Cao Lan, Ê Đê, Hoa và Ktu) với cỡ mẫu thu thập rất thấp và chưa phát hiện trường hợp nào thiếu hoạt độ G6PD. Phân tích so sánh kết quả về tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD theo từng nhóm dân tộc theo sự ổn định tại chỗ và di cư từ nơi khác đến. Trong đó, dân tộc Kinh có tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD là 0,77% (8/1043), các dân tộc bản địa tại chỗ hoặc từ miền Nam lên như M'Nông, Khơ Me, Thổ, Ê Đê, Lào, Hoa, K'tu là 4% (41/1024) và các nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh miền Bắc đi vào Tây Nguyên đang sinh sống và làm việc tại đây có tỷ lệ thiếu là 2,16% (16/742), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Số liệu này cũng tương tự nghiên cứu của Đặng Thị Hồng Xuân Thủy và cộng sự (2021) cho ra tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD chung ở ba xã nghiên cứu của huyện Krông Năng là 4,1% (120/2941). Trong đó, tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD ở nam và nữ lần lượt là 4,0% và 4,2%, chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,787$). Ở nữ giới, tỷ lệ bán thiếu hoạt độ G6PD là 20,6%, trong khi ở nam thì không có. Trong đó, 352 người nữ được phân loại là bán thiếu hoạt độ G6PD và tỷ lệ mẫu có hoạt độ G6PD bình thường là 84% [8].

Nghiên cứu của tác giả Đặng Thị Hồng Xuân Thủy tại huyện Krông Năng, tỉnh Đắk Lắk - nơi có nhiều nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc vào Tây Nguyên cũng cho thấy tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD, trong đó tỷ lệ thiếu hoạt độ ở nhóm dân tộc Tày là 10,1% (25/248), Nùng 8,3% (4/48), Mường 7,9% (41/521), Săch 6,2% (4/65), Thái 3,9% (2/65), Kinh 3,1% (39/1255), H'Mông 0,7% (1/141), Ê Đê 0,5% (3/602), Sán Chay, Thổ, Cao Lan, Xơ Đăng với số người tham gia vào

ngiên cứu và đang sinh sống tại đây rất thấp, xét nghiệm không có trường hợp nào thiếu hoạt độ G6PD, riêng dân tộc Dao là 50% (1/2) [8].

So sánh với nghiên cứu của Tạ Thị Tĩnh và cộng sự khi phân tích về tình trạng thiếu hoạt độ G6PD theo từng vùng SRLH ở miền Trung-Tây Nguyên và Nam Bộ - Lâm Đồng cho thấy tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD tại các điểm dao động dưới 10%, phổ biến từ 5-6%. Điều tra cho tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD ở nam là 4% và nữ là 4,2% thì có điểm khác với một số nghiên cứu khác trước đây của cùng tác giả [13],[14] hay Bancone G và cộng sự (2019) khi nghiên cứu thấy tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD ở nam cao hơn so với nữ và được giải thích có thể vì gen *Gd* mã hóa cho G6PD nằm trên nhánh dài của NST giới tính X, nên được di truyền theo dòng NST giới tính X và nam giới thường bị ảnh hưởng bởi tình trạng thiếu hoạt độ G6PD nhiều hơn so với nữ [22],[23], sự khác biệt có thể là do khác nhau về địa điểm và quần thể được lựa chọn, tại thời điểm điều tra có số lượng nữ cao hơn nam, đa dạng nhiều dân tộc, số lượng từng dân tộc trong nghiên cứu không đồng đều, các dân tộc có tỷ lệ thấp).

Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD giữa các dân tộc đang sống tại địa điểm nghiên cứu có sự khác nhau, tuy nhiên số mẫu nghiên cứu trên từng nhóm dân tộc không đồng nhất, thiếu hoạt độ G6PD cao nhất ở nhóm dân tộc Tày (10,1%), tiếp theo là Nùng (8,3%), Mường (7,9%). Số liệu này tương tự nghiên cứu của Đoàn Thị Yến Nhi và cộng sự (2019) cũng chỉ ra có sự khác biệt về tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD giữa các nhóm dân tộc ($p < 0,001$), trong đó thiếu G6PD theo giới nam [7], nữ ở nhóm dân tộc cũng thay đổi với dân tộc Kinh, tỷ lệ thiếu G6PD ở nam là 8,3%, trong khi đó ở nữ chỉ là 0%, tương tự ở dân tộc H'Mông lần lượt thiếu G6PD theo giới nam và nữ lần lượt là 3,6% và 1,2%, Ê Đê là 7,7% và 0%; Gia Rai là 2,5% và 1%; Raglai là 1,4% và 1%; Tày là 5,9% và 0%; Nùng là 0% ở cả hai giới hay chưa phát hiện ca nào thiếu G6PD.

So sánh nghiên cứu Châu Khánh Hùng và cộng sự (2018) khi phân tích thiếu G6PD theo từng nhóm dân tộc cho thấy tỷ lệ thiếu G6PD lần lượt từ cao xuống thấp là ở dân tộc Thái 20% (1/5), Tày 11,5% (3/26), M'Nông 10,4% (13/125), Kinh 6,9% (4/58), Gia Rai 3,3% (7/210); các dân tộc khác như Dao, Hoa, Mường, Nùng, Khơ Me chưa thấy trường hợp nào thiếu G6PD [6]. Điều này có thể trong nghiên

cứu này với cỡ mẫu điều tra đủ lớn tính về tổng thể, nhưng tính theo mỗi nhóm dân tộc thì cỡ mẫu khá nhỏ, chưa đủ để phát hiện ra thiếu G6PD đánh giá đầy đủ.

Để đánh giá chi tiết hơn xem liệu có sự khác biệt về thiếu G6PD giữa các nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc vào khu vực Tây Nguyên với các nhóm dân tộc bản địa tại chỗ và dân tộc phía Nam. Nghiên cứu này đã gộp các trường hợp thiếu G6PD ở các dân tộc Dao, Mường, Tày, Nùng, Thái thành một nhóm và các dân tộc Gia Rai, M'Nông, Hoa, Khơ Me thành một nhóm. Kết quả cho thấy, các nhóm dân tộc phía Bắc có hoạt độ enzyme giảm hay tỷ lệ thiếu G6PD là 12,1%, trong khi đó các nhóm dân tộc bản địa và dân tộc phía Nam có tỷ lệ thiếu G6PD chỉ là 5,9%, với sự khác biệt có ý nghĩa ($p=0,041$). Trong phân tích thiếu G6PD theo giới tính cho thấy ở nam có 12/204 (5,9%) và nữ có 16/228 (7%) thiếu G6PD và sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p = 0,632$).

Nghiên cứu của Bouma tại Pakistan (1995) thấy tỷ lệ thiếu G6PD cũng khác nhau ở các dân tộc, tỷ lệ thiếu ở nhóm dân tộc Pathan là 15,8%, dân tộc Uzbek là 9,1%, dân tộc Tajik là 2,9% và dân tộc Tukoman là 2,1%. Đồng thời, theo Ernest Beutler, trên thế giới có khoảng 400 triệu người thiếu G6PD, bệnh gặp ở tất cả dân tộc. Tần suất thiếu G6PD khác nhau tùy thuộc vào dân tộc, chủng tộc và vùng địa lý, nhưng cao nhất là Địa Trung Hải, châu Phi, Nam Á, ít gặp hơn ở Bắc Âu. Tỷ lệ thiếu G6PD ở nghiên cứu này thấp hơn so với điều tra tại Haiti khi dùng bộ cảm biến đánh giá tương tự (Thomas A Weppelmann và cs., 2017) [68].

Nghiên cứu của Tạ Thị Tĩnh tại Gia Lai cho thấy thiếu G6PD của dân tộc Bana (1,7%), Gia Rai (3,5%), Stiêng tại Bình Phước (3,5%) hoặc nghiên cứu của Đoàn Hạnh Nhân tại một số tỉnh phía Bắc thấy thiếu G6PD của dân tộc Mường (24%), Thái (19,2%) tương đương so với dữ liệu nghiên cứu này. Một nghiên cứu của Tạ Thị Tĩnh trên nhóm dân tộc Tày là 14,6%, Dao (9,7%), Nùng (7,8%), Vân Kiều (8,8%), Stiêng (3,5%), Raglai (3,1%), Cơ Ho (2,5%), Gia Rai (2,3%), Kinh (1,8%), Bana (1,7%), M'Nông (1,3%). Tuy nhiên, tỷ lệ thiếu G6PD ở nhóm H'Mông cao hơn so với nhóm H'Mông ở Mèo Vạc (Hà Giang) đã điều tra trước đây [12],[13]. Nhóm dân tộc H'Mông này sống tại xã Đăk Ngo và Quảng Trục, huyện Tuy Đức (Đăk Nông), đây là vùng SRLH nặng và người dân mới vào thường

mắc SR nặng. Đặc biệt là các nhóm dân tộc phía Bắc di cư vào như Tày, Mường, Nùng, Dao có tỷ lệ thiếu G6PD khá cao, do hiện tượng di dân từ Bắc vào Nam sau năm 1975 đã làm cho sự pha trộn trong quần thể ngày càng phức tạp. Do vậy, thiếu G6PD trong giai đoạn này có phần nào tăng lên [14].

Nghiên cứu đánh giá thiếu G6PD bằng phương pháp huỳnh quang trên mẫu giấy thấm trong quần thể dân cư chung tại 3 xã của ba tỉnh Ninh Thuận, Gia Lai và Đắk Nông cho thấy tỷ lệ thiếu G6PD chung là 3,9%, trong đó tỷ lệ này tại các tỉnh có khác nhau, lần lượt ở xã Ia Drech của Gia Lai là 3,7%, xã Ma Nối, tỉnh Ninh Thuận là 2,3% và xã Đắk Drông tỉnh Đắk Nông là 5,6%. Đồng thời, thiếu G6PD trên hai giới cũng khác nhau, với tỷ lệ thiếu G6PD ở nam tại 3 xã trên tương ứng là 2,3%; 1,9% và 4,7% cao hơn nữ giới lần lượt với 1,4%; 0,4% và 0,9% [8],[11].

Nghiên cứu của Đoàn Thị Yến Nhi (2019) cũng chỉ ra thiếu G6PD có khác nhau giữa các nhóm dân tộc bản địa và dân tộc di cư từ ngoài Bắc vào Tây Nguyên về tỷ lệ (dù cỡ mẫu không đồng đều giữa các nhóm dân tộc được điều tra ở dân tộc Kinh 8,3%, H'Mông 4,8%, Ê Đê 7,7%, Gia Rai 3,5%, Raglai 2,4%, Tày 5,9%) và mức độ thiếu G6PD hoàn toàn và bán thiếu được phân theo giới tính thì nam giới cao hơn nữ giới tương ứng lần lượt với 6,3% và 1,7% và về mức độ thiếu hoàn toàn ở nam cũng cao hơn ở nữ (5,0% và 1,2%) và mức độ bán thiếu ở nam cũng cao hơn so với nữ (1,3% và 0,5%) [7].

Theo Hướng dẫn của TCYTTG (WHO, 2015) và Bộ Y tế (2016) trong điều trị tiết căn sốt rét do *P. vivax* bằng primaquin (PQ) những bệnh nhân thiếu hoạt độ G6PD được khuyến cáo điều trị với liệu trình 8 tuần thuốc PQ với liều 0,75 mg base/kg/tuần dưới sự giám sát của cơ sở y tế có truyền máu [78],[79]. Những người nữ được phân loại bán thiếu hoạt độ G6PD được khuyến cáo điều trị với liệu trình 14 ngày primaquin với liều 0,25-0,5 mg base/kg/ngày sau khi được cân nhắc nguy cơ - lợi ích và được theo dõi sức khỏe khi điều trị.

Những bệnh nhân có hoạt độ G6PD bình thường được đánh giá xem là an toàn với liệu trình 14 ngày PQ (0,25-0,5 mg base/kg/ngày). Đến nay, thuốc duy nhất được phép dùng để điều trị thể ngủ trong gan thuộc nhóm 8-aminoquinolines là PQ. Thuốc này có thể gây tan máu phụ thuộc vào liều lượng ở những người thiếu hoạt

độ G6PD [79]. Nghiên cứu khác đề cập về điều trị tiết căn sốt rét *P. vivax*, trong đó tafenoquine (TQ) được khuyến cáo chỉ được điều trị cho những bệnh nhân nào có hoạt độ G6PD lớn hơn 70% giá trị hoạt độ G6PD bình thường, vai trò của TQ đang tiếp tục nghiên cứu trong thời gian tới.

Số liệu này cho tỷ lệ thấp hơn một ít so với điều tra của Huỳnh Hồng Quang và cộng sự (2007) [11] và Châu Khánh Hùng và cộng sự (2018) [6] với phân tích qua đánh giá sự phát quang dưới đèn soi huỳnh quang trên 432 mẫu máu người tại hai điểm nghiên cứu, kết quả cho thấy có 404 người (93,5%) có mức hoạt độ G6PD trong giới hạn bình thường và 28 người (6,5%) biểu hiện không phát quang hay thiếu G6PD. Trong đó, tại xã Chư Gu cho số người thiếu G6PD là 8 ca (3,7%) và tại điểm xã Quảng Trục có 20 người (9,3%) thiếu G6PD. Sự khác biệt thiếu G6PD trên hồng cầu tại hai điểm có ý nghĩa thống kê ($p = 0,019$). Nghiên cứu này các tác giả còn phân mức độ thiếu G6PD trên 28 mẫu máu thiếu G6PD xác định theo phương pháp định lượng bằng thiết bị cảm biến sinh học CareStart G6PD và haemoglobin để tính hoạt độ G6PD và phân loại mức độ thiếu nặng và bán thiếu. Kết quả cho thấy số mẫu bán thiếu là 19 mẫu (4,4%) và mẫu phân lập thiếu nặng là 9 mẫu (2,08%).

Định lượng hoạt độ G6PD bằng thiết bị cảm biến sinh học được thực hiện tại chỗ trong điều kiện thực địa, cho kết quả chính xác và nhanh trong vòng 4 phút, nên kết quả có giá trị hữu ích để đưa ra cách tư vấn dùng các thuốc có tính chất oxy hóa an toàn, hợp lý trên bệnh nhân (nhất là thuốc primaquin) [46], vốn dĩ đã được xác định thiếu hoạt độ G6PD [84], lẽ tất nhiên các trị số này có giá trị cảnh báo và trị số trung vị của G6PD khác nhau không nhiều trong từng khu vực và giữa các tỉnh lân cận [47]. Đặc biệt khả thi áp dụng các công cụ này để đánh giá tình trạng G6PD của các bệnh nhân tại cộng đồng trong tương lai, nhất là đối với BNSR do *P. vivax* đơn thuần hoặc nhiễm phối hợp nhiều loài *P. vivax* trước khi dùng thuốc PQ liên tục (14 ngày diệt thể ngủ, tránh tái phát xa trong tế bào gan) hoặc loại thuốc cùng nhóm 8-aminoquinolein mới dùng liều đơn duy nhất (Tafenoquine®) đã được Cơ quan Quản lý Thực và Dược phẩm Mỹ (US.FDA) chấp

thuận sử dụng gần đây (FDA, 2018) trên bệnh nhân nhiễm *P. vivax* từ 16 tuổi trở lên tại một số vùng sốt rét lưu hành đã thử nghiệm.

Năm 2004, với phương pháp phát quang với kit chẩn đoán G6PD Sigma, Tạ Thị Tĩnh và cộng sự cũng đã cho thấy tỷ lệ thiếu G6PD tại huyện K'Bang và Ajunpa, tỉnh Gia Lai là 1,7% và 2,1%; tại huyện Phước Long, tỉnh Bình Phước là 3,5% và sau đó, đến năm 2015, phân tích cho thấy tỷ lệ thiếu G6PD chung tại Gia Lai là 2,7% cũng tương tự như nghiên cứu đã được công bố trước đây. Riêng tại Bình Phước, tỷ lệ thiếu G6PD là 4,5% có cao hơn so với một điều tra trước đó. Song hiện nay ở tỉnh Bình Phước có một số lượng lớn dân di cư từ các tỉnh phía Bắc như nhóm dân tộc Tày, Nùng, Dao và Mường vào làm ăn sinh sống, mà các nhóm dân tộc này có tỷ lệ cao thiếu G6PD. Theo Beutler và cộng sự cho biết thiếu G6PD thường liên quan đến các vùng địa lý khác nhau mà các biến thể của lớp 2 và 3 đã được xác định ở các quốc gia láng giềng với Việt Nam.

Theo Beutler, thiếu G6PD liên quan với vùng địa lý. Phải chăng yếu tố địa lý đã có ảnh hưởng đến gen mã hóa G6PD. Trong thực hành nghiên cứu tại một số quốc gia có bệnh lưu hành đến nay, do thiếu G6PD là một khiếm khuyết di truyền liên quan đến nhiễm sắc thể giới tính, nên các nhà khoa học cũng khó có thể chứng minh được mối liên quan giữa mắc bệnh sốt rét với tình trạng thiếu G6PD theo chiều hướng thuận lợi hay bất lợi.

Trong nghiên cứu tại huyện Krông Năng, tỉnh Đắk Lắk, tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD cao nhất thuộc nhóm dân tộc Tày (10,1%), kế đến là nhóm dân tộc Nùng 8,3%, Mường 7,9%, Săch 6,2%, Thái 3,9%, Kinh 3,1%, H'Mông 0,7%, Ê Đê 0,5% (3/602). Các đối tượng thuộc người đồng bào Sán Chay, Thổ, Cao Lan, Xơ Đăng với số người tham gia vào nghiên cứu và đang sinh sống tại đây rất thấp, riêng dân tộc Dao là 50% nhưng cỡ mẫu quá thấp (2 ca). Điều này cũng phù hợp với số liệu y văn toàn cầu cho thấy tại mỗi nước, tỷ lệ thiếu G6PD thường có khoảng khác biệt rộng giữa các nhóm dân tộc thiểu số. Một điều tra của Bouma tại Pakistan năm 1995 cũng cho thấy tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD khác nhau ở các nhóm dân tộc, hay ở một số vùng lưu hành sốt rét tại Yangon, Myanmar cũng cho tỷ lệ khác nhau rất lớn trên nhiều nhóm dân tộc.

Theo Jalloh và Kuni Iwai, tỷ lệ thiếu G6PD ở Lào là 7,2%, tại Thái Lan là 11,5%, tại Indonesia là 3,7% và Myanmar là 5,4%. Theo Matsuka cho tỷ lệ thiếu G6PD tại Myanmar là 10,5% và ở Campuchia là 8,1%. Tỷ lệ thiếu G6PD chung là 5,5%. Số liệu tương đương với điều tra tại Myanmar, nhưng thấp hơn tại Lào, Thái Lan, Campuchia và cao hơn so với Indonesia. Một điều tra tại Kanchanaburi, Thái Lan do Wuttinan Theerathananon (2017) khảo sát cho thiếu G6PD trên quần thể thường thấy tại các vùng địa lý mà ở đó có SRLH. Điều tra này đã triển khai tại huyện Sai Yok, tỉnh Kanchanaburi với 102 người trong năm 2016, phần lớn là người Thái, số còn lại là người Karen và Myanmar, trong số đó có 39,2% nam giới và 60,8% là nữ. Số liệu phân tích cho thấy thiếu G6PD tại xã Bongti là 15,7%, trong đó nam giới thiếu 20% cao hơn so với nhóm nữ 12,9%, điều này là phù hợp vì đây là bệnh lý rối loạn di truyền liên kết giới tính X, nên thiếu G6PD chủ yếu gặp trên nam giới.

Một nghiên cứu khác được tiến hành tại São Paulo (Brazil) và Hertfordshire (Anh) điều tra thiếu G6PD tại vùng SRLH của khu vực Tây Brazilian Amazon - nơi mà số ca nhiễm *P. vivax* chiếm ưu thế. Xét nghiệm 516 nam bằng kỹ thuật phát quang (Beutler test) và bộ cảm biến sinh học CareStart™ G6PD, kết quả cho thấy 23 mẫu phân lập (4,5%) có thiếu G6PD, không có mối liên quan giữa nhiễm sốt rét với thiếu G6PD, trong đó 22 mẫu thiếu biến thể G6PDd A(-), 1 mẫu thiếu dạng G6PD A(+) và không tìm thấy biến thể Mediterranean. Trong đó, chỉ một mẫu phân lập là đa hình và số còn lại SNPs là đơn hình hoặc tần số thấp (0-0,04%), không có sự khác biệt giữa các nhóm dân tộc [48].

Một điều tra tình trạng G6PD trên quần thể tại hai vùng SRLH nặng của Sri Lanka do Sharmini Gunawardena tiến hành. Tổng số 2.059 mẫu được phân tích kiểu hình thiếu G6PD theo phương pháp WST-8/1-methoxy PMS tại bước sóng 450-630 nm. Kết quả có 13,9% (142/1.018) và 7,97% (83/1.041) thiếu máu lần lượt ở hai quận Anuradhapura và Kurunegala. Tình trạng thiếu hoạt độ G6PD nặng (<10%) được phát hiện trong số 2,75% (28/1.018) ở quận Anuradhapura (7 nam và 21 nữ) và 1,63% (17/1.041) ở quận Kurunegala (7 nam và 10 nữ). Hoạt độ G6PD

từ 10-30% chiếm 11,2% (114/1.018) với 28 nam và 86 nữ tại Anuradhapura, trong khi đó chỉ số này là 6,34% (66/1.041) với 18 nam và 48 nữ ở quận Kurunegala.

Nghiên cứu của Đặng Thị Hồng Xuân Thủy cũng phân tích theo các nhóm dân tộc Kinh, nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh miền núi phía Bắc và dân tộc tại chỗ. Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm dân tộc về thiếu hoạt độ G6PD ($p < 0,001$), trong đó, nhóm dân tộc phía Bắc di cư vào Tây nguyên có tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD cao nhất với 7,3% (74/1.011), kế đến là nhóm dân tộc Kinh là 3,1% (39/1255) và nhóm dân tộc bản địa hoặc ở phía Nam có tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD thấp nhất với tỷ lệ 1,0 % (7/675). Số liệu trên tương tự với nghiên cứu của Đoàn Thị Yến Nhi (2019) khi phân tích gộp các nhóm dân tộc bản địa, dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD ở các nhóm dân tộc Kinh, dân tộc di cư từ miền núi phía Bắc và các dân tộc bản địa tại chỗ huyện Krông Năng tỉnh Đắk Lắk và các tỉnh phía Nam lần lượt là 3,1%; 7,3% và 1% ($p < 0,001$). Số liệu nghiên cứu này phù hợp với các dữ liệu của Tạ Thị Tĩnh và cộng sự, trong đó điều tra trong nước cũng như trên thế giới đều cho thấy tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD ở các dân tộc khác nhau khác nhau.

4.2.3. Biểu thể đột biến thiếu G6PD theo các nhóm dân tộc

Loại biến thể thiếu G6PD hay gặp nhất trên quần thể tại các điểm nghiên cứu là biến thể Viangchan (871G→A) với 58/65 trường hợp thiếu (89,23%), kế đến một số ca là biến thể Mahidol (487G→A) với 4/65 trường hợp (6,15%) và 3 trường hợp gặp biến thể thiếu G6PD loại Canton với 3/65 (4,62%). Trong số 65 trường hợp thiếu hoạt độ G6PD, phân thành nhóm dân tộc di cư từ phía Bắc vào Tây Nguyên và dân tộc tại bản địa cho thấy với nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh miền núi phía Bắc vào Tây Nguyên sinh sống và làm ăn có các biến thể thiếu enzyme loại Mahidol là /65 ca (4,62%), Viangchan có 12/65 (18,46%) và biến thể Canton có 1/65 (1,54%). Trong khi đó, trên nhóm dân tộc bản địa, số trường hợp thiếu G6PD có biến thể Vianchang 46/65 (70,77%), biến thể Canton là 2/65 (3,08%) và Mahidol 1/65 (1,54%).

Một nghiên cứu tiến hành bởi Hiroyuki Matsuoka (2007) [32] điều tra tình trạng thiếu hoạt độ G6PD từ các mẫu của các bệnh nhân nam ngoại trú ở miền Nam, hầu hết mẫu là người Kinh (88,9%) và các dân tộc thiểu số khác gồm K'Ho, Châu Mạ, Nùng, Tày. Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD chung là 2,3% (25/1104), có một loại đột biến mới được phát hiện (352T→C) tiên đoán thay đổi acid amin của 118Tyr→His trên một trẻ em người Kinh, hoạt độ G6PD của này thấp hơn 10% trị số bình thường dù không biểu hiện thiếu máu tan máu mạn tính, nên được phân loại vào lớp II và đặt tên biến thể là G6PD Bao Loc. Trên nhóm quần thể người Kinh, biến thể Viangchan (871G→A, 1311C→T, intron 11 nt93T→C) chiếm tỷ lệ cao nhất (6/19) và là biến thể phổ biến nhất ở Đông Nam Á, tiếp theo là các biến thể có nguồn gốc từ người Trung Quốc như Canton (1376G>T) là 26,3% (5/19), Kaiping (1388G→A) là 15,8% (3/19), Gaohe (95A→G) là 5,26% (1/19) và Quing Yuan (392G→T) là 5,26% (1/19). Ngoài ra, biến thể Union (1360C→T) có mặt với 10,5% (2/19) có nguồn gốc từ châu Đại dương cũng được phát hiện. Các số liệu trên chỉ ra người Kinh xuất phát từ nhiều tổ tiên khác nhau từ Đông Nam Á, Trung Quốc và châu Đại dương. Ngược lại, cả 5 trường hợp thiếu ở người K'Ho là biến thể Viangchan có liên quan chặt chẽ với quần thể Đông Nam Á như Khmer ở Campuchia và dân tộc Lào ở Lào, điều thú vị là biến thể Mahidol (487G→A) thường gặp tại các nước Đông Nam Á như Myanmar, Thái Lan, Malaysia thì chưa phát hiện trong nghiên cứu này.

Nghiên cứu của Đặng Thị Hồng Xuân Thủy trên 120 mẫu đã xác định thiếu hoạt độ G6PD được phân tích về di truyền các biến thể cho thấy các nhóm dân tộc có thiếu G6PD loại biến thể Mahidol có mặt trên các dân tộc Tày, Nùng, Mường, Săch, Thái, Kinh, H'Mông và biến thể Vianchang có mặt trên các dân tộc Tày, Nùng, Mường, Săch, Kinh, Ê Đê, đây là hai biến thể chiếm ưu thế và cao nhất trong danh sách các biến thể đã được ghi nhận tại các quốc gia Đông Nam Á, với tỷ lệ lần lượt là 48,3% (58/120) và 41,7% (50/120). Ngoài ra, biến thể Canton cũng gặp trên các nhóm dân tộc Tày, Nùng, Săch, Kinh và Dao với tỷ lệ 9,2% (11/120) và có 1 ca có biến thể Kaiping (0,8%) ở dân tộc Mường.

So với nghiên cứu tại một số tỉnh Tây Nguyên, Huỳnh Hồng Quang và cộng sự (2019) cũng đã phát hiện qua phân tích 25 mẫu thiếu G6PD ở người thuộc các nhóm dân tộc khác nhau cho thấy các biến thể đột biến di truyền loại G6PD Viangchan chiếm đa số với 21/25 (84%) trên mẫu thiếu trên nhóm dân tộc Kinh, H'Mông, Ê Đê, Gia Rai, Raglai, tiếp đến là loại biến thể G6PD loại Mahidol với 3/25 (12%) và 1 mẫu là biến thể Canton ở dân tộc Tày (4%). Tất cả các trường hợp thiếu hoạt độ G6PD này đều chưa phát hiện có đa đột biến trên cùng một phân lập. Số liệu này tương đối phù hợp với một nghiên cứu năm 2018 của Châu Khánh Hùng và cộng sự đề cập về phân bố theo từng nhóm dân tộc, số liệu cho thấy chủ yếu là dân tộc bản địa tại chỗ của hai xã chọn nghiên cứu, đó là dân tộc Gia Rai (Jrai) đang sinh sống tại xã Chư Gu của huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai là 210 người (48,6%) và dân tộc M'Nông tại điểm xã Quảng Trục của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông là 125 người (28,9%), ngoài ra còn có một số nhóm dân tộc khác di cư từ các tỉnh phía Bắc vào các tỉnh Tây Nguyên cùng sinh sống tại đó đã nhiều năm, bao gồm dân tộc Kinh có 58 người (13,4%), dân tộc Tày 16 người (3,7%), dân tộc Nùng là 7 người (1,6%), dân tộc Hoa 3 người (0,7%), dân tộc Khơ Me 3 người (0,7%), dân tộc Mường 3 người (0,7%), dân tộc Thái 5 người (1,2%), dân tộc Dao 2 người (0,5%).

So với nghiên cứu tại 3 tỉnh miền Trung-Tây Nguyên gồm Gia Lai, Ninh Thuận và Đắk Nông (Đoàn Thị Yến Nhi, 2019) phân tích các biến thể thiếu G6PD cũng cho thấy tỷ lệ từng loại biến thể trên từng nhóm dân tộc khác nhau cũng khác nhau, cụ thể với 4 trường hợp thiếu G6PD ở dân tộc Kinh cho thấy loại biến thể Viangchan chiếm 3 ca (75%) cao hơn so với loại Mahidol 1 ca (25%). Trong 7 trường hợp thiếu G6PD ở nhóm dân tộc Gia Rai, loại biến thể Viangchan có 4 ca (57,1%) chiếm ưu thế hơn loại biến thể Mahidol 2 ca (28,6%) và Kaiping 1 ca (14,3%). Trong khi 13 trường hợp thiếu G6PD ở nhóm dân tộc M'Nông, loại biến thể Mahidol chiếm 7 ca (53,8%) và biến thể Viangchan có 6 ca (46,2%), không có các loại biến thể khác. Các biến thể Viangchan và Mahidol hay gặp ở vùng Campuchia và Myanmar.

Trong 3 trường hợp thiếu G6PD ở nhóm dân tộc Tày, loại biến thể Mahidol chiếm 2 mẫu (66,7%) và biến thể Viangchan có 1 mẫu (33,3%), không có các loại biến thể khác. Một ca thiếu G6PD ở nhóm dân tộc Thái là loại biến thể Canton duy nhất và đây là loại biến thể thường gặp ở nhóm người Trung Quốc hoặc Malaysia gốc Trung Quốc.

So sánh với một số kết quả phân tích biến thể thiếu G6PD trong nước của một số tác giả khác cho thấy có một số điểm tương đồng hoặc khác biệt. Chẳng hạn, nghiên cứu của tác giả Phùng Đức Thuận và cộng sự (2015) báo cáo về các biến thể thiếu G6PD được phát hiện tại một số cơ sở y tế Việt Nam là biến thể Viangchan, Gaohe, Quing Yuan, Union, Canton, Kaiping, Chinese. Trong một nghiên cứu trên 82 người bệnh nhân có haemoglobine niệu tìm thấy biến thể G6PD Viangchan chiếm đến 77% và có liên quan có ý nghĩa đến tiểu Hb niệu với thiếu G6PD trên nhóm dân tộc Kinh. Số liệu và loại biến thể của G6PD ở đây khác so với một nghiên cứu khác trên 30 trẻ sơ sinh nam người Kinh có thiếu G6PD, Nguyễn Thị Huệ và cộng sự một số nước tìm thấy 7 biến thể với tần số từng biến thể là Gaohe Ghaozou (3,3%), Chinese-4 Quing Yuan (3,3%), Viangchan (43,3%), Union Chinese-2 (6,6%), Canton (26,6%), Kaiping (6,6%) và đột biến thầm lặng (56,6%) chưa thể hiện kiểu hình rõ ràng.

So sánh với một số nghiên cứu khác về biến thể di truyền thiếu G6PD tại một số khu vực trên thế giới với nghiên cứu này cho thấy có sự khác biệt hoặc tương đồng. Một nghiên cứu cho thấy có 9 biến thể khác nhau của thiếu G6PD trên các quần thể người dân Malaysia với nhiều nhóm khác nhau như Malay, Trung Quốc, Ấn Độ và Orang Asli hay dân bản địa Malaysia [28],[32] qua thu thập các mẫu bệnh phẩm từ bệnh nhân ở bệnh viện bang Selangor xác định có 27 ca thiếu (G6PD). Trên nhóm Malay, biến thể G6PD Viangchan và Mahidol và các biến thể này thường gặp ở Campuchia và Myanmar, đồng thời trên nhóm người Malay cũng có subtype của biến thể G6PD Mediterranean như Mediterranean subtype (563C→T, 1311C→T, IVS11 nt93T→C) và Indo-Pakistan subtype (563C→T). Trên nhóm người Malaysia có nguồn gốc Trung Quốc thì phát hiện loại biến thể G6PD Kaiping (1388G→A), G6PD Canton (1376G→T) và G6PD Gaohe

(95A→G) điều này là phù hợp vì các biến thể này thường gặp ở Trung Quốc. Trên nhóm người Malaysia gốc Ấn Độ có biến thể G6PD Mediterranean (Indo-Pakistan subtype) và biến thể G6PD Namoru (208T→C), một vài trường hợp đã được báo cáo tại Vanuatu và Ấn Độ (Bancone G và cs., 2018) [22].

Nghiên cứu này cũng đã cho thấy biến thể G6PD Namoru có mặt ở Ấn Độ và có sự dịch chuyển dòng từ Malaysia đến Vanuatu, ngoài ra các tác giả còn phát hiện 5 ca thiếu G6PD có đột biến thay thế 2 nucleotide 1311C→T và IVS11 nt93T→C, nhưng không thay thế amino-acid trong phân tử G6PD. Số liệu cho thấy quần thể người Malaysia có sự hợp nhất nhiều tổ tiên của các biến thể G6PD nên mới sinh ra các biến thể như thế. Trên quần thể người Malaysia, các nghiên cứu sau đó cho thấy tỷ lệ thiếu G6PD được báo cáo là 5,1% ở nhóm Malay và 5,5% ở nhóm dân Malaysia có nguồn gốc Trung Quốc. Các nghiên cứu di truyền về thiếu G6PD chỉ ra 13 biến thể G6PD trong số 127 mẫu thiếu G6PD. Người Malaysia gốc Ấn Độ có một ca có biến thể G6PD và subtype là Indo-Pakistan (563C→T). Đây là loại subtype phổ biến trên quần thể dân Ấn Độ, đồng thời cũng tìm thấy biến thể G6PD Namoru (208T→C) lần đầu tiên phát hiện ở quần đảo Vanuatu với lượng nhỏ. Gần đây, nhiều biến thể Namoru được tìm thấy ở phía Nam Ấn Độ, chỉ ra biến thể Namoru có xuất xứ từ Ấn Độ. Điều thú vị, trên 80 người có thiếu G6PD ở người gốc Indonesia, nhưng chưa bao giờ thấy biến thể G6PD Namoru ở Indonesia. Biến thể này có mặt ở Ấn Độ dịch chuyển đến Malaysia và cuối cùng đến quần đảo Vanuatu [29],[43]. Nghiên cứu cũng phát hiện thêm 2 mẫu có biến thể Kaiping trên người Malaysia gốc Ấn Độ, biến thể này phổ biến ở Trung Quốc và phân bố ở Việt Nam, Thái Lan và Indonesia.

Theo báo cáo từ Ấn Độ, biến thể G6PD Kaiping từ lâu không còn được phát hiện ở Ấn Độ, nên có thể đây là các biến thể sinh ra từ nguồn gốc hôn nhân khác chủng tộc giữa Ấn Độ và Trung Quốc trong cộng đồng người Malaysia trước đây. Các biến thể G6PD Viangchan trên người Orang Asli, loại này thường hay gặp tại các quốc gia Đông Nam Á [42]. Điều này cũng khẳng định có hôn nhân khác chủng tộc của người Orang Asli với những người thuộc các bán đảo Đông Nam Á trong quá khứ. Ngoài ra, các nhà nghiên cứu cũng phát hiện ra 5 mẫu có kiểu gen có thay

thể 1311C→T và IVS11 nt93T→C từ nhóm dân Malay, Ấn Độ và dân tộc Orang Asli. Các kiểu gen này cũng được báo cáo ở quần thể dân Trung Quốc. Đặc biệt, biến thể 1311C→T là đột biến vô nghĩa vì cả bộ ba TAC và TAT mã hóa cho cùng amino-acid tyrosine. Các nghiên cứu tiếp theo là rất cần thiết để nghiên cứu vùng khởi động cho gen mã hóa G6PD.

Tại các quốc gia Đông Nam Á, các nhà nghiên cứu cũng đã kiểm tra hơn 3000 người xem có nhiễm KSTSR và thiếu G6PD và kết quả đã tìm thấy có hơn 200 ca thiếu G6PD. Các biến thể này được phân loại vào lớp II, có 15 kiểu gen mã hóa cho G6PD [44], trong đó có 3 kiểu gen mới được đặt tên G6PD Surabaya (1291G→A; 431Val→Met), G6PD Bajo Maumere (844G→T; 282Asp→Tyr) và G6PD Bao Loc ở Lâm Đồng, Việt Nam như 1 biến thể mới (352T→C; 118Tyr→His). Điều này cho thấy phân tích di truyền biến thể G6PD là cần thiết và làm da dạng thêm các biến thể di truyền trong bản đồ di truyền thiếu hoạt độ G6PD trên các nhóm dân tộc khác nhau có thể có nguồn gốc tổ tiên khác nhau trên thế giới đang sống tại Việt Nam [34],[35].

Số liệu phân tích trong nghiên cứu này cũng phù hợp với các nghiên cứu phân tích sâu về vai trò chức năng chi tiết của 2 biến thể phổ biến G6PD là Viangchan và Viangchan-Mahidol do Usa Boonyuena và cộng sự (2017) tiến hành cho biết thiếu G6PD là một rối loạn di truyền liên kết giới tính, bệnh lý phổ biến ở người mang tính đa hình [50],[67]. Ngoài ra, hai biến thể này còn chỉ ra giảm tính ổn định với nhiệt có ý nghĩa, nhưng tính nhạy với tiêu hóa trypsin thì tương đương khi so sánh với đột biến hoang dại (wild-type enzyme), số liệu về các biến thể một lần nữa giúp giải thích tính ổn định của protein màng hồng cầu trong cơ thể người thiếu và không thiếu G6PD và giữa các biến thể khác nhau. So sánh với một số nghiên cứu trong nước gần đây về các biến thể thiếu G6PD trên từng nhóm dân tộc bản địa tại chỗ và các dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc đi vào khu vực Tây Nguyên cũng cho thấy trên các nhóm dân tộc bản địa Kinh, Ê Đê, Raglai, Gia Rai thiếu G6PD chủ yếu là loại biến thể Mahidol và Viangchan, trong khi đó trên các nhóm dân tộc di cư từ ngoài Bắc, thì ngoài các biến thể Mahidol và Viangchan thì có thêm một loại biến thể Canton (Đoàn Thị Yến Nhi và cs., 2019).

So sánh với một số nghiên cứu của tác giả khác trong nước và thế giới cho thấy tương tự và giống với các biến thể tại châu Á. Tổng số 28 mẫu phân lập thiếu G6PD được xác định có 12 nam và 16 nữ. Trong đó, có 4 mẫu thuộc dân tộc Kinh, 7 mẫu thuộc dân tộc Gia Rai, 13 mẫu thuộc dân tộc M'Nông, 3 mẫu thuộc dân tộc Tày và 1 mẫu thuộc dân tộc Thái. Phân tích biến thể di truyền G6PD cho thấy trên nhóm dân tộc Tày với 3 người thiếu G6PD, 2/3 mẫu có kiểu gen hay biến thể G6PD là Mahidol (chuyển từ G487→A hay viết tắt G487A) và 1 mẫu là biến thể G6PD Viangchan (871G→A hay G871A). Trên 4 mẫu nhóm dân tộc Kinh có thiếu G6PD thì có 3 trường hợp có biến thể G6PD Viangchan (871G→A hay G871A) và 1 trường hợp có kiểu biến thể Mahidol (G487→A hay G487A). Trong khi đó 7 mẫu ở người Gia Rai thu thập tại xã Chư Gu, huyện Krông Pa, tỉnh Gia Lai thì có số biến thể đa dạng hơn, gồm 4 mẫu phân lập có biến thể G6PD Viangchan (871G→A hay G871A), 2 mẫu phân lập có biến thể Mahidol (G487→A hay G487A) và 1 mẫu phân lập mang biến thể Kaipping (1388 G→A hay G1388A). Trong số 13 mẫu thiếu G6PD ở người M'Nông, phân tích có số biến thể gồm 6 mẫu phân lập thuộc biến thể G6PD Viangchan (871G→A hay G871A) và 7 mẫu phân lập có biến thể Mahidol (G487→A hay G487A). Riêng một mẫu thuộc dân tộc Thái phát hiện biến thể G6PD Canton (1376 G→T hay G1367T) là một biến thể ít gặp trên cộng đồng dân Việt Nam cũng như châu Á. Điểm đặc biệt sau khi phân tích thấy là mỗi nhóm dân tộc có kiểu gen hay biến thể khác nhau và chưa phát hiện các biến thể Union, Vanua, Coimbra hay hay Mediterranean trong nghiên cứu này.

Một nghiên cứu đa trung tâm trên 10.253 mẫu của 27 tỉnh của các nước Tiểu vùng Sông Mê Kông cho thấy tại Campuchia có 2.162 mẫu (100% nam giới) được phân tích kiểu gen, tại Lào (3017 mẫu), Myanmar (2.742 mẫu), Thái Lan (417 mẫu), Việt Nam (1.915 mẫu) [78]. Tỷ lệ thiếu G6PD chung phát hiện bằng test huỳnh quang là 10,4% trên nam và 3,4% trên nữ, tỷ lệ thiếu G6PD trên nam giới là 5,9% (Lào), 8,6% (Việt Nam) và 15,6% (Myanmar). Ngoài ra, có 86 nam (2,4%) và 125 (3,1%) nữ từ Lào và Việt Nam tìm thấy bán thiếu. Trong số các biến thể G6PD phát hiện khắp khu vực này cho thấy loại biến thể Viangchan và Mahidol

chiếm đa số và trải rộng nhiều vùng địa lý, riêng tại Lào và Việt Nam còn phát hiện thêm kiểu hình trung gian và chưa đủ cơ sở giải thích do trên các nhóm nữ có dị hợp với kiểu hình G6PD bình thường.

Qua điều tra, loại Viangchan qua điều tra cho tỷ lệ cao nhất, trên các mẫu từ nam giới, tần số alen ở mỗi nước ở mức tối thiểu <1% tại Myanmar và 2,3-5,7% tại Thái Lan, 5,5% ở Việt Nam, 4,8-8,9% tại Lào và cao nhất ở Campuchia (8,2-28,4%). Trong khi biến thể Mahidol đều xuất hiện ở các nước với tần suất alen thấp, 0-0,2% ở Lào, 0-3,1% ở Campuchia, 0,1-6,8% ở Thái Lan, 0,2-6,2% ở Việt Nam và cao nhất 13,2% ở Myanmar (Banccone G và cs., 2018). Các biến thể Union và Canton tìm thấy tất cả các nước, ngoại trừ Thái Lan, còn biến thể Union tìm thấy ở Campuchia, Lào và Việt Nam, trong khi biến thể Canton tìm thấy ở Lào, Campuchia và Myanmar; các biến thể Chinese-4 và Kaiping chỉ có ở Lào, Myanmar và Việt Nam và tỷ lệ các đột biến Union, Canton, Kaiping và Chinese-4 tìm thấy tỷ lệ rất thấp (< 1%) tại mỗi nước. Ước tính tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD và mô tả đặc tính các biến thể đột biến là các bước cần thiết để hỗ trợ cho các chiến lược LTSR do *P. vivax* tại khu vực GMS trong việc sử dụng liệu trình các thuốc PQ (Banccone G và cs., 2018; Banccone G và cs., 2019).

Tuy nhiên, tại Đông Nam Á, quần thể biểu hiện tính không đồng nhất hay tính đa dạng về mặt phân tử rất cao trên gen G6PD. Do đó, tỷ lệ thiếu G6PD thật sự có thể hưa được ước tính đầy đủ nếu chỉ phân tích kiểu gen. Để khắc phục vấn đề này, nghiên cứu hiện nay trên các mẫu máu từ Lào, Myanmar, Việt Nam được sàng lọc đầu tiên bằng các phương pháp định tính hoặc định lượng để tính tỷ lệ thiếu, sau đó phân tích kiểu gen bằng PCR-RFLP tìm ra dạng thiếu một phần hay toàn phần dưới các điều kiện gen mã hóa G6PD bị đột biến.

Với các phương pháp định tính thì tỷ lệ phát hiện thiếu hoạt độ thấp hơn vì bỏ sót nhiều ca dị hợp và bán thiếu nhận định không chính xác như ở Lào 14,1%, ở Myanmar là 10,5%, Việt Nam là 13,7% và có một số lỗi khi phiên giải nếu không có khẳng định lại bằng test định lượng. Tại Campuchia, dữ liệu xác định tính không tương đồng và phân bố không đều tại các vùng gồm 7 loại đột biến chính. Hai biến thể Viangchan và Mahidol tìm thấy với tỷ lệ cao nhất trong khu vực. Đặc biệt, biến

thể đột biến Viangchan phát hiện tại tất cả vùng lấy mẫu, phân bố rộng ở Đông Nam Á, nhưng rõ ràng có hạn chế ở biên giới Thái Lan - Myanmar. Loại biến thể Union dù chiếm tỷ lệ thấp nhất, song xuất hiện ở các vùng như nhau. Biến thể Mahidol có sự phân bố rộng, nhưng sau đó giảm dần tỷ lệ từ Myanmar và Thái Lan sang các vùng khác.

Các biến thể Mahidol và Viangchan thể hiện hoạt tính enzyme thấp hoặc rất thấp trên hồng cầu và có liên quan tương đối cao với nguy cơ tán huyết khi điều trị thuốc 8-aminoquinoline nếu dùng liều cao. Các biến thể khác không biểu hiện đặc tính nhưng có liên quan đến thiếu hoạt độ G6PD (trong 80% số nam giới dị hợp tử) hoặc bán thiếu G6PD. Trong khi, sử dụng liều thấp primaquin hay tafenoquine để ngăn chặn lan truyền *P. falciparum* cho thấy rất an toàn, song dùng thuốc 8-aminoquinoline để lại trừ *P. vivax* trên các vùng lưu hành rộng lớn cần phải xét nghiệm hoạt độ G6PD. Xét nghiệm G6PD tại thực địa cần thiết để xác định các nữ dị hợp G6PD với kiểu hình bán thiếu G6PD.

Sử dụng tỷ lệ thiếu G6PD được phát hiện trên các mẫu nam giới như một sự cố do tích lũy tần số nhiều alen của biến thể G6PD, người ta có thể ước tính tỷ lệ kỳ vọng trung bình trên người nữ có kiểu gen dị hợp tử tại mỗi nước: Tại Thái Lan, con số này trung bình là 13,5%, tại Lào 14,9%, tại Việt Nam 16,3% và cao nhất là Myanmar và Campuchia lần lượt là 26,6% và 30,5%.

Hoạt độ G6PD nên được đánh giá bằng test định lượng G6PD trước khi điều trị thuốc 8-aminoquinoline, đặc biệt tafenoquine. Trong giai đoạn từ nay đến năm 2030, Lộ trình loại trừ sốt rét kể cả loài *P. vivax* cần được quan tâm, trong đó lưu ý đến các chiến lược về xét nghiệm - điều trị sốt rét *P. vivax* an toàn hợp lý và chất lượng (Rueangweerayut R và cs., 2017) vì tiềm tàng có nguy cơ tán huyết trên cá nhân thiếu G6PD có loại đột biến biến thể Mahidol.

4.3. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD trên quần thể tại điểm nghiên cứu

4.3.1. Yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng

Liên quan giữa tình trạng NMTKTC qua xét nghiệm RT-qPCR dương tính với mức độ vùng SRLH tại ba xã khác nhau từ lưu hành nặng đến lưu hành nhẹ của xã Quảng Trục, Đắk Ngo và Đắk Buk So thuộc huyện Tuy Đức vào thời điểm giữa mùa mưa cũng chỉ ra thấy từ cao xuống thấp lần lượt là 12,8% (39/305); 3,6% (16/445) và 1,5% (10/663) và sự khác biệt giữa NMTKTC với vùng có SRLH mức độ khác nhau có ý nghĩa thống kê. Tương tự, tỷ lệ NMTKTC tại ba xã SRLH mức độ khác nhau từ cao đến thấp của huyện vào thời điểm giữa mùa khô cũng cho thấy từ cao xuống thấp, lần lượt là 12,6% (36/286); 3,6% (16/445) và 1,8% (12/665) và sự khác biệt này cũng có ý nghĩa ($p < 0,05$ và $p < 0,01$).

Tỷ lệ NMTKTC chung ở giữa hai mùa mưa và giữa mùa khô đều cùng là 4,6%. Tuy nhiên, tỷ lệ NMTKTC tại từng khu vực xã có SRLH khác nhau từ cao xuống thấp giữa hai mùa lần lượt là 12,8% và 12,6%; 3,6% và 3,6%; 1,5% và 1,8% cũng không khác nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa.

Liên quan giữa NMTKTC không triệu chứng với giới tính trong thời điểm giữa hai mùa mưa và khô tại 3 xã SRLH khác nhau, nam giới luôn luôn cao hơn ở nữ vào thời điểm mùa mưa cũng như mùa khô, lần lượt 86,15% so với 13,85% (giữa mùa mưa) và 93,76% so với 6,24% (giữa mùa khô). Tương tự, tính riêng tại 3 xã có mức độ SRLH từ cao đến thấp lần lượt vào mùa mưa là 92,3% so với 7,7% (ở xã Quảng Trục); 68,8% so với 31,2% (ở xã Đắk Ngo) và 90% so với 10% (ở xã Đắk Buk So). Sự khác biệt về NMTKTC với giới tính ở trong thời điểm giữa hai mùa có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

Đồng thời, nếu tính chung cả 3 xã thuộc vùng sốt rét lưu hành về mối liên quan giữa giới tính với tình trạng người mang/nhiễm KSTSR không triệu chứng vào thời điểm giữa mùa mưa, số liệu phân tích cho thấy nam giới có nguy cơ nhiễm KSTSR không triệu chứng cao gấp 10 lần so với nam giới, với tỷ suất chênh $OR = 10$. Tương tự, liên quan giữa giới tính với tình trạng người nhiễm KSTSR không triệu chứng vào thời điểm giữa mùa khô, số liệu cũng chỉ ra nam giới có nguy cơ nhiễm KSTSR cao gấp 37,5 lần so với nam giới với tỷ suất chênh $OR = 37,5$. Số liệu này hoàn toàn phù hợp với hầu hết các điều tra dịch tễ cũng như điều tra trên

các nhóm có nguy cơ cao (dân đi rừng ngủ rẫy, làm các công việc liên quan đến rừng, qua lại biên giới hoặc có thói quen ngủ rẫy) đều thấy tỷ lệ nhiễm KSTSR có hoặc không triệu chứng ở nam giới cao hơn nữ.

Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với nhóm tuổi tại 3 xã lưu hành sốt rét khác nhau cho thấy có sự khác biệt tỷ lệ NMTKTC giữa nhóm tuổi (≥ 30 -<45) và nhóm tuổi (≥ 45 -<70) cao hơn nhóm (≥ 5 -<15) tuổi, lần lượt 1,64 và 1,46 lần và sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê vì chữ trị số 1 trong khoảng tham chiếu OR, trong khi đó nhóm tuổi (≥ 15 -<30) thấp hơn nhóm (≥ 10 -<15) tuổi, sự khác biệt không có ý nghĩa ($p=0,062$). Liên quan giữa người mang KSTSR không triệu chứng với các nhóm dân tộc khác nhau tại 3 xã có mức độ SRLH khác nhau cho thấy, phần lớn tỷ lệ NMTKTC ở nhóm dân tộc bản địa cao hơn so với các dân tộc khác lần lượt ở giữa mùa mưa là 92,3% (60/65) so với 7,7% (5/65) và giữa mùa khô là 96,9% (62/64) so với 3,1% (2/64), sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,01$).

4.3.2. Yếu tố liên quan đến tình trạng thiếu hoạt độ G6PD

Vì thiếu hoạt độ G6PD là một khiếm khuyết và bệnh lý liên quan đến di truyền liên kết giới tính X, nên các yếu tố liên quan chủ yếu không thể liên đới đến yếu tố nào ngoài giới tính và nhóm dân tộc, do vậy nghiên cứu này tập trung phân tích mối liên quan giữa thiếu G6PD với giới tính và dân tộc là chính.

Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD theo giới tính chỉ ra tỷ lệ thiếu G6PD trên nam giới là 39 ca (3,65%) và ở nữ là 26 ca (1,49%), nam thiếu gấp 2,45 lần so với nữ, sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,001$). Đặc biệt, trên nhóm nữ còn có 340 ca (19,5%) biểu hiện tình trạng bán thiếu hoạt độ G6PD, trên nam thì không, đây là một số liệu quan trọng cần quan tâm vì các thể dị hợp như thế cũng có thể nguy cơ bị tán huyết khi phơi nhiễm tác nhân oxy hóa cao.

Hơn nữa, số liệu phân tích chỉ ra liên quan giữa giới tính và tình trạng (thiếu + bán thiếu) G6PD cho thấy tình trạng thiếu-bán thiếu G6PD ở nữ cao gấp 5,8 lần so với nhóm nam giới và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,012$). Nếu chỉ tính riêng về các mẫu thiếu chứ không gộp mẫu bán thiếu ở nữ giới thì liên quan giữa giới tính và thiếu G6PD chỉ ra nam giới thiếu G6PD cao hơn so với nữ gấp 2,5 lần và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,034$). Điều này là phù hợp vì đây là

khuyết di truyền liên quan đến giới tính, gen mã hóa đột biến thiếu nằm trên nhiễm sắc thể X, nên có sự khác biệt giữa hai giới và sự khác biệt này đôi khi còn tùy thuộc vào quần thể chọn nghiên cứu và xét nghiệm khi đó có sự sai biệt giữa giới nam và nữ đưa vào phân tích tình trạng thiếu hoạt độ G6PD trên hồng cầu này.

Liên quan giữa thiếu hoạt độ G6PD với các nhóm dân tộc thấy có sự khác nhau. Trong đó, các nhóm dân tộc di cư từ các tỉnh phía Bắc vào Tây Nguyên sinh sống như Thái là 20% (1/5), Mường 12,5% (1/8), Nùng 5,7% (2/35), Dao 20% (2/10), Tày 4,8% (2/42), M'Nông 4,1% (41/1004) và Kinh 0,8% (8/1043). Các dân tộc khác từ phía Nam lên Tây Nguyên (Khơ Me, Cao Lan, Hoa và Ktu) với tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD chung là 9,1% (2/22).

Khi phân tích thiếu hoạt độ G6PD trên các nhóm dân tộc chiếm ưu thế về số lượng tham gia nghiên cứu gồm dân tộc Kinh, M'Nông, H'Mông và một nhóm các dân tộc khác (Tày, nùng, Khơ Me, Dao, Khơ Mú, Hoa,...) chỉ ra ở dân tộc M'Nông, H'Mông và các dân tộc khác thiếu hoạt độ G6PD lần lượt cao hơn gấp 5,1; 1,5 và 8,4 lần so với dân tộc Kinh. Sự khác biệt về thiếu hoạt độ G6PD giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này là phù hợp với nghiên cứu của các tác giả trong nước và quốc tế

Sự khác biệt về mặt dân tộc của các yếu tố di truyền trên nền thiếu G6PD đã được quan tâm như một yếu tố liên quan [55]. Thiếu G6PD biểu hiện bởi các biến thể di truyền trong gen mã hóa G6PD góp phần dữ liệu về bệnh lý enzyme phổ biến trên toàn cầu vốn đang ảnh hưởng khoảng 5% tổng dân số toàn cầu.

Trong khi những trường hợp mang gen thiếu G6PD như thế hầu như lại không có triệu chứng và nguy cơ chỉ ở mức tiềm ẩn nguy cơ thiếu máu tan máu cấp khi phơi nhiễm nhiễm trùng hoặc tiếp xúc với các loại thuốc khác nhau. Vì các thông tin về tình trạng hoạt độ G6PD như thế trên các bệnh nhân đóng vai trò như một thông số cận lâm sàng quan trọng để nhà lâm sàng đưa ra quyết định. Nghiên cứu của nhóm Maria Koromina và cộng sự (2021) đã tận dụng dữ liệu giải trình tự toàn bộ bộ gen của 142.069 cá nhân từ 7 quần thể người trên khắp thế giới, phân tích kết quả đã cung cấp một bản đồ chi tiết tình trạng thiếu G6PD toàn cầu.

Bằng cách lồng ghép sự phân loại chức năng trên cơ sở sử dụng mô hình tiên đoán dựa vào máy tính để mô tả đặc tính và các biến thể mới, kết quả cho thấy có sự dao động và khác biệt giữa các nhóm dân tộc về thiếu hoạt độ G6PD và các điểm nổi bật di truyền đặc hiệu quần thể. Về tổng thể, tỷ lệ bệnh ước tính trên nhóm nam giới từ 12,2% ở người châu Phi, đến 2,7 - 3,5% ở châu Á; 2,1% ở vùng Trung Đông và dưới 0,3% ở châu Âu. Tại châu Phi, phần lớn các alen thiếu G6PD chính là A-202A/376 G (tần suất alen nhỏ 11,6%) và A-968 C/376 G (0,5%). Ngược lại, thiếu hoạt độ G6PD trên nhóm Trung Đông trước tiên do các alen Mediterranean (1,3%) và biến thể Cairo đặc hiệu quần thể (0,4%). Tại Đông Nam Á, loại alen lưu hành phổ biến nhất là Mediterranean (1,7%), Kerala (1,1%), Gond (0,9%) và Orissa (0,2%), ngược lại ở quần thể Đông Á thì biến thể chính là Canton (1,1%), Kaiping (0,7%) và Viangchan (0,3%) [55].

4.4. Một số điểm hạn chế trong nghiên cứu

- Trong điều kiện kinh phí chi cho các xét nghiệm sinh học phân tử rất lớn, nên nghiên cứu chưa thể thực hiện trên một số mẫu lớn hơn và phạm vi rộng hơn, nhất là các vùng SRLH nặng, còn biến động phức tạp, do đó chưa có đủ số liệu trên toàn khu vực miền Trung-Tây Nguyên để đề ra Chiến lược áp dụng can thiệp các biện pháp tổng thể, đẩy nhanh tiến độ lộ trình LTSR;
- Nhóm nghiên cứu chưa có điều kiện điều tra cả bố và mẹ của các đối tượng thiếu hoạt độ G6PD thuộc dân tộc gì, vì có nhiều khả năng mẹ là người dân tộc Tày, Nùng, Dao, Thái, Mường,.. hoặc người đồng bào bản địa nhưng bố lại là dân tộc Kinh, nên có sự pha trộn di truyền trong quần thể, dẫn đến tỷ lệ nhiễm và biến thể G6PD thay đổi.

TÍNH MỚI, TÍNH KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN CỦA LUẬN ÁN

Tính mới

- Người mang ký sinh trùng không triệu chứng (NMTKTC) là ổ chứa bệnh tiềm tàng trong cộng đồng, có thể dẫn đến lan truyền dai dẳng nếu không được phát hiện, điều trị triệt căn, nên đây là một thách thức kỹ thuật trong LTSR;
- Thiếu hoạt độ G6PD là một rối loạn di truyền liên kết nhiễm sắc thể giới tính chiếm tỷ lệ không nhỏ trên các nhóm dân tộc thiểu số tại các vùng SRLH Tây Nguyên, đặc biệt ở Đắk Nông, nếu không được phát hiện thiếu enzyme này để khi điều trị thuốc điều trị tiết căn thể ngủ của *P. vivax* và giảm lan truyền cả *P. falciparum* và *P. vivax* dễ dẫn đến biến chứng đe dọa tính mạng bệnh nhân.

Tính khoa học

- Công cụ xét nghiệm thường quy theo Hướng dẫn của Bộ Y tế và Tổ chức Y tế thế giới hiện nay không thể bao phủ các ca nhiễm KSTSR ở mật độ thấp, nên kỹ thuật RT-qPCR được áp dụng nhằm phát hiện các ca nhiễm tiềm tàng đó, điều trị và giảm lan truyền sốt rét trong cộng đồng, đẩy nhanh tiến độ LTSR;
- Áp dụng kỹ thuật cảm biến sinh học định lượng và sinh học phân tử để giải trình tự gen, xác định tỷ lệ thiếu hoạt độ enzyme và các biến thể thiếu G6PD.

Ý nghĩa thực tiễn

- Xác định được từng ngưỡng nhiễm KSTSR không triệu chứng cho từng vùng SRLH nhằm đề xuất cho Bộ Y tế áp dụng các biện pháp phù hợp trong chiến lược LTSR, đặc biệt áp dụng mô hình chỉ định điều trị hàng loạt ở khu vực;
- Công cụ cảm biến sinh học G6PD và Hb xét nghiệm tại chỗ giúp chỉ định thuốc primaquin và tafenoquine trong điều trị diệt giao bào *P. falciparum* (chống lây lan trong cộng đồng) và diệt thể ngủ và giao bào *P. vivax* (chống tái phát xa) an toàn và tránh các biến chứng do thuốc, đồng thời đạt được sự tuân thủ từ phía bệnh nhân khi dùng thuốc.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu điều tra về tình trạng người mang trùng không triệu chứng và hoạt độ G6PD tại điểm nghiên cứu, xin rút ra một số kết luận sau:

1. Thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng tại vùng sốt rét trọng điểm huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông

- Tỷ lệ người mang trùng không triệu chứng (NMTKTC) vào thời điểm giữa mùa mưa và mùa khô đều là 4,6% (65/1413). Trong đó, vào giữa mùa mưa thì tỷ lệ dương tính với RT-qPCR ở từng xã Quảng Trực, Đắk Ngo và Đắk Buk So lần lượt 12,8% (39/305); 3,6% (16/445) và 1,5% (10/663). Trong khi đó, vào thời điểm giữa mùa khô là 12,6% (36/286); 3,6% (16/445) và 1,8% (12/665);
- Tỷ lệ NMTKTC không khác nhau giữa hai mùa, nhưng có sự khác nhau giữa các vùng LHSR của ba xã;
- Số ca dương tính ở hai mùa, 100% là thể vô tính *P. falciparum*. Thời điểm giữa mùa mưa ở xã Quảng Trực có 2 ca (0,66%) và xã Đắk Ngo có 1 ca (0,22%) có giao bào *P. falciparum*. Trong khi ở mùa khô thì không có giao bào;
- Trong số 65 và 64 trường hợp NMTKTC *P. falciparum* ở giữa mùa mưa và mùa khô đều cho thấy giới nam luôn cao hơn nữ: Giữa mùa mưa (86,15% so với 13,85%) và giữa mùa khô (93,76% so với 6,24%).

2. Thực trạng hoạt độ G6PD tại 3 xã có sốt rét lưu hành

- Tỷ lệ thiếu G6PD trên nhóm nam là 39 (3,65%) và ở nữ là 26 (1,49%) và trên nhóm nữ còn có 340 ca có bán thiếu G6PD (19,5%).
- Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD phân theo vùng SRLH có sự khác biệt có ý nghĩa, trong đó tỷ lệ thiếu G6PD ở xã Quảng Trực là 5,1% (30/591), xã Đắk Ngo là 11/890 ca (1,2%) và xã Đắk Buk So là 24/1328 (1,8%);
- Tỷ lệ thiếu hoạt độ G6PD có sự khác nhau giữa các dân tộc: Dân tộc Thái là 20% (1/5), Mường 12,5% (1/8), Nùng 5,7% (2/35), Dao 20% (2/10), Tày 4,8%(2/42), M'Nông 4,1% (41/1004) và Kinh 0,8% (8/1043);
- Dân tộc bản địa tại chỗ hoặc từ miền Nam như M'Nông, Kơ Me, Ê Đê, Lào, Hoa, K'tu là 4% (41/1024) và các dân tộc di cư từ miền Bắc là 2,16% (16/742);

- Biến thể G6PD hay gặp nhiều trên quần thể là Viangchan (871G→A) với 58/65 (89,23%), Mahidol (487G→A) với 4/65 (6,15%) và Canton với 3/65 (4,62%);
- Trên nhóm dân tộc di cư từ phía Bắc có các biến thể G6PD Mahidol là 3/65 ca (4,62%), Viangchan 12/65 (18,46%) và Canton có 1/65 (1,54%). Trong khi trên dân tộc bản địa, số ca có G6PD Vianchang 46/65 (70,77%), Canton là 2/65 (3,08%) và Mahidol là 1/65 (1,54%).

3. Một số yếu tố liên quan đến tình trạng người mang KSTSR không triệu chứng và thiếu hoạt độ G6PD trên quần thể

- Các yếu tố liên quan đến tình trạng NMTKTC gồm vùng sốt rét lưu hành ở các mức độ lưu hành khác nhau, nhóm tuổi, dân tộc và giới tính. Tuy nhiên, chưa có liên quan đến mùa khô hay mùa mưa;
- Yếu tố liên quan đến thiếu hoạt độ G6PD gồm giới tính nam cao hơn so với nữ, các dân tộc di cư từ phía Bắc vào Tây Nguyên cao có tỷ lệ thiếu cao hơn so với các dân tộc tại chỗ hoặc dân tộc từ phía Nam lên.

KHUYẾN NGHỊ

Trong chiến lược loại trừ sốt rét (LTSR) tại Việt Nam hiện đang đối mặt với nhiều thách thức về ký sinh trùng sốt rét kháng thuốc, muỗi kháng hóa chất, thiếu biện pháp quản lý hiệu quả nhóm dân di biến động vào vùng nguy cơ sốt rét, điều trị tiết căn *P. vivax*, thiếu hoạt độ G6PD và NMTKTC như ổ chứa tiềm tàng dẫn đến bệnh sốt rét dai dẳng.

- Kết quả nghiên cứu chỉ ra còn một tỷ lệ người nhiễm *P. falciparum* thể vô tính và giao bào trong cộng đồng không triệu chứng tại một vùng SRLH nặng, nếu không được phát hiện và quản lý hiệu quả dẫn đến lan truyền dai dẳng trong cộng đồng và khó loại trừ, nghiên cứu này nên nhân rộng tại các vùng SRLH nặng khác để loại bỏ ổ chứa như thế, thúc đẩy nhanh tiến trình LTSR. Hơn nữa, đây là vùng xác định *P. falciparum* đa kháng thuốc nên việc loại trừ loài *P. falciparum* nói riêng và quần thể *Plasmodium* spp. là rất quan trọng;
- Để loại trừ sốt rét do *P. vivax*, xét nghiệm hoạt độ G6PD cần phải được xem xét, để việc điều trị tiết căn bằng nhóm thuốc 8-aminoquinolines (primaquin hoặc tafenoquine) được an toàn và hiệu quả trên từng ca bệnh. Xét nghiệm tại chỗ bằng công cụ cảm biến sinh học định lượng hoạt độ G6PD có tính khả thi, tiện lợi xét nghiệm tại chỗ và đào tạo kỹ thuật đơn giản, nên có thể áp dụng trong điều trị tiết căn sốt rét do *P. vivax* tại các tuyến;
- Nghiên cứu điều tra NMTKTC và thiếu G6PD cần tiếp tục mở rộng tại các vùng SRLH để đánh giá toàn diện và đề xuất áp dụng mô hình điều trị hàng loạt trên các nhóm có tỷ lệ NMTKTC cao, áp dụng định lượng hoạt độ G6PD trên từng bệnh nhân nhiễm *P. vivax* là cần thiết để dùng thuốc hợp lý;
- Khi có đủ dữ liệu về thiếu G6PD, có thể xây dựng bản đồ tổng thể.

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ ĐĂNG TẢI

1. Nguyễn Đức Giang, Vũ Sinh Nam, Huỳnh Hồng Quang (2020). Thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng được phát hiện bằng kỹ thuật RT-qPCR tại huyện Tuy Đức và Cư Jut, tỉnh Đắk Nông. *Tạp chí Y học Dự phòng*, tập 30, số 10 (2020):139-149.
2. Nguyễn Đức Giang, Vũ Sinh Nam, Huỳnh Hồng Quang, Châu Văn Khánh (2022). Phân tích biến thể di truyền thiếu hoạt độ enzyme G6PD bằng kỹ thuật multiplex với độ phân giải cao tại vùng lưu hành sốt rét của tỉnh Đắk Nông. *Tạp chí Y học Việt Nam*, tập 521, số 1 (12/2022).
3. Nguyễn Đức Giang, Vũ Sinh Nam, Huỳnh Hồng Quang, Châu Văn Khánh, Hồ Văn Hoàng (2022). Đánh giá hoạt độ enzyme G6PD tại chỗ bằng bộ cảm biến định lượng CareStart™ tại vùng lưu hành sốt rét huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông. *Tạp chí Y học Cộng đồng Việt Nam*, ISSN 2354-0613, tập 63, số 6 (2022):204-211.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Bộ Y tế (2016). *Quyết định số 4845/QĐ-BYT ngày 08 tháng 9 năm 2016 về việc Hướng dẫn Chẩn đoán và điều trị bệnh sốt rét*, Hà Nội.
2. Bộ Y tế (2020). *Quyết định số 2699/QĐ-BYT, ngày 26 tháng 6 năm 2020 về việc Hướng dẫn Chẩn đoán và điều trị bệnh sốt rét*. Hà Nội.
3. Viện Sốt rét-Ký sinh trùng-Côn trùng TƯ (2019). Báo cáo tổng kết công tác phòng chống và loại trừ sốt rét năm 2018 và kế hoạch năm 2019.
4. Hồ Văn Hoàng, Lê Văn Tới (2000), “Nghiên cứu vai trò của điểm kính hiển vi trong chương trình PCSR tỉnh Bình Thuận 1994-1998”, *Thông tin PCSR và các bệnh ký sinh trùng, Viện Sốt rét KST-CT Hà Nội*, (1), tr.8-15.
5. Lê Đức Đào, Bùi Quang Phúc, Nguyễn Đức Giang, Hà Viết Viên (2006). “Nghiên cứu thành phần loài và cơ cấu KSTSR tại tỉnh Quảng Bình bằng kỹ thuật PCR”. *Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, ISSN 0868-3735, số 1-2006, tr. 33-38.
6. Châu Khánh Hùng, Lê Thị Việt Nga, Huỳnh Hồng Quang (2018). “Đánh giá thiếu men glucose-6-phosphatase dehydrogenase trên một số quần thể dân tộc đang sống trong vùng LHSR tại miền Trung-Tây Nguyên”. *Tạp chí Phòng chống Bệnh sốt rét và Ký sinh trùng*, ISSN 0868-3735, số 5-2018, tr.78-88.
7. Đoàn Thị Yên Nhi, Mai Thị Kim Anh, Huỳnh Hồng Quang (2019). “Biến thể di truyền thiếu men glucose-6-phosphate dehydrogenase trên một số quần thể dân tộc đang sống trong vùng lưu hành sốt rét tại miền Trung-Tây Nguyên”. *Tạp chí Phòng chống Bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, Số 3 (111)/2019, ISSN 0868-3735, tr. 54-64.
8. Đặng Thị Hồng Xuân Thủy, Châu Văn Khánh, Huỳnh Hồng Quang và cs., (2021). “Đánh giá hoạt độ enzyme G6PD tại chỗ bằng bộ cảm biến định lượng CareStart™ tại vùng SRLH *Plasmodium vivax* huyện Krông Năng, tỉnh Đắk Lắk”. *Tạp chí Truyền nhiễm Việt Nam*, Số 2(34)-2021, tr. 65-71.
9. Bùi Quang Phúc, Lê Đức Đào, Nguyễn Văn Tuấn, Nguyễn Đức Giang (2009). “Nghiên cứu cơ cấu KSTSR tại một số tỉnh vùng sốt rét lưu hành nặng bằng

kỹ thuật PCR”. *Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và Các bệnh ký sinh trùng*, ISSN 0868-3735 (1), tr. 41-48.

10. Bùi Quang Phúc, Lê Đức Đào, Nguyễn Văn Tuấn, Nguyễn Đức Giang (2011). “Nghiên cứu cơ cấu KSTSR tại một số tỉnh vùng SRLH nặng bằng kỹ thuật PCR”. *Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, ISSN 0868-3735 (3), tr.37-43.
11. Huỳnh Hồng Quang, Triệu Nguyên Trung, Ngô Thị Đức (2007). “Xác định tỷ lệ thiếu G6PD và liên quan giữa thiếu G6PD với thiếu máu trên các nhóm dân tộc tại vùng sốt rét lưu hành ở miền Trung-Tây Nguyên, Việt Nam”. *Hội nghị Quốc gia về bệnh ký sinh trùng lần thứ 34*, ĐH Y Phạm Ngọc Thạch: 35-44
12. Tạ Thị Tĩnh, P.Verlé, Đoàn Hạnh Nhân, Nguyễn Diệu Thường và cs., (1999). “Thiếu enzym glucose 6 phosphate dehydrogenase hồng cầu và máu ngoại vi tại huyện Kim Bôi-Hòa Bình”. *Báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc Hà Nội*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr. 210-215.
13. Tạ Thị Tĩnh, Lê Minh Đạo, Nguyễn Minh Hùng và cs., (2004). “Phương pháp phát hiện nhanh thiếu s G6PD hồng cầu”. *Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, số 1, tr. 27-32.
14. Tạ Thị Tĩnh, Lê Minh Đạo, Nguyễn Minh Hùng và cs., (2006). “Thiếu enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase trong một số nhóm dân tộc khác nhau tại Việt Nam”. *Hội nghị Quốc gia về Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng (2001-2005)*. Nhà xuất bản Y học, 2006.
15. Nguyễn Văn Tuấn, Lê Đức Đào, Bùi Quang Phúc, Nguyễn Đức Giang và cs., (2003). “So sánh độ nhạy, độ đặc hiệu giữa kỹ thuật giâm sa, test nhanh, phản ứng PCR phát hiện KSTSR tại xã Đắk Song, Gia Lai 2002”. *Tạp chí Phòng chống bệnh Sốt rét và bệnh ký sinh trùng*, ISSN 0868-3735 (3), tr. 55-63.

Tài liệu tiếng Anh

16. Abbas, A. M., Sarkinfada, F. Dabo *et al.*, (2017). Comparative study of malaria parasite diagnosis: Microscopy and rapid diagnostic-testing. *Nigerian Journal of Parasitology*, ISSN 1117 4145, Vol.38(2).

17. Abtie Abebaw, Yibeltal Aschale, Asrat Hailu *et al.*, (2022). The prevalence of symptomatic and asymptomatic malaria and its associated factors in Debre Elias communities, Northwest Ethiopia. *Malaria Journal* (2022) 21:167.
18. Akash Ramaswamy, Chakrapani Mahabala, Animesh Jain *et al.*, (2020). Asymptomatic malaria carriers and their characterization in hotpops of malaria at Mangalore. *Trop Parasitol.* 2020 Jun; 10(1):24-28.
19. Akira Hirono, Shiro Miwa *et al.*, (1993) Human G6PD: Structure and function of normal and variant enzyme. *Haematologia*, vol 25(2):85-97.
20. Anthony C, Mahmud R, Lau Y.L *et al.*, (2013). Comparison of two nested PCR methods for the detection of human malaria. *Tropical Biomedicine* 30(3): 459-466.
21. Arantxa Roca-Feltrer, Nimol Khim, Saorin Kim *et al.*, (2014). Field trial evaluation of the performances of point-of-care tests for screening G6PD deficiency in Cambodia. *PLoS ONE* 9(12):e116143.
22. Bancone G, Gornsawun G, Chu CS, Porn P, Bansil P *et al.* (2018) Validation of the quantitative point-of-care CareStart biosensor for assessment of G6PD activity in venous blood. *PLoS ONE* 13(5): e0196716
23. Bancone G, Menard D, Kim S, Huynh Hong Quang, Nguong C *et al.* (2019). Molecular characterization and mapping of G6PD mutations in the Greater Mekong Subregion. *Malaria journal*, 18(1):18-20.
24. Pedro Berzosa, Aida de Lucio *et al.*, (2018). Comparison of three diagnostic methods (microscopy, RDT, and PCR) for the detection of malaria parasites in representative samples from Equatorial Guinea. *Malar J* (2018) 17:333.
25. Cho Naing, Norah Htet Htet, Maxine A. Whittaker *et al.*, (2022). Detection of asymptomatic malaria in Asian countries: A meta-analysis of diagnostic accuracy. *Malaria Journal* (2022):21:50.
26. Chen I, Clarke SE, Gosling R *et al.*, (2016). Asymptomatic malaria: A chronic and debilitating infection that should be treated. *PLoS Med.*;13:e1001942.
27. Chu CS, White N J *et al.*, (2016). Management of relapsing *Plasmodium vivax* malaria. Expert review of anti-infective therapy, 14(10):885-900.

28. Chu CS, Bancone G, Moore KA, Thitipanawan N *et al.* (2017). Haemolysis in G6PD heterozygous females treated with primaquin for *Plasmodium vivax* malaria: A nested cohort in a trial of radical curative regimens. *PLoS Medicine*, 14(2):e1002224.
29. Chu CS, Freedman D.O *et al.*, (2019). Tafenoquine and G6PD: A primer for clinicians. *Journal of travel medicine*, 26(4), taz023.
30. Cui L, Yan G, Sattabongkot J, Cao Y, Chen B *et al.*, (2012). Malaria in the Greater Mekong Subregion: Heterogeneity and complexity. *Acta Tropica* 2012;121:227-239.
31. Gretchen Newby, Jimmie Hwang, Kadiatou Koita, Ingrid Chen *et al.*, (2015). Review of mass drug administration and primaquin use for malaria and its operational challenges. *The Malaria Elimination Initiative, Global Health Group, University of California*.
32. Hiroyuki Matsuoka, Dang Thi Vinh Thuan, Toshio Kanbe *et al.*, (2007). Seven different glucose-6-phosphate dehydrogenase variants including a new variant distributed in Lam Dong province in Southern Vietnam. *Acta Med. Okayama*, Vol. 61, No. 4:213-219.
33. Hofmann N, Mwingira F, Shekalaghe S, Robinson LJ *et al.*, (2015). Ultrasensitive detection of *Plasmodium falciparum* by amplification of multi-copy subtelomeric targets. *PLoS Med* 12(3): e1001788.
34. Nguyen Thi Hue, Jean Paul Charlier *et al.*, (2009). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations and haemoglobinuria syndrome in the Vietnamese population. *Malaria Journal* 2009,8:152.
35. Nguyen Thi Hue, Dang Thi Lan Anh, Huynh Le Thao Trinh (2013). Common mutations in G6PD of Vietnamese - Kinh deficient patients. *African Journal of Biotechnology* Vol. 12(12):1318-1325.
36. Nguyen Minh Hung, Hiroyuki Matsuoka, Toshihiro Mita, Ta Thi Tinh *et al.*, (2009). Glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in three minority ethnic groups in Central and Northern Vietnam. *Tropical Medicine and Health* Vol. 37 No. 1, 2009:17-20.

37. Imwong M, Hanchana S, Malleret B, Rénia L, Day NP *et al.*, (2014). High-throughput ultrasensitive molecular techniques for quantifying low-density malaria parasitemias. *J Clin Microbiol.* 2014;52:3303-9.
38. Imwong M, Nguyen TN, Tripura R, Lee SJ *et al.*, (2015). The epidemiology of subclinical malaria infections in South-East Asia: findings from cross-sectional surveys in Thailand-Myanmar border areas, Cambodia, and Vietnam. *Malar J.*;14:381.
39. Isaac Ghinai, Jackie Cook, Teddy Tun Win Hla *et al.*, (2017). Malaria epidemiology in Central Myanmar: Identification of a multispecies asymptomatic reservoir of infection. *Malar J (2017)*16:16.
40. Joseph Okebe, Teun Bousema, Gian Luca Di Tanna *et al.*, (2014). The gametocytocidal efficacy of primaquin in malaria asymptomatic carriers treated with dihydroartemisinin-piperaquine in the Gambia: Study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* (2015)16:70.
41. Kim A Lindblade, Laura Steinhardt, Aaron Samuels *et al.*, (2014). The silent threat: Asymptomatic parasitemia and malaria transmission. *Expert review of anti-infective therapy*, 11:6,623-639.
42. Lucio Luzzatto, Paolo Arese (2018). Favism and the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *N Engl J Med* 2018; 378:60-71.
43. Matsuoka Hiroyuki, Meiji Arai, Heyno Kerong *et al.*, (2003). Five different G6PD variants found among eleven G6PD-deficiency in persons in Flores island, Indonesia. *Human genetic*, (48):541-543.
44. Matsuoka Hiroyuki, Wang Jichun *et al.*, (2003). Two case of G6PD Nepalese belonging to the G6PD Mediterranean-type, not India-Pakistan sub-type but Mediterranean-Middle East sub-type. *Human genetic* 48:275-277.
45. Nguyen TN, Von Seidlein L, Nguyen TV *et al.*, (2018). The persistence and oscillations of submicroscopic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections over time in Vietnam: An open cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2018; 18:565-572.

46. Oo NN, Bancone G, Maw LZ, Chowwiwat N, Domingo, GJ *et al.* (2016). Validation of G6PD point-of-care tests among healthy volunteers in Yangon, Myanmar. *PloS one*, 11(4):e0152304.
47. Pfeffer DA, Ley B, Howes RE, Adu P, Bansil P *et al.*, (2020). Quantification of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity by spectrophotometry: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Med* 17(5): e1003084
48. Panich V, Fumihiko Kawamoto, Indah S. Tantular (2021). Distribution of G6PD deficiency genotypes among Southeast Asian populations. *Tropical Medicine and Health* volume 49, Article number: 97 (2021):49-97
49. Pengboon P, Thamwarokun A, Chomean S *et al.*, (2019). Evaluation of quantitative biosensor for glucose-6-phosphate dehydrogenase activity detection. *PLoS One* 14(12): e0226927
50. Rueangweerayut R, Bancone G, Möhrle J *et al.* (2017). Hemolytic potential of tafenoquine in female volunteers heterozygous for G6PD deficiency (Mahidol variant) versus G6PD normal volunteers. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(3):702-711.
51. Natalie E Hofmann, Maria Gruenberg, Alice Ura *et al.*, (2018). Assessment of ultra-sensitive malaria diagnosis versus standard molecular diagnostics for malaria elimination: An in-depth molecular community cross-sectional study. *Lancet Infect Dis* 2018;18:1108-16.
52. Lorenz von Seidlein, Jordi Landier, Thuy Nhien Nguyen *et al.*, (2019). The impact of targeted malaria elimination with mass drug administrations on falciparum malaria in Southeast Asia: A cluster randomised trial. *PLoS Med* 16(2): e1002745.
53. Thuy Nhien Nguyen, Huynh Hong Quang, Lorenz von Seidein, Nicholas J. White, Tran Tinh Hien *et al.*, (2017). Community perceptions of targeted anti-malarial mass administration in two provinces in Vietnam: A quantitative survey. *Malaria journal* (2017): 16:17.

54. Peipei Li, Zhenjun Zhao, Ying Wang, Daniel M Parker *et al.*, (2014). Nested PCR detection of malaria directly using blood filter paper samples from epidemiological surveys. *Malaria Journal*, 13:175.
55. Maria Koromina, Maria Theodora Pandi, Volker M. Lauschke *et al.*, (2021). The ethnogeographic variability of genetic factors underlying G6PD deficiency. *Pharmacological research*, <https://doi.org/10.1016/>
56. Melanie Bannister-Tyrrell, Set Srun, Vincent Sluydts *et al.*, (2018). Importance of household-level risk factors in explaining microepidemiology of asymptomatic malaria infections in Ratanakiri province, Cambodia. *Scientific report* 8:11643.
57. Nsubuga P, White ME, Thacker SB, Anderson MA *et al.*, (2006). Public health surveillance: A tool for targeting and monitoring interventions in disease control priorities in developing countries, 2nd edition.
58. Obinna Onwujekwe, Eric Obikeze *et al.*, (2010). Improving quality of malaria treatment services: Assessing inequities in consumers' perceptions and providers' behaviour in Nigeria. *Int. J. for Equity in Health*, 9:22.
59. Philippe Gillet, Annelies Scheirlinck, Jocelijn Stokx *et al.*, (2011). Prozone in malaria rapid diagnostics tests: How many cases are missed? *Malaria Journal* 2011, 10:166.
60. Poirot E, Skarbinski J, Kachur SP *et al.*, (2013). Mass drug administration for malaria - Review. The Cochrane collaboration and published in *The Cochrane Library* 2013, Issue 12
61. Huynh Hong Quang, Nguyen Thị Minh Trinh, Le Thi Hong Hanh *et al.*, (2016). The role of nested-PCR in real positive confirmed human *Plasmodium* spp. in asymptomatic carriers in context of malaria elimination roadmap in Vietnam. *Journal for malaria and parasitic disease control*, No. 6(95)/2016, ISSN 0868-3735, pp.51-56.
62. Stephanie I, Studniberg Garnham Diana S Hansen *et al.*, (2022). Molecular profiling reveals features of clinical immunity and immunosuppression in

asymptomatic *P. falciparum* malaria. *Molecular Systems Biology* (2022)18:e10824

63. Tiengkham Pongvongsa, Koukeo Phommasone, Bipin Adhikari *et al.*, (2018). The dynamic of asymptomatic *P. falciparum* infections following mass drug administrations with dihydroartemisinin-piperaquin plus a single low dose of primaquin in Savannakhet province, Laos. *Malar J* (2018) 17:405.
64. Rupam Tripura, Thomas J. Peto, Christianne C. Veugen *et al.*, (2017). Submicroscopic *Plasmodium* prevalence in relation to malaria incidence in 20 villages in western Cambodia. *Malar J* (2017) 16:56.
65. Seleshi Kebede Mekonnen, Abraham Aseffa *et al.*, (2014). Re-evaluation of microscopy confirmed *P. falciparum* and *P. vivax* malaria by nested PCR detection in Southern Ethiopia. *Malaria Journal* 2014, 13:48.
66. Tadesse FG, Pett H, Baidjoe A *et al.*, (2015). Submicroscopic carriage of *P. falciparum* and *P. vivax* in a low endemic area in Ethiopia where no parasitaemia was detected by microscopy or RDTs. *Malar J*, (14):303.
67. Tamar Carter, Karen Lopez, Victoria Bonnell, Daniel A. Janies *et al.* (2018). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency genetic variants in malaria patients in Southwestern Ethiopia. *Am J Trop Med Hyg.* 2018 Jan;98(1):83-87.
68. Thomas A. Weppelmann, Michael E. von Fricken, Bernard A. Okech (2017). Field trial of the CareStart biosensor analyzer for the determination of G6PD activity in Haiti. *Am J Trop Med Hyg.* 2017 Oct 11; 97(4):1262-1270.
69. University of California in Sans Francisco (2014). Review of mass drug administration and primaquin use prepared for the Bill and Melinda Gates Foundation, January 2014.
70. University of California in Sans Francisco (2016). APMEN Country briefing: Elimination malaria in Vietnam. Malaria Elimination Initiative, Global Health Group
71. Wampfler R, Mwingira F, Javati S, Robinson L *et al.*, (2013). Strategies for detection of *Plasmodium* species gametocytes. *PLoS One.* 2013;8(9):e76316.

72. WHO (2005). The role of parasitological diagnosis to support malaria disease management: Focus on the use of RDTs in areas of high transmission.
73. WHO (2010). Parasitological confirmation of malaria diagnosis. Report of a World Health Organisation Technical consultation Geneva.
74. WHO (2011). Universal access to malaria diagnostic testing. An operational manual.
75. WHO (2014). Policy recommendation on malaria diagnostics in low transmission settings.
76. WHO (2015). Global technical strategy for malaria (2016-2030).
77. WHO (2015). Strategy for malaria elimination in the Greater Mekong Subregion (2015-2030).
78. WHO (2015). Point-of-care G6PD testing to support safe use of primaquin for the treatment of vivax malaria. WHO Evidence review group meeting report 8-9 Oct.2014, WHO/UNAIDS building, Geneva, Switzerland.
79. WHO (2016). Policy brief, testing for G6PD deficiency for safe use of primaquin in radical cure of *P. vivax* and *P. ovale* malaria.
80. WHO (2016). WHO investigates reports of missing gene among malaria parasites and possible impact on RDT performance.
81. WHO (2016). Malaria microscopy quality assurance manual, Version. 2
82. WHO (2016). Eliminating Malaria in the Greater Mekong Subregion. United to end a deadly disease. WHO Geneva, Switzerland.
83. WHO (2017). False-negative RDT results and implications of new reports of *P. falciparum* histidine-rich protein 2/3 gene deletions.
84. WHO (2018). Guide to G6PD deficiency rapid diagnostic testing to support *P. vivax* radical cure.
85. WHO (2018). WHO external quality assurance scheme for malaria nucleic acid amplification testing. Operational manual.
86. WHO (2019). World Malaria Report.
87. WHO (2019). WHO malaria terminology - Global Malaria programme
88. WHO (2020). World Malaria Report.

89. WHO (2021). World Malaria Report.
90. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2539> - National Center for Biotechnology Information, National library of medicine-NIH.

PHỤ LỤC

Phụ lục A. MẪU BÁO CÁO TRƯỜNG HỢP THAM GIA NGHIÊN CỨU

ĐIỂM THEO DÕI ĐIỀU TRA	
Tên xã:	Khu vực: Tây Nguyên
Huyện: Tuy Đức	Tỉnh: Đắk Nông

MẪU ĐƠN TỰ NGUYỆN VÀ ĐỒNG Ý THAM GIA		
Số Nghiên cứu: Mã: ____	Ngày: ____ / ____ / 201 ____ NN TT NNNN	Đã ký đơn tự nguyện tham gia: ☐ Không ☐ Có Đã ký đơn đồng ý tham gia: ☐ Không ☐ Có

DỮ LIỆU NHÂN KHẨU HỌC	
Nghề nghiệp: _____	
Tuổi: ____ tuổi	Cân nặng: ____ . ____ kg
Giới tính (chỉ tích ☒ vào một ô):	☐ Nam ☐ Nữ

TIÊU CHUẨN TUYỂN CHỌN NGHIÊN CỨU
1. Trẻ em (≥ 5 tuổi) và người lớn dưới hoặc bằng 70 tuổi; 2. Làm việc hoặc sinh sống tại các xã được nghiên cứu; 3. Có thể cung cấp thông tin và mẫu máu chích đầu ngón tay; 4. Có mẫu đơn tự nguyện tham gia nghiên cứu đối với người lớn hoặc trong trường hợp là trẻ em từ 17 tuổi trở xuống (cả mẫu đơn đồng ý của trẻ em từ 10 đến 17 tuổi) có sự cho phép của người lớn hoặc người giám hộ

TIÊU CHUẨN LOẠI TRỪ KHỎI NGHIÊN CỨU
1. Những người dưới 5 tuổi hoặc lớn hơn 70 tuổi; 2. Không sẵn lòng chấp thuận tham gia, không cung cấp thông tin và mẫu máu đầu ngón tay; 3. Không thể giao tiếp tốt với cán bộ nghiên cứu (chậm phát triển trí tuệ hoặc có dấu hiệu rối loạn tâm thần); 4. Bất kỳ tình trạng sức khỏe nào, mà trong đó bác sĩ kết luận là việc tham gia vào nghiên cứu gây hại cho người tham gia về sau.

Bệnh nhân này có đáp ứng tiêu chuẩn loại trừ khỏi nghiên cứu?..... ☐ Có ☐ Không

SỰ DI CHUYỂN CỦA NGƯỜI THAM GIA TRONG VÒNG 2 TUẦN QUA	
Trong vòng hai tuần qua bạn có sống trong rừng không? ☐ Có ☐ Không	
Nếu “Có”, thì bạn có dùng màn khi ngủ không? ☐ Hằng đêm ☐ Vài lần một tuần	

KHÁM THỰC THỂ			
Thời gian kiểm tra: ____ ____ : ____ ____ (giờ:phút)			
Nhịp tim/ mạch: ____ ____ ____ /phút.		Nhịp thở: ____ ____ ____ /phút	
Thời gian: ____ ____ : ____ ____ (giờ:phút)			
☐ Nhiệt độ đo ở tai ____ ____ . ____ °C			
Các lam máu dùng để đếm mật độ ký sinh trùng trong ca nhiễm đơn thuần hoặc nhiễm phối hợp sốt rét <i>P. falciparum</i>, <i>P. vivax</i> và <i>P. malariae</i>			
Mật độ ký sinh trùng <i>P. falciparum</i> nhiễm đơn thuần vô tính			
____ ____ ____ / μ L			
Mật độ ký sinh trùng <i>P. vivax</i> nhiễm đơn thuần vô tính			
____ ____ ____ / μ L			
Mật độ ký sinh trùng <i>P. malariae</i> nhiễm đơn thuần vô tính			
____ ____ ____ / μ L			
Mật độ ký sinh trùng <i>P. falciparum</i> / <i>P. vivax</i> / <i>P. malariae</i> nhiễm phối hợp thể vô tính			
____ ____ ____ / μ L -/- ____ ____ ____ / μ L			
<i>Khoanh tròn hai loài Plasmodium spp.</i>			
Bệnh sử cá nhân trong vòng 3 ngày qua			
Dấu chứng/ Triệu chứng	Có	Không	Bàn luận
Run lạnh	☐	☐	
Đỏ mề hôi	☐	☐	
Đau đầu	☐	☐	
Đau bụng	☐	☐	
Chán ăn	☐	☐	
Mệt mỏi	☐	☐	
Đau cơ	☐	☐	
CÁC MẪU XÉT NGHIỆM CẬN LÂM SÀNG			
1. Lam máu giọt mỏng và giọt dày x 2		☐ Có	☐ Không
2. Hai ống/lọ máu chích đầu ngón tay		☐ Có	☐ Không
3. Đánh giá thiếu men G6PD		☐ Có	☐ Không
4. Hemoglobine		☐ Có	☐ Không
Chữ ký nháy cán bộ kỹ thuật: ____ ____		Thời gian: ____ ____ : ____ ____ (giờ:phút)	
Tên và chữ ký bác sĩ: _____			

Phụ lục B. BẢNG CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU DÀNH CHO NGƯỜI LỚN

1. Mục đích của nghiên cứu

Bạn đã được mời tham gia vào nghiên cứu sốt rét này tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông. Sốt rét là một bệnh nguy hiểm gây ra bởi một loài ký sinh trùng truyền thông qua muỗi đến người và gây ra các triệu chứng như sốt, đau cơ, đau đầu, buồn nôn, nôn mửa, mệt mỏi và tử vong nếu không được điều trị hiệu quả. Bộ Y tế Việt Nam đang hướng tới việc Loại trừ sốt rét (LTSR) vào năm 2030. Để có thể đạt được mục tiêu này, cần phải có thông tin về tỷ lệ nhiễm sốt rét ở những người không biểu hiện triệu chứng. Những người này có mật độ ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) trong máu rất thấp và điều này khiến sốt rét tiếp tục lan truyền. Chúng tôi mời người dân từ xã của bạn tham gia vào nghiên cứu này để xác định có bao nhiêu người mang trong mình một số lượng nhỏ KSTSR trong máu, từ đó Bộ Y tế có thể thiết kế các quy trình LTSR khỏi Việt Nam. Nghiên cứu này được tiến hành bởi Viện Sốt rét-KST-CT Quy Nhơn.

Xin vui lòng dành thời gian đọc thông tin này cẩn thận, đặt bất kỳ câu hỏi nào mà bạn có, điều này giúp bạn hiểu rõ điều gì xảy ra với bạn trong suốt quá trình nghiên cứu. Sau đó hãy cân nhắc việc bạn có muốn tham gia hay không. Nếu bạn cần thêm thời gian đọc thông tin này, hãy nói với nhóm nghiên cứu từ Viện. Bạn được cung cấp một bản sao tờ thông tin này để mang về nhà đọc. Sự tham gia của bạn vào nghiên cứu này là hoàn toàn tự nguyện. Bạn có thể quyết định không tham gia vào nghiên cứu này mà không cần có lý do gì. Nếu bạn không muốn tham gia vào nghiên cứu, bạn vẫn nhận được sự điều trị miễn phí đối với bệnh sốt rét của bạn. Nếu bạn đồng ý tham gia vào nghiên cứu này, bạn có thể rút lui bất cứ lúc nào mà không hề mất quyền lợi ích nào mà bạn có quyền được nhận.

Những quyền lợi và sự liên quan của bạn vào nghiên cứu này

Bạn được mời trả lời các câu hỏi về bạn và sự tiếp xúc và bảo vệ của bạn khỏi bệnh sốt rét, chúng tôi tiến hành khám sức khỏe để xác định tình trạng sức khỏe chung của bạn và bạn được mời cung cấp mẫu máu chích đầu ngón tay (một vài giọt) để xét nghiệm liệu bạn có bị sốt rét hay không.

Máu của bạn được sử dụng làm gì cho nghiên cứu này

Mẫu máu chích đầu ngón tay của bạn được sử dụng để làm các lam máu để xác định sự tồn tại và mật độ ký sinh trùng trong máu bạn và chủng loài sốt rét được xác định bằng kính hiển vi. Nếu có KSTSR trong máu bạn thì bạn được điều trị bởi cán bộ trạm y tế theo các hướng dẫn của Bộ Y tế. Máu thu được từ đầu ngón tay bạn được đưa vào các ống nhỏ để xác định số lượng nhỏ KSTSR trong máu dựa trên các xét nghiệm trong phòng thí nghiệm. Chúng tôi giữ các mẫu máu ẩn danh của các bạn trong khoảng 10 năm từ lúc lấy máu và nếu có các

thiết bị hoặc phương pháp mới phát hiện sốt rét được phát triển, chúng tôi có thể xét nghiệm lại các mẫu này của bạn bằng các thiết bị hoặc phương pháp mới kia chỉ để chẩn đoán sốt rét.

Những rủi ro và khó chịu

Việc lấy máu đầu ngón tay gây ra một đau buốt nhẹ và thoáng qua. Nhóm nghiên cứu Viện giàu kinh nghiệm lấy máu từ đầu ngón tay bạn. Có rất ít nguy cơ nhiễm trùng khi chích kim vào ngón tay bạn. Nếu bạn cảm thấy chóng mặt do đau hoặc do nhìn thấy máu, xin vui lòng nói cho cán bộ Viện để họ giúp bạn nằm xuống.

Chữ ký của người tham gia: _____

Bảng câu hỏi

Trả lời các câu hỏi có liên quan đến nghiên cứu như là sự di chuyển của bạn trong vòng hai tuần qua và bạn có từng sử dụng các biện pháp phòng ngừa sốt rét không?

Lợi ích

Kết quả từ nghiên cứu này giúp Bộ Y tế thiết kế các quy trình loại trừ sốt rét khỏi cộng đồng của bạn trong tương lai.

Bảo vệ thông tin cá nhân

Tất cả cán bộ đảm bảo thông tin cá nhân và sự an toàn của bạn được bảo mật trong suốt và sau khi nghiên cứu. Tên của bạn không xuất hiện trên các mẫu bệnh phẩm. Chỉ nhóm nghiên cứu biết ai tham gia. Mẫu đơn tự nguyện tham gia và thông tin của bạn được lưu tại Viện, trong một tủ hồ sơ có khóa. Chúng tôi báo cáo về những kết quả nghiên cứu này, nhưng tên của bạn không xuất hiện trên bất kỳ bản báo cáo hoặc bài thuyết trình nào.

Khoản bồi dưỡng

Bạn không nhận được tiền hoặc quà từ việc tham gia vào nghiên cứu

Những câu hỏi

Nếu bạn có bất kỳ câu hỏi, phàn nàn hoặc lo lắng nào về việc tham gia vào nghiên cứu, bạn có thể gọi điện hoặc tới gặp các thành viên nhóm nghiên cứu Viện để thảo luận về những mối lo ngại của bạn với họ. Ngoài ra, bạn có thể liên lạc với TS.BS. Huỳnh Hồng Quang (số ĐD 0905.103496) tại Viện để được giải đáp các câu hỏi và thắc mắc của bạn. Nếu bạn có các câu hỏi về nghiên cứu và quyền lợi của bạn với vai trò là một người tham gia, bạn có thể liên lạc tới Hội đồng Đạo đức Y Sinh tại Viện. Nếu bạn không thể sử dụng điện thoại, cán bộ Viện có thể giúp bạn liên lạc với Hội đồng Đạo đức Y sinh tại Viện.

Sau khi bạn đã hoàn toàn hiểu rõ điều xảy ra với bạn khi tham gia vào nghiên cứu, bạn cần phải ký tên mình hoặc cung cấp điểm chỉ ngón tay (lấn tay) vào mẫu đơn tự nguyện tham gia. Khi ký tên vào có nghĩa là bạn đã nhận được một bản sao của mẫu đơn tự nguyện tham gia này và hiểu rằng việc ký tên vào mẫu đơn chứng tỏ bạn sẵn lòng tham gia vào nghiên cứu này.

Chữ ký của người tham gia: _____

ĐƠN CHẤP THUẬN THAM GIA DÀNH CHO NGƯỜI LỚN (≥ 18 TUỔI)

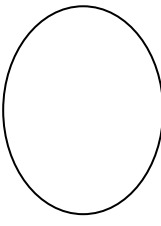
Tên đề tài: Thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng và thiếu enzyme G6PD trong cộng đồng tại một số vùng sốt rét trọng điểm (2018-2020)

Chủ nhiệm đề tài: TS.BS. Huỳnh Hồng Quang, IMPE Quy Nhơn, Việt Nam.

Tham gia nghiên cứu: Ths. Nguyễn Đức Giang, NIMPE, Việt Nam

Chữ ký của bạn trên đơn tự nguyện tham gia này cho thấy bạn đã được giải thích về nghiên cứu và bạn đã có thời gian đặt câu hỏi. Bạn đồng ý tình nguyện tham gia vào nghiên cứu. Thông tin thu thập từ bạn được giữ riêng tư và dùng vì mục đích của nghiên cứu. Các kết quả nghiên cứu của bạn được cung cấp nếu bạn yêu cầu và bất kỳ báo cáo được công bố nào của nghiên cứu này bảo vệ thông tin cá nhân của bạn. Bạn cũng cần hiểu rằng bạn không bắt buộc phải tham gia vào nghiên cứu này và bạn hoàn toàn có thể rút lui khỏi nghiên cứu bất kỳ lúc nào bạn muốn mà không bị mất đi những quyền lợi được chăm sóc y tế trong tương lai của mình.

Bạn được cung cấp một bản sao của mẫu đơn tự nguyện/ thông tin đã ký để lưu trữ. Nếu bạn có bất kỳ lo lắng gì về việc nghiên cứu này được tiến hành như thế nào, xin vui lòng đến và gặp trực tiếp các chủ nhiệm đề tài.

		<u> </u> / <u> </u> / <u> </u> NN TT NNN
Tên người tham gia (Chữ in)		
Chữ ký người tham gia	(Điểm chỉ ngón tay cái)	

Chữ ký người làm chứng: Nếu người tham gia không biết chữ, một người làm chứng biết chữ phải ký. Người làm chứng có thể là một người bạn, họ hàng hoặc người đại diện/ người đứng đầu xã. Nếu có thể, người này nên được do bạn lựa chọn và không có mối liên hệ nào với nhóm nghiên cứu Viện.

Tôi đã làm chứng việc đọc chính xác mẫu đơn tự nguyện tham gia này cho người tham gia, người này đã có cơ hội đặt ra các câu hỏi thắc mắc. Tôi xác nhận rằng người tham gia này tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Tên của người làm chứng bằng chữ in:	
Chữ ký người làm chứng:	

Phụ lục C

BẢNG THÔNG TIN NGƯỜI THAM GIA VÀ MẪU ĐƠN CHO PHÉP THAM GIA CỦA CHA MẸ/ NGƯỜI GIÁM HỘ ĐỐI VỚI TRẺ EM (≤ 17 TUỔI)

Mục đích của nghiên cứu

Con của bạn được mời tham gia vào nghiên cứu sốt rét này tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông. Sốt rét là một căn bệnh nguy hiểm gây ra bởi một loài ký sinh trùng truyền từ muỗi cho người và gây ra các triệu chứng sốt rét như sốt, đau cơ, đau đầu, buồn nôn, nôn mửa, mệt mỏi và tử vong nếu không được chữa trị hiệu quả. Bộ Y tế Việt Nam đang hướng tới việc loại trừ sốt rét vào năm 2030. Để có thể đạt được mục tiêu này, cần phải có thông tin về tỷ lệ nhiễm sốt rét ở những người không biểu hiện triệu chứng sốt rét. Những người này có mật độ ký sinh trùng trong máu rất thấp và điều này khiến cho sốt rét tiếp tục lan truyền. Chúng tôi mời người dân từ xã của con các bạn tham gia vào nghiên cứu này để xác định có bao nhiêu người mang trong người mật độ thấp KSTSR trong máu, từ đó Bộ Y tế có thể thiết kế các quy trình loại trừ sốt rét khỏi Việt Nam. Nghiên cứu này được tiến hành bởi Viện Sốt rét-Ký sinh trùng-Côn trùng (IMPE) trực thuộc Bộ Y tế.

Với tư cách là cha mẹ hoặc người giám hộ của trẻ em, bạn đã được yêu cầu dành thời gian đọc thông tin này cẩn thận, đặt bất kỳ câu hỏi nào mà bạn có, điều này giúp bạn hiểu rõ điều gì xảy ra với con bạn trong suốt quá trình nghiên cứu. Con của bạn không bị bắt buộc phải tham gia vào nghiên cứu này, việc tham gia là tự nguyện. Bạn có thể quyết định việc không cho con mình tham gia nghiên cứu mà không cần có lý do gì. Nếu không muốn con bạn tham gia vào nghiên cứu, con bạn vẫn nhận được sự điều trị miễn phí đối với bệnh sốt rét. Nếu bạn đồng ý cho con tham gia vào nghiên cứu này, bạn có thể để con mình rút lui bất cứ lúc nào mà không hề mất mát lợi ích nào mà con bạn có quyền được nhận

Những quyền lợi và sự liên quan của con bạn vào nghiên cứu

Con của bạn được mời trả lời các câu hỏi về chúng, sự phơi nhiễm và biện pháp bảo vệ chúng khỏi bệnh sốt rét, chúng tôi tiến hành khám để xác định tình trạng sức khỏe chung của con bạn và con bạn được lấy mẫu máu chích từ đầu ngón tay (một vài giọt) để xét nghiệm liệu con bạn có bị sốt rét hay không.

Máu của con bạn được dùng làm gì cho nghiên cứu

Mẫu máu chích đầu ngón tay của con bạn được dùng để tạo ra các lam máu để xác định sự tồn tại và mật độ ký sinh trùng trong máu con bạn, chủng loài sốt rét được xác định bằng kính hiển vi. Nếu có KSTSR trong máu thì con bạn được điều trị bởi cán bộ trạm y tế theo các hướng dẫn của Bộ Y tế. Máu thu được từ đầu ngón tay được đưa vào các ống nhỏ để xác định số lượng nhỏ ký sinh trùng trong máu dựa trên các xét nghiệm trong phòng thí nghiệm. Chúng tôi giữ các mẫu máu ẩn danh của con bạn trong khoảng 10 năm kể từ lúc lấy máu và nếu có các thiết bị hoặc phương pháp mới phát hiện sốt rét được phát triển, chúng tôi có thể xét nghiệm lại các mẫu này bằng các thiết bị /hoặc phương pháp mới kia chỉ để chẩn đoán sốt rét.

Những rủi ro và khó chịu

Việc lấy máu đầu ngón tay của trẻ có thể gây đau buốt nhẹ và thoáng qua. Nhóm nghiên cứu IMPE giàu kinh nghiệm lấy máu từ đầu ngón tay con của bạn. Có rất ít nguy cơ nhiễm trùng khi chích kim vào ngón tay con của bạn. Nếu con bạn cảm thấy chóng mặt do đau hoặc do nhìn thấy máu, xin vui lòng nói cho cán bộ IMPE để họ giúp con bạn nằm xuống.

Chữ ký của cha, mẹ/ người giám hộ của trẻ tham gia: _____

Bảng câu hỏi

Trả lời các câu hỏi có liên quan đến nghiên cứu như là sự di chuyển của con bạn trong vòng hai tuần qua và con bạn có từng sử dụng các biện pháp phòng ngừa sốt rét không?

Lợi ích: Nếu chúng tôi phát hiện có ký sinh trùng sốt rét trong máu của con bạn qua soi dưới kính hiển vi thì con của bạn được điều trị tại bệnh viện huyện/ trạm y tế xã gần nhất theo Hướng dẫn điều trị sốt rét của Bộ Y tế. Mặc dù, phải mất đến vài tháng kể từ khi lấy máu để cho ra kết quả phân tích tại phòng xét nghiệm để xác định con bạn có một mật độ ký sinh trùng thấp trong máu mà không gây ra bất cứ triệu chứng sốt rét nào như sốt, nhức đầu, mệt mỏi, đau dạ dày, thì lợi ích trực tiếp của con bạn ở trong nghiên cứu này rằng đã được các bác sĩ ở IMPE kiểm tra sức khỏe chung. Nếu các bác sĩ IMPE tìm thấy một vấn đề sức khỏe nào thì chuyển trực tiếp con bạn đến bệnh viện huyện hoặc trạm y tế xã gần nhất để hỗ trợ khám, chữa bệnh. Các kết quả xét nghiệm máu con bạn từ nghiên cứu này giúp Bộ Y tế thiết kế các quy trình loại trừ sốt rét trong tương lai khỏi cộng đồng nơi con bạn đang ở.

Bảo vệ thông tin cá nhân: Tất cả cán bộ nghiên cứu đảm bảo các thông tin cá nhân và sự an toàn của con bạn được bảo mật trong suốt và sau khi nghiên cứu. Tên của con bạn không xuất hiện trên các lam máu hoặc các ống chứa mẫu máu. Chỉ nhóm nghiên cứu IMPE biết ai tham gia nghiên cứu

Mẫu đơn cho phép tham gia của cha mẹ/ người giám hộ và mẫu đơn đồng ý tham gia và thông tin của các con bạn được lưu giữ tại IMPE Quy Nhơn trong một tủ hồ sơ có khóa. Chúng tôi báo cáo về những kết quả của nghiên cứu này, nhưng tên của con bạn không xuất hiện trên bản kỷ bản báo cáo hoặc bài thuyết trình nào.

Bồi dưỡng: Con bạn không nhận được tiền hoặc quà từ việc tham gia nghiên cứu.

Các câu hỏi: Nếu bạn có bất kỳ câu hỏi, phần nản hoặc lo lắng nào về việc con bạn tham gia vào nghiên cứu, bạn có thể gọi điện hoặc tới gặp nhóm nghiên cứu IMPE để thảo luận về mối lo ngại của bạn với họ. Ngoài ra bạn có thể liên lạc với TS.BS. Huỳnh Hồng Quang (số ĐT 0905103496) tại IMPE Quy Nhơn để được giải đáp các câu hỏi và thắc mắc của bạn.

Nếu bạn có các câu hỏi về nghiên cứu và quyền lợi của con bạn với vai trò là một người tham gia nghiên cứu, bạn có thể liên lạc tới Hội đồng Đạo đức Y Sinh học tại IMPE Quy Nhơn. nếu bạn không thể sử dụng điện thoại, cán bộ IMPE có thể giúp bạn liên lạc với Hội đồng Đạo đức Y Sinh học. Sau khi bạn đã hoàn toàn hiểu rõ điều xảy ra với con bạn khi tham gia vào nghiên cứu, bạn cần phải ký tên mình hoặc cung cấp điểm chỉ ngón tay vào mẫu đơn cho phép tham gia của cha mẹ/người giám hộ, với tên của con của bạn. Khi ký tên vào có nghĩa là bạn đã nhận được một bản sao của mẫu đơn cho phép tham gia của cha mẹ/người giám hộ này và hiểu rằng việc ký tên vào mẫu đơn chứng tỏ bạn sẵn lòng cho con mình tham gia vào nghiên cứu này.

Chữ ký của cha, mẹ/ người giám hộ của trẻ tham gia: _____

**ĐƠN CHO PHÉP THAM GIA CỦA CHA MẸ/NGƯỜI GIÁM HỘ
ĐỐI VỚI TRẺ EM (≤ 17 TUỔI)**

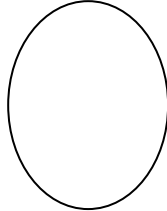
Tên đề tài: Thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng và thiếu enzyme G6PD trong cộng đồng tại một số vùng sốt rét trọng điểm (2018-2020)

Chủ nhiệm đề tài: TS.BS. Huỳnh Hồng Quang, IMPE Quy Nhơn, Việt Nam.

Tham gia nghiên cứu: Ths. Nguyễn Đức Giang, NIMPE, Việt Nam

Chữ ký của bạn trên mẫu đơn cho phép tham gia này cho thấy bạn đã được giải thích về nghiên cứu này và bạn đã có thời gian đặt câu hỏi. Bạn đồng ý cho phép con mình tham gia vào nghiên cứu này. Thông tin thu thập từ con của bạn được giữ riêng tư và sử dụng vì mục đích của nghiên cứu này. Các kết quả nghiên cứu của con của bạn được cung cấp cho bạn nếu bạn yêu cầu và bất kỳ báo cáo được công bố nào của nghiên cứu này bảo vệ thông tin cá nhân của con bạn. Bạn cũng cần hiểu rằng con bạn không bắt buộc phải tham gia vào nghiên cứu này và bạn hoàn toàn có thể cho con rút lui khỏi nghiên cứu vào bất kỳ lúc nào bạn muốn mà không bị mất đi những quyền lợi được chăm sóc y tế trong tương lai của con của mình. Bạn được cung cấp một bản sao của mẫu đơn cho phép tham gia đã ký để lưu trữ. Nếu bạn có bất kỳ lo lắng gì về việc nghiên cứu này được tiến hành như thế nào, xin vui lòng đến và gặp trực tiếp các chủ nhiệm đề tài

Tên của trẻ (Chữ in)

		____ / ____ / ____ NN TT NNNN Thời gian: ____ : ____ (giờ:phút)
Tên cha mẹ/Người giám hộ của trẻ (chữ in)		
Chữ ký cha mẹ/Người giám hộ của trẻ		
(Điểm chỉ ngón tay cái)		

Chữ ký người làm chứng: (Chỉ yêu cầu chữ ký của người làm chứng nếu cha mẹ/ người giám hộ của trẻ không biết chữ. Trong trường hợp này, một người làm chứng biết chữ phải ký. Người làm chứng có thể là một người bạn, họ hàng hoặc người đại diện/người đứng đầu xã. Nếu có thể, người này nên được do cha mẹ/người giám hộ của trẻ lựa chọn và không có mối liên hệ nào với nhóm nghiên cứu IMPE).

Tôi đã làm chứng việc đọc chính xác mẫu đơn cho phép tham gia của cha mẹ/người giám hộ này cho cha mẹ/ người giám hộ, người này đã có cơ hội đặt ra các câu hỏi thắc mắc.

Tôi xác nhận rằng cha mẹ/ người giám hộ của trẻ này tự nguyện cho phép con mình tham gia nghiên cứu.

Chữ ký của cha, mẹ/ người giám hộ của trẻ tham gia: _____

Tên của người làm chứng bằng chữ in:	
Chữ ký người làm chứng:	

Ngày:	NN TT NNNN
-------	---

Chữ ký của bác sĩ IMPE đối với sự tự nguyện của người tham gia

Tôi đã đọc chính xác hoặc đã làm chứng việc đọc chính xác nội dung của mẫu đơn cho phép tham gia của cha mẹ/người giám hộ cho cha mẹ/người giám hộ, người này đã có cơ hội đặt ra các câu hỏi thắc mắc. Tôi xác nhận rằng cha mẹ/người giám hộ này tự nguyện cho phép con mình tham gia nghiên cứu

		NN TT NNNN
Tên của bác sĩ IMPE chấp nhận sự cho phép tham gia của cha mẹ/người giám hộ		
Chữ ký bác sĩ IMPE chấp nhận sự cho phép tham gia của cha mẹ/người giám hộ		

Chữ ký của cha, mẹ/ người giám hộ của trẻ tham gia: _____

Phụ lục D

THÔNG TIN NGƯỜI THAM GIA VÀ ĐƠN ĐỒNG Ý THAM GIA ĐỐI VỚI TRẺ EM (TỪ 10 ĐẾN 17 TUỔI)

Tên đề tài: Thực trạng người mang ký sinh trùng sốt rét không triệu chứng và thiếu enzyme G6PD trong cộng đồng tại một số vùng sốt rét trọng điểm (2018-2020)

Chủ nhiệm đề tài: TS.BS. Huỳnh Hồng Quang, IMPE Quy Nhơn, Việt Nam.

Tham gia nghiên cứu: Ths. Nguyễn Đức Giang, NIMPE, Việt Nam

Mẫu đơn đồng ý tham gia này dành cho trẻ em từ 10-17 tuổi đã được mời tham gia vào dự án sốt rét này tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông.

Mẫu đơn đồng ý tham gia này có hai phần:

I. Bảng thông tin (chia sẻ thông tin về nghiên cứu với bạn)

II. Chứng nhận việc đồng ý (ký tên hoặc điểm chỉ nếu bạn đồng ý tham gia)

Bạn được cung cấp một bản sao đầy đủ của mẫu đơn đồng ý tham gia này.

Phần I. Bảng thông tin

Bạn đã được mời tham gia vào nghiên cứu sốt rét này tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông. Sốt rét là một bệnh có thể gây chết người gây ra bởi ký sinh trùng sốt rét truyền từ muỗi sang người và gây các triệu chứng như sốt, đau cơ, đau đầu, buồn nôn, nôn mửa, mệt mỏi và tử vong nếu không được chữa trị hiệu quả. Bộ Y tế Việt Nam đang hướng tới việc loại trừ sốt rét vào năm 2030. Để có thể đạt được mục tiêu này, cần phải có thông tin về tỷ lệ nhiễm sốt rét ở những người không biểu hiện triệu chứng. Những người này có mật độ ký sinh trùng trong máu rất thấp và điều này khiến sốt rét tiếp tục lan truyền. Chúng tôi mời người dân từ xã của các bạn tham gia vào nghiên cứu này để xác định có bao nhiêu người mang trong người số lượng nhỏ KST trong máu, từ đó Bộ Y tế có thể thiết kế quy trình LTSR. Nghiên cứu được tiến hành bởi Viện Sốt rét-KST-CT Quy Nhơn (IMPE) trực thuộc Bộ Y tế.

Với tư cách là bác sĩ của IMPE, tôi cung cấp thông tin và mời bạn tham gia nghiên cứu. Bạn có quyền lựa chọn việc muốn tham gia hay không. Chúng tôi đã thảo luận về nghiên cứu với cha mẹ hoặc người giám hộ của bạn và họ biết rằng chúng tôi đang hỏi bạn về việc chấp thuận tham gia nghiên cứu. Nếu bạn quyết định tham gia, cha mẹ hoặc người giám hộ của bạn cũng đồng ý. Nếu bạn không muốn tham gia, bạn không bị bắt buộc, dù cha mẹ bạn đã đồng ý. Đây là sự lựa chọn của bạn. Nếu bạn không muốn tham gia không sao và nếu bạn bị sốt rét bạn vẫn được điều trị sốt rét từ trạm y tế. Dù đồng ý tham gia bây giờ, bạn vẫn có thể thay đổi ý kiến của mình về sau. Bạn có thể thảo luận bất cứ gì trong đơn này với cha mẹ hoặc bạn hoặc bất kỳ người nào bạn muốn. Có thể có một số từ bạn không hiểu hoặc điều bạn muốn chúng tôi giải thích rõ hơn vì bạn thấy thú vị hoặc quan tâm. Vui lòng tìm tôi bất kỳ lúc nào và tôi dành thời gian giải thích cho bạn.

Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra đứa trẻ, và cô bé/cậu bé này hiểu rằng việc tham gia vào nghiên cứu này là tự nguyện. _____ (ký nháy)

Bạn được hỏi gì trong nghiên cứu này

Bạn được mời trả lời các câu hỏi về bạn và sự phơi nhiễm, bảo vệ cá nhân phòng bệnh sốt rét, chúng tôi tiến hành khám để xác định tình trạng sức khỏe chung của bạn và lấy mẫu máu đầu ngón tay (vài giọt) để xét nghiệm xem bạn có bị sốt rét hay không.

Chữ ký của người tham gia: _____

Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra đứa trẻ này và cô bé/cậu bé này hiểu rõ việc điều gì xảy ra với nó khi tham gia vào nghiên cứu này_____ (ký nháy)

Bảng câu hỏi

Trả lời các câu hỏi có liên quan đến nghiên cứu như là sự di chuyển của bạn trong vòng hai tuần qua và bạn có từng sử dụng các biện pháp phòng ngừa sốt rét không?

Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra đứa trẻ này và cô bé/cậu bé này hiểu rõ các câu hỏi _____ (ký nháy)

Máu của bạn được dùng làm gì trong nghiên cứu này

Bạn được lấy mẫu máu từ đầu ngón tay (vài giọt) và điều đó gây ra đau buốt thoáng qua. Tuy nhiên, nhóm nghiên cứu IMPE rất có kinh nghiệm lấy máu đầu ngón tay và hạn chế tối thiểu đau cho bạn. Mẫu máu đầu ngón tay được dùng để làm các lam máu xác định sự tồn tại và số lượng ký sinh trùng trong máu bạn và chủng loài sốt rét được xác định bằng kính hiển vi. Nếu có ký sinh trùng trong máu bạn thì bạn được điều trị bởi cán bộ trạm y tế theo các hướng dẫn của Bộ Y tế. Máu thu được từ đầu ngón tay bạn được đưa vào các ống nhỏ để xác định số lượng nhỏ ký sinh trùng trong máu dựa trên các xét nghiệm trong phòng thí nghiệm. Chúng tôi giữ các mẫu máu ẩn danh của bạn trong khoảng 10 năm kể từ lấy máu và nếu có các thiết bị hoặc phương pháp mới phát hiện sốt rét được phát triển, chúng tôi có thể xét nghiệm lại các mẫu này của bạn bằng các thiết bị hoặc phương pháp mới kia chỉ để chẩn đoán sốt rét.

Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra đứa trẻ này và cô bé/cậu bé này hiểu rõ máu của mình được sử dụng làm gì trong nghiên cứu. _____ (ký nháy)

Rủi ro và khó chịu

Lấy máu đầu ngón tay gây ra đau buốt thoáng qua. Nhóm nghiên cứu có kinh nghiệm của IMPE lấy máu đầu ngón tay. Chỉ có nguy cơ nhiễm trùng rất thấp và/ hoặc thâm tím ở vị trí kim chích máu trên ngón tay. Nếu bạn cảm thấy chóng mặt do đau hoặc do nhìn thấy máu, vui lòng nói cho các cán bộ của IMPE biết để cho bạn nằm xuống và chăm sóc bạn.

Bác sĩ IMPE: Tôi đã khám cho cháu bé và cô bé/ cậu bé hiểu được các rủi ro và khó chịu mà điều này đã từng gặp khi tham gia vào nghiên cứu. _____ (ký nháy).

Lợi ích

Nếu chúng tôi phát hiện ký sinh trùng trong máu của bạn khi soi dưới kính hiển vi, bạn được điều trị tại bệnh viện huyện/ trạm y tế xã gần nhất theo Hướng dẫn điều trị của Bộ Y tế. Mặc dù mất vài tháng để xét nghiệm trong phòng xét nghiệm để xác định xem liệu bạn có ký sinh trùng sốt rét với mật độ thấp không đủ gây ra các triệu chứng bệnh sốt rét như sốt, đau đầu, mệt mỏi, khó chịu dạ dày nhưng lợi điểm của bạn khi tham gia vào nghiên cứu này là các bác sĩ của IMPE kiểm tra sức khỏe chung của bạn. Nếu qua đó, các bác sĩ phát hiện có vấn đề sức khỏe thì họ chuyển trực tiếp bạn đến bệnh viện huyện/ trạm y tế xã để trợ giúp y tế. Các kết quả xét nghiệm máu của bạn giúp cho Bộ Y tế thiết kế các quy trình phù hợp cho việc loại trừ sốt rét trong tương lai ở cộng đồng bạn đang ở.

Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra với trẻ và cô bé/ cậu bé đã hiểu về lợi điểm khi tham gia vào nghiên cứu này. _____ (ký nháy)

Chữ ký của người tham gia: _____

Bảo vệ thông tin cá nhân

Chúng tôi không kể với ai về việc bạn tham gia vào nghiên cứu này và chúng tôi không chia sẻ thông tin về bạn với bất kỳ ai không làm việc với nhóm nghiên cứu IMPE. Thông tin về bạn được thu thập trong quá trình nghiên cứu được giấu đi, và không ai ngoại trừ nhóm nghiên cứu IMPE có thể thấy được. Bất kỳ thông tin nào về bạn có một con số trên đó thay thế cho tên bạn. Chỉ có nhóm nghiên cứu của IMPE mới biết số của bạn là bao nhiêu và chúng tôi khóa kỹ thông tin đó trong tủ.

Bạn có thể hỏi tôi câu hỏi bây giờ hoặc về sau. Tôi có một số điện thoại và địa chỉ đã ghi ra giấy để bạn có thể liên lạc với nhóm nghiên cứu của IMPE hoặc nếu bạn ở gần đây, bạn có thể tới và gặp chúng tôi. Nếu bạn muốn nói chuyện với ai đó khác mà bạn biết, như giáo viên của mình, cô dì hoặc bác sĩ trạm y tế, điều đó cũng không sao cả.

Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra đứa trẻ này và cô bé/cậu bé này hiểu rõ thông tin cá nhân của trẻ được bảo vệ như thế nào. _____ (ký nháy)

Khoản bồi dưỡng

Bạn không nhận được tiền hoặc quà từ việc tham gia vào nghiên cứu.

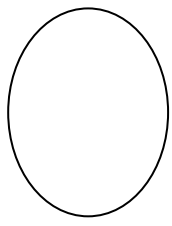
Bác sĩ IMPE: Tôi đã kiểm tra trẻ này và cô bé/cậu bé này hiểu rõ các lợi ích. _____ (ký nháy)

Phần II: Chứng nhận đồng ý đối với trẻ em (từ 10 đến 17 tuổi)

Tôi đã được mời tham gia một nghiên cứu sốt rét ở xã tôi. Tôi hiểu rằng tôi phải cung cấp mẫu máu khi cán bộ nghiên cứu của IMPE yêu cầu. Tôi đã được thông báo rằng có rất ít rủi ro bao gồm cả đau tại nơi chích máu ở đầu ngón tay. Tôi hiểu rằng tôi không nhận được lợi ích cá nhân nào và tôi không nhận được quà (ví dụ như tiền). Tôi đã được cung cấp tên của người chủ nhiệm đề tài để có thể liên lạc dễ dàng bằng số điện thoại của người đó.

- Tôi biết rằng tôi có thể lựa chọn tham gia hoặc không tham gia nghiên cứu. Tôi biết rằng tôi có thể ngừng tham gia bất kỳ lúc nào tôi muốn;
- Tôi đã đọc tờ thông tin này (hoặc đã được nghe đọc tờ thông tin này);
- Tôi đã được giải đáp các câu hỏi của mình và tôi biết rằng tôi có thể đặt các câu hỏi khác về sau này nếu có;
- Tôi hiểu rằng bất kỳ thay đổi đối với nghiên cứu này được thảo luận với tôi;
- Tôi đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

Chữ ký của người tham gia: _____

		____ / ____ / ____ NN TT NNNN Ngày sinh của trẻ
Tên của trẻ (Chữ in)		
Chữ ký của trẻ	(Điểm chỉ ngón tay cái)	Thời gian: ____ : ____ (Giờ: phút)

Chữ ký người làm chứng: (Chỉ yêu cầu chữ ký của người làm chứng và dấu lăn tay của trẻ nếu trẻ không biết chữ. Trong trường hợp này, một người làm chứng biết chữ phải ký. Người làm chứng có thể là một người bạn, họ hàng hoặc người đại diện/người đứng đầu xã. Nếu có thể, người này nên được do cha mẹ/người giám hộ của trẻ lựa chọn và không có mối liên hệ nào với nhóm nghiên cứu IMPE).

Tôi đã làm chứng việc đọc chính xác mẫu đơn đồng ý tham gia này cho đứa trẻ, người này đã có cơ hội đặt ra các câu hỏi thắc mắc. Tôi xác nhận rằng đứa trẻ này tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Tên của người làm chứng bằng chữ in:	
Chữ ký người làm chứng:	
Ngày:	_____ / _____ / _____

Chữ ký của bác sĩ IMPE đối với sự đồng ý tham gia:

Tôi đã đọc chính xác hoặc đã làm chứng việc đọc chính xác nội dung của mẫu đơn đồng ý tham gia cho đứa trẻ này, người này đã có cơ hội đặt ra các câu hỏi thắc mắc. Tôi xác nhận rằng đứa trẻ này tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Tên của bác sĩ IMPE chấp nhận sự đồng ý tham gia (Chữ in)		_____ / _____ / _____ NN TT NNNN
Chữ ký bác sĩ IMPE chấp nhận sự đồng ý tham gia (Chữ in)		

Chữ ký của người tham gia: _____

Phụ lục E. TIÊU CHÍ PHÂN VÙNG DỊCH TỄ SỐT RÉT
THEO HƯỚNG DẪN CỦA BỘ Y TẾ (NĂM 2014)

TT	Tiêu chí phù hợp	Điểm	Các tiêu chí đánh giá, phân loại
1	Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng mới trong 5 năm trung bình liên tục		
	Ký sinh trùng > 0 và < 1/1000 dân vùng lưu hành bệnh.	5	Tỷ lệ ký sinh trùng 5 năm trung bình liên tục từ 2009-2013
	Ký sinh trùng 1-<5/1000 dân vùng lưu hành bệnh.	10	
	Ký sinh trùng $\geq 5/1000$ dân vùng lưu hành bệnh.	15	
2	Ký sinh trùng kháng thuốc sốt rét (+)	10	Phát hiện kháng artemisinin trong 5 năm qua
3	Ít nhất một véc-tơ sốt rét chính: <i>An. minimus</i> , <i>An. dirus</i> , <i>An. epiroticus</i>	1	Trong vòng 5 năm gần đây phát hiện vector sốt rét chính ít nhất ở một điểm trong huyện
4	Xã vùng biên giới hoặc vùng đặc biệt nghèo	1	Theo Quyết định 495/QĐ-TTg ngày 08/4/2014
5	Mạng lưới chăm sóc y tế cơ bản yếu kém	1	Mạng lưới y tế thôn bản không đầy đủ Không có dữ liệu theo dõi các BNSR trong vòng 5 năm qua.
6	Vector kháng hóa chất diệt muỗi	1	Phát hiện tình trạng kháng thuốc diệt muỗi trong vòng 5 năm qua
7	Dân di biến động	1	Dân di chuyển vượt biên hoặc dân di biến động thường xuyên
	Tổng cộng	5-30	

Bảng này cho thấy phân loại thang điểm như sau: khu vực bệnh lưu hành nhẹ (5-8 điểm), khu vực bệnh lưu hành vừa (9-13 điểm), khu vực bệnh lưu hành nặng (14-30 điểm).

SOP1: TUYỂN CHỌN NGƯỜI KHÔNG TRIỆU CHỨNG VÀO NGHIÊN CỨU

1. MỤC ĐÍCH

- 1.1 Mục đích của Quy trình thực hành chuẩn (SOPs) này nhằm mô tả các quy trình hướng dẫn thực hiện việc tuyển chọn những người không biểu hiện triệu chứng có mật độ ký sinh trùng trong máu gần như không thể phát hiện bằng kính hiển vi vào một nghiên cứu giám sát dịch tễ học phân tử tại ba xã của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông để xác định tỷ lệ nhiễm và sự phân bố của sốt rét không triệu chứng;
- 1.2 Giám sát dịch tễ học phân tử này là một nghiên cứu do Viện Sốt rét-Ký sinh trùng-Côn trùng (IMPE) Quy Nhơn tiến hành.

2. QUY TRÌNH

- 2.1 Những người đang sinh sống tại ba xã Đắk Buk So (sốt rét lưu hành nhẹ), Đắk Ngo (sốt rét lưu hành vừa) và Quảng Trục (sốt rét lưu hành cao) được mời tham gia vào nghiên cứu này. Các xã này đã được phân vùng thành vùng lưu hành sốt rét (LHSR) mức độ khác nhau dựa trên phân vùng dịch tễ học sốt rét của Bộ Y tế Việt Nam. Việc tuyển chọn được tiến hành tại các trạm y tế xã;
- 2.2 Những người tham gia tiềm năng không có các triệu chứng sốt rét như là sốt, đau đầu, chán ăn và buồn nôn được phỏng vấn bởi bác sĩ nghiên cứu Viện IMPE trong một căn phòng riêng biệt tại trạm y tế xã. Việc này nhằm đảm bảo tính riêng tư và bí mật của cuộc phỏng vấn giữa người tham gia tiềm năng và bác sĩ nghiên cứu này, cụ thể như các vấn đề y tế được thảo luận;
- 2.3 Mẫu đơn tự nguyện tham gia (ICD) trong đó mô tả nghiên cứu bao gồm các chi tiết về điều gì xảy ra đối với người tham gia, những lợi ích và rủi ro khi tham gia được cung cấp cho người tham gia tiềm năng. Người này có cơ hội đặt câu hỏi cho bác sĩ nghiên cứu Viện IMPE về nghiên cứu. Một bản sao của mẫu đơn ICD được cung cấp cho người tham gia để có thể mang về nhà và có thêm thời gian cân nhắc việc tham gia vào nghiên cứu này.
- 2.3 Những người quyết định tham gia vào nghiên cứu này phải hoàn thành những việc sau với sự chứng kiến của bác sĩ nghiên cứu:
 - Hoàn thành các tiêu chuẩn tuyển chọn/ loại trừ đã được trình bày trong mẫu báo cáo ca bệnh (CRF);
 - Được bác sĩ kiểm tra sức khỏe;
 - Trả lời một câu hỏi về phòng bệnh sốt rét;
 - Cung cấp tiền sử y khoa các triệu chứng/ biểu hiện trong vòng 3 ngày qua.
- 2.4 Bác sĩ nghiên cứu Viện IMPE đánh giá người tham gia tiềm năng có đủ điều kiện được tuyển chọn vào nghiên cứu thông qua việc đánh giá các phản ứng của họ đối với các tiêu chuẩn tuyển chọn/ loại trừ sau đây trong CRF.

(a) Tiêu chuẩn tuyển chọn vào nghiên cứu:

- Trẻ em (≥ 10 tuổi) và người lớn;
- Làm việc hoặc sinh sống tại các xã nghiên cứu;
- Có thể cung cấp thông tin và mẫu máu chích từ đầu ngón tay;
- Cung cấp mẫu đơn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu nếu là người lớn hoặc trong trường hợp là trẻ em từ 17 tuổi trở xuống (cung cấp mẫu đơn đồng ý tham gia dành cho trẻ em tuổi từ 10 đến 17) cùng với sự cho phép của người lớn hoặc giám hộ.

(b) Tiêu chuẩn loại trừ khỏi nghiên cứu:

- Những người nhỏ hơn 10 tuổi;
- Không sẵn lòng tự nguyện tham gia, không cung cấp thông tin và mẫu máu chích đầu ngón tay;
- Không thể giao tiếp tốt với cán bộ nghiên cứu (chậm phát triển trí tuệ hoặc có bằng chứng rối loạn tâm thần);
- Bất kỳ tình trạng sức khỏe nào mà trong đó bác sĩ kết luận là việc tham gia vào nghiên cứu gây hại cho người tham gia về sau.

- 2.5 Sau khi hoàn thành khâu tuyển chọn/ loại trừ người tham gia nghiên cứu, bác sĩ Viện IMPE kiểm tra tình trạng sức khỏe chung của từng người tham gia bằng việc kiểm tra các thông tin về sức khỏe như là nhịp mạch, nhịp thở và nhiệt độ cơ thể, cũng như là tiền sử y khoa gần đây của các biểu hiện/triệu chứng của họ. Nếu có bất kỳ mối lo ngại nào đối với sức khỏe của người tham gia thì họ được chuyển đến TYT/TTYT huyện gần nhất bởi bác sĩ Viện IMPE để chăm sóc y tế;
- 2.6 Người đã hội đủ của mục 2.3 ở trên và đã hài lòng với câu trả lời của bác sĩ nghiên cứu IMPE đối với câu hỏi của họ về sự tham gia của họ vào nghiên cứu này, thì cung cấp mẫu tự nguyện tham gia (nếu là người lớn) hoặc sự chấp thuận (từ cha mẹ hoặc người giám hộ nếu là trẻ em) để tham gia vào nghiên cứu và ký vào ICD với sự chứng kiến của bác sĩ nghiên cứu IMPE, người bác sĩ này cũng phải ký vào ICD. Tuy nhiên, nếu người tham gia hoặc cha mẹ hoặc người giám hộ không biết chữ, thì một người làm chứng biết chữ phải ký vào ICD. Nếu có thể, người ký phải được lựa chọn bởi người tham gia sắp tới này và không được có mối liên hệ với nhóm nghiên cứu như là bạn bè, họ hàng và lãnh đạo/ đại diện xã;
- 2.7 Bác sĩ nghiên cứu Viện IMPE cũng phải thu thập và lưu trữ mẫu đơn đồng ý tham gia của trẻ em từ 10 đến 17 tuổi, cùng với sự cho phép của cha mẹ hoặc người giám hộ để được tham gia vào nghiên cứu. Dù cha mẹ hoặc người giám hộ đồng ý cho đứa trẻ tham gia vào nghiên cứu, nhưng nếu một đứa trẻ tuổi từ 10 đến 17 không đồng ý tham gia thì không được tuyển chọn vào nghiên cứu;
- 2.8 Bác sĩ Viện IMPE đảm bảo rằng những thông tin của người tham gia và việc làm chứng mẫu đơn tự nguyện/đồng ý/ cho phép cũng được ghi đúng trong ICD;
- 2.9 Sau khi cả người tham gia và bác sĩ nghiên cứu ký vào ICD thì một mã nghiên cứu độc nhất được cung cấp cho người tham gia vào nhóm nghiên cứu. Mã số này nhận dạng xã mà người tham gia sống Đắk Buk So (DBS), Đắk Ngo (DG) và Quảng Trục (QT). Mục tiêu số lượng người tham gia (tổng cộng = 2.808) đối với nghiên cứu là:
- 1.330 người tham gia đối với DBS (DBS001 tới DBS1330)
 - 907 người tham gia đối với DG (DG001 tới DG907)
 - 571 người tham gia đối với QT (QT001 tới QT571)
- 2.10 Số nghiên cứu của người tham gia được lưu trong CRF và trong bản danh sách.
- 2.11 Một bản sao của ICD đã ký tên được cung cấp cho người tham gia để họ nắm được các thông tin trong đó.

SOP2: CÁCH GHI NHÃN TEST NHANH, LAM MÁU VÀ MẪU MÁU

1. MỤC ĐÍCH

Quy trình thực hành chuẩn này mô tả các quy trình hướng dẫn ghi nhãn các test chẩn đoán nhanh (RDTs) và các lam máu sốt rét dùng cho việc soi kính hiển vi và mẫu máu dùng cho phân tích DNA/RNA.

2. QUY TRÌNH

2.1 Các mẫu máu chích đầu ngón tay (130-150 μ L) được lấy vào một ống BD-microtainer EDTA 500 μ L từ những người không biểu hiện triệu chứng sống tại hoặc gần 3 xã (Đăk Buk So, Đăk Ngo và Quảng Trục) thuộc huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông. Tất cả mẫu vật thu thập được từ người tham gia được ghi nhãn bằng một mã số nhận dạng nghiên cứu độc nhất. Con số này bắt đầu với các chữ cái của xã đó và sau đó là con số gán cho người tham gia:

- Đăk Buk So-DBS
- Đăk Ngo-DG
- Quảng Trục-QT

2.2 Mục tiêu số lượng người tham gia cho nghiên cứu như sau:

- 1.330 người tham gia đối với DBS (DBS001 tới DBS1330)
- 907 người tham gia đối với DG (DG001 tới DG907)
- 571 người tham gia đối với QT (QT001 tới QT571)

2.3 Các dụng cụ nghiên cứu (các ống EDTA, RDTs, các lam kính hiển vi và các ống eppendorf) được ghi nhãn trước với một nhãn cho thấy số ID nghiên cứu và ngày thu thập, các thông tin được viết bằng một bút mực không trôi có màu đen/ xanh da trời/ đỏ. Để có thể dễ dàng theo dõi xã của người tham gia có mức độ lưu hành sốt rét khác nhau (thấp, trung bình và cao) thì một bút màu đen được sử dụng cho những người tham gia DBS, bút màu xanh da trời được dùng cho người tham gia DG và một bút màu đỏ dùng cho người tham gia QT.

2.4 Các dụng cụ nghiên cứu sau được ghi nhãn trước:

- Các ống BD-microtainer EDTA 500 μ L
- Các ống Eppendorf® LoBind microcentrifuge 1.5 mL
- Test chẩn đoán nhanh (SD-Bioline Malaria Ag Pf/Pan CAT No. 05FK60).
- Lam máu: Lam giọt dày và mỏng-Số lượng 1.

2.5 Sau đây là một ví dụ việc ghi nhãn một người tham gia đầu tiên được tuyển chọn tại xã Quảng Trục vào ngày 12 tháng 11 năm 2018 bằng một cây viết mực đỏ không trôi

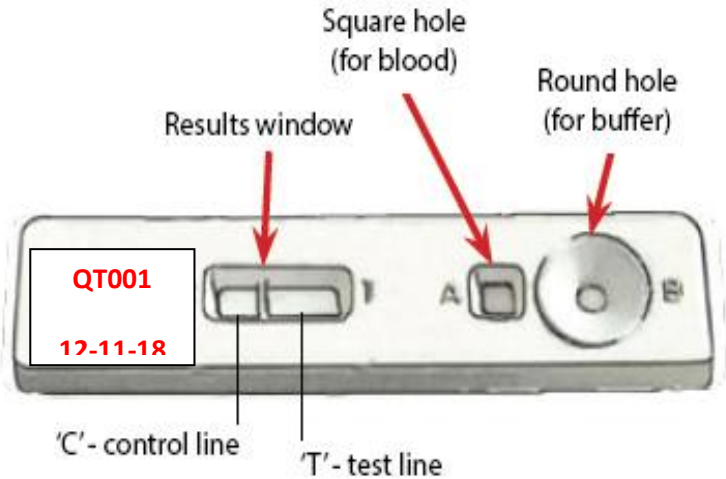
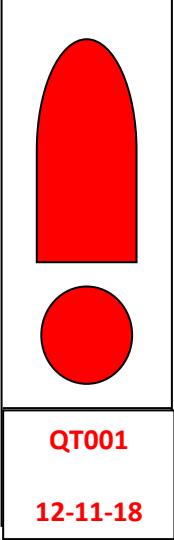
- Số ID Đối tượng: QT001
- Ngày Thu thập: 12-11-18

QT001

12-11-18

2.6 Vị trí ghi nhãn trên các dụng cụ nghiên cứu khác nhau thu thập từ người tham gia đầu tiên tại Quảng Trục vào ngày 12 tháng 11 năm 2018 được thể hiện dưới đây với các lần thu thập:

LẦN THU THẬP	ẢNH CỦA DỤNG CỤ NGHIÊN CỨU	MỤC ĐÍCH CỦA DỤNG CỤ
1		Các ống BD-microtainer EDTA 500 µL có chứa khoảng 150 µL mẫu máu chích từ đầu ngón tay của người tham gia
2		Các ống Eppendorf® LoBind microcentrifuge 1.5 Ml có chứa 250 µL chất phản ứng RNA-Protect (Qiagen) mà 50 µL máu chích đầu ngón tay của người tham gia được thu thập vào lần số 1 được cho vào để dùng cho việc tách chiết DNA/RNA sau này.
LẦN THU THẬP	ẢNH CỦA DỤNG CỤ NGHIÊN CỨU	MỤC ĐÍCH DỤNG CỤ NGHIÊN CỨU

3	 Diagram of a rapid diagnostic device. Labels include: Results window, Square hole (for blood), Round hole (for buffer), 'C' - control line, and 'T' - test line. A box on the left contains the text QT001 and 12-11-18.	5 μL máu chích đầu ngón tay của người tham gia được thu thập tại lần số 1 được đưa vào giếng của que chẩn đoán nhanh để chẩn đoán <u>sốt rét</u>.
4	 Diagram showing a red control line and a red test line. A box on the right contains the text QT001 and 12-11-18.	Khoảng 5 μL máu chích đầu ngón tay của người tham gia đã thu thập ở lần 1 được đưa vào một lam máu để làm giọt mỏng và giọt dày dùng cho việc phân tích dưới kính hiển vi.

SOP3: THU THẬP MẪU MÁU TỪ NGƯỜI KHÔNG BIỂU HIỆN TRIỆU CHỨNG

1. MỤC ĐÍCH

Quy trình thực hành chuẩn này mô tả các quy trình hướng dẫn thu thập các mẫu máu từ những người không biểu hiện triệu chứng cho giám sát dịch tễ học phân tử tại 3 xã của huyện Tuy Đức (tỉnh Đắk Nông) để xác định tỷ lệ nhiễm sốt rét ở mức độ thấp.

2. CÁC THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ

- 2.1 Các miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/xanh da trời/ hay đỏ);
- 2.2 Găng tay dùng một lần;
- 2.3 Các thùng chứa vật nhọn kim loại sau khi dùng;
- 2.4 Bông có tăm cotton;
- 2.5 Kim chích máu BD-microtainer®;
- 2.6 Ống chứa máu dung tích 500µL loại BD-microtainer có chứa EDTA;
- 2.7 Pipette kênh đơn với đầu tip dùng một lần 200 µL
- 2.8 Hộp đựng ống BD-microtainer EDTA 500 µL;
- 2.9 Thùng giữ lạnh kín dạng xách tay với các túi đá;
- 2.10 Băng vết thương;
- 2.11 Các túi thu thập găng tay đã qua sử dụng.

3. QUY TRÌNH

- 3.1 Những người không biểu hiện triệu chứng sốt rét đang sống ở tại hoặc ở gần với 3 xã của huyện Tuy Đức (Đắk Buk So, Đắk Ngo và Quảng Trục) đã ký vào mẫu đơn tự nguyện tham gia (ICD) vào với nghiên cứu này cung cấp một mẫu máu chích từ đầu ngón tay (130-150µL);
- 3.2 Việc lấy máu và xử lý các mẫu máu từ mỗi người tham gia được tiến hành trong một căn phòng riêng tại trạm y tế;
- 3.3 Trước khi lấy mẫu máu, người tham gia được thông báo bởi các kỹ thuật viên giàu kinh nghiệm từ IMPE về các quy trình được tiến hành trong việc lấy máu từ đầu ngón tay. Người tham gia được lấy mẫu máu chích từ đầu ngón tay trong tư thế ngồi hoặc trong tư thế nằm. Ở gần khu vực lấy máu có một cái cáng để đề phòng trường hợp người tham gia cảm thấy chóng mặt và không khỏe trong quá trình lấy máu;
- 3.4 Trước khi lấy máu, kỹ thuật viên phải có được mẫu báo cáo ca bệnh của người tham gia đã được điền đầy đủ bởi bác sĩ nghiên cứu IMPE;
- 3.5 Mẫu máu chích từ đầu ngón tay được lấy từ người tham gia và kỹ thuật viên lấy máu phải tiến hành các quy trình sau:
 - 3.5.1 Mang găng tay dùng một lần và sử dụng kỹ thuật vô trùng để lấy máu;
 - 3.5.2 Bố trí tư thế người được lấy máu; anh/chị ấy nên ngồi trên một chiếc ghế hoặc nằm xuống và duỗi thẳng hết sức cánh tay của anh ấy/cô ấy;
 - 3.5.3 Vị trí lấy máu đầu ngón tay tốt nhất là ngón tay thứ 3 và thứ 4 của bàn tay;
 - 3.5.4 Không được đâm vào phần đỉnh hoặc giữa ngón tay. Tránh cả vùng cạnh bên của ngón tay;
 - 3.5.5 Tránh đâm vào ngón tay đang lạnh hoặc có màu xanh, sưng, có sẹo hoặc phát ban đỏ;

- 3.5.6 Làm ấm ngón tay bằng việc quấn một lớp vải ấm trong khi ngón tay lạnh hoặc bằng việc chà xát lên ngón tay bằng tay của bạn;
- 3.5.7 Lau sạch khu vực chích đầu ngón tay bằng một miếng bông cotton. Để cho lớp cotton bay hơi hoàn toàn trước khi chích vào ngón tay;
- 3.5.8 Dùng kim chích máu loại BD-microtainer[®]. Nên đâm xuyên qua da hoàn toàn bằng đầu của lancet nhằm có được dòng máu chảy ra phù hợp để lấy;
- 3.5.9 Vị trí chích máu nên tránh điểm giữa của đốt đầu ngón tay (đốt ngón tay ở vị trí đầu ngón tay);
- 3.5.10 Dùng bông sạch và khô lau đi giọt máu đầu tiên;
- 3.5.11 Xoa bóp nhẹ ngón tay để hình thành một giọt máu ở điểm đâm kim;
- 3.5.12 **Một kỹ thuật viên khác** lấy khoảng 150 μ L máu từ đầu ngón tay bằng cách dùng một pipette đơn kênh có đầu 200 μ L. Một lần hút được tiến hành cùng lúc đó kỹ thuật viên còn lại nhẹ nhàng bóp và ngón tay của người tham gia để duy trì đủ dòng chảy của máu;
- 3.5.13 Máu này sau đó nhanh chóng được chuyển vào ống BD-microtainer EDTA 500 μ L và được pha trộn (lắc) nhẹ bằng hành động búng nhẹ vào đáy của ống để tối thiểu hóa tình trạng vón cục mẫu máu. Mẫu máu này sau đó được chuyển tới một thùng giữ lạnh kín có các túi đá gel để bảo quản trong tình trạng lạnh để có thể phục vụ cho khâu xử lý mẫu máu tiếp sau đó (ví dụ phân tích phân tử chiết xuất DNA/RNA ký sinh trùng sốt rét, test chẩn đoán nhanh, lam máu, đánh giá hoạt độ enzyme G6PD và đo Hb);
- 3.5.14 Sau khi lấy máu xong thì nhờ người tham gia giữ một miếng bông khô nhỏ trên bề mặt vết kim chích trong vòng vài phút để máu ngừng chảy và dán băng vết thương lên;
- 3.5.15 Người tham gia rời khỏi phòng lấy máu và ngồi khoảng 15 phút trong một căn phòng khác ngay ngoài trạm y tế, để được theo dõi bởi nhóm nghiên cứu IMPE xem có bất kỳ dấu hiệu không khỏe nào gây ra do quy trình lấy máu hay không;
- 3.5.16 Trong trường hợp có những rủi ro nào đối với việc xử lý mẫu máu hoặc vấn đề sức khỏe đối với người tham gia thì báo cáo cho bác sĩ nghiên cứu IMPE.

SOP4: XỬ LÝ CÁC MẪU MÁU TỪ NGƯỜI KHÔNG BIỂU HIỆN TRIỆU CHỨNG

1. MỤC ĐÍCH

Quy trình thực hành chuẩn này mô tả các quy trình hướng dẫn tại 3 xã của huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông trong khâu xử lý các mẫu máu thu thập từ những người không biểu hiện triệu chứng để giám sát dịch tễ học phân tử.

2. CÁC THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ

- 2.1 Các miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/ xanh da trời/ đỏ);
- 2.2 Găng tay dùng một lần;
- 2.3 Ống chứa máu loại BD-microtainer EDTA 500 μ L có thể chứa 130-150 μ L máu chích từ đầu ngón tay của người tham gia;
- 2.4 Pipette kênh đơn với các đầu tip dùng một lần 100 μ L;
- 2.5 Pipette kênh đơn với các đầu tip dùng một lần 10 μ L;
- 2.6 Các ống ly tâm eppendorf® LoBind 1.5mL dùng cho chiết xuất DNA/RNA;
- 2.7 Hộp đựng các ống ly tâm eppendorf® LoBind;
- 2.8 Tủ đông lạnh (-20°C);
- 2.9 Chất nhuộm dung dịch giêem sa;
- 2.10 Cồn methanol;
- 2.11 Túi thu thập găng tay và đầu tip pipette đã qua sử dụng.

3. QUY TRÌNH

- 3.1 Khoảng 130-150 μ L máu chích từ đầu ngón tay của người tham gia trong ống BD - microtainer EDTA 500 μ L đã được bảo quản trong một thùng giữ lạnh kín xách tay. Các quy trình phòng thí nghiệm tiếp theo được tiến hành theo trình tự dưới đây:
 - 3.1.1 Việc phân tích phân tử DNA/RNA ký sinh trùng sốt rét: Sử dụng một pipette kênh đơn với đầu tip dùng một lần 100 μ L, 50 μ L máu trộn EDTA từ ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 130-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia được chuyển sang một ống ly tâm 1,5 mL eppendorf® LoBind có chứa 250 μ L chất phản ứng RNA-Protect (Qiagen) và sau đó được sử dụng cho việc chiết xuất DNA/RNA. Ống ly tâm 1,5 mL Eppendorf® LoBind có chứa máu của người tham gia trong chất phản ứng RNA-Protect được chuyển sang một hộp lưu trữ trong thời gian nhanh nhất có thể và bảo quản ở điều kiện -20°C;
 - 3.1.2 Test chẩn đoán nhanh phát hiện sốt rét loại SD-Bioline Malaria Ag Pf/Pan CAT No. 05FK60 được dùng định tính phát hiện HRP-II (protein giàu Histidine II) đặc hiệu đối với *Pl. falciparum* và các loài *Plasmodium* khác trong các mẫu máu người. 5 μ L máu pha có EDTA từ ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 130-150 μ L máu chích đầu ngón tay người tham gia được sử dụng cho test nhanh. Các test nhanh này được dán nhãn trước có thông tin số ID nghiên cứu và ngày lấy máu được viết bằng bút mực không trôi màu đen/ xanh da trời/ đỏ;
 - 3.1.3 Soi lam máu dưới kính hiển vi chẩn đoán sốt rét: 5 μ L máu pha EDTA từ ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 130-150 μ L máu chích đầu ngón tay được hút ra bằng pipette kênh đơn đầu tip dùng một lần 10 μ L để làm lam máu giọt dày và giọt mỏng để chẩn đoán sốt rét. Lam máu này được dán nhãn trước

có ghi thông tin số ID nghiên cứu và ngày lấy máu được viết bằng bút mực không trôi có màu đen/ xanh da trời/ đỏ. Lam máu khi đã khô được cố định với methanol. Cả hai lam máu được nhuộm chậm (dung dịch giêm sa 4% trong 45 phút) và đọc dưới kính hiển vi độ phóng đại 1000× để xác định nhiễm sốt rét. Các lam đã nhuộm được bảo quản trong các hộp đựng lam kính hiển vi có thể chứa được 100 lam;

Việc đếm mật độ KSTSR thể vô tính được thực hiện trên lượng bạch cầu cố định (cụ thể là 200) với một máy đếm cầm tay. Khi số KST vô tính ít hơn 100 trên 200 BC, việc đếm được thực hiện trên ít nhất 500 BC. Một lam máu được coi là âm tính khi soi 1.000 BC cho thấy không có KST vô tính. Mật độ KSTSR được thể hiện bằng số lượng KST vô tính/ μ L máu, được tính bằng việc chia số lượng KSTSR vô tính cho số BC đếm được và sau đó nhân với số BC ước tính (cụ thể là 8.000/ μ L);

Hai xét nghiệm viên kính hiển vi được cấp chứng nhận của WHO cấp 1 hoặc cấp 2 của IMPE đọc các lam kính độc lập nhau và mật độ KST đếm được được tính bằng cách lấy trung bình của tổng 2 số đếm được. Các lam máu có các kết quả không tương đồng (hai kỹ thuật viên cho ra kết quả khác nhau về chẩn đoán loài, mật độ KST > 50% hoặc sự xuất hiện của KST khác nhau) được soi lại bằng một kỹ thuật viên độc lập thứ 3 và mật độ KSTSR được tính bằng lấy trung bình hai số lượng đếm được gần nhau nhất;

- 3.1.4 Xét nghiệm Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD):. 20 μ L máu pha EDTA từ ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 130-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia được hút bằng một pipette kênh đơn có đầu tip dùng một lần 10 μ L chuyển sang một thiết bị cảm biến sinh học careSTART G6PD để xác định các hoạt độ enzyme G6PD của người tham gia;
- 3.1.5 Đo mức haemoglobin (Hb): 7 μ L máu pha EDTA từ ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 130-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia được hút bằng một pipette kênh đơn có đầu tip dùng một lần 10 μ L chuyển sang một thiết bị đo nồng độ haemoglobin CareSTART để xác định nồng độ haemoglobin của người tham gia;
- 3.2. Sau các quy trình phòng thí nghiệm trên (máu trong chất phản ứng RNA-Protect, RDT, chuẩn bị lam máu soi kính hiển vi; hoạt độ enzyme G6PD; đo nồng độ hemoglobin) đã được tiến hành thì kỹ thuật viên chuẩn bị bước vào giai đoạn hoàn thành tất cả các quy trình đó là điền vào mẫu báo cáo ca bệnh.

SOP5: TEST CHẨN ĐOÁN NHANH PHÁT HIỆN SỐT RÉT

1. MỤC ĐÍCH

- 1.1 Quy trình thực hành chuẩn này mô tả quy trình hướng dẫn tiến hành test chẩn đoán nhanh phát hiện sớm các ca sốt rét.

2. THAM KHẢO

- 2.1 Test loại SD-Bioline Malaria Ag Pf/Pan CAT No. 05FK60 (Standard Diagnostics, Kyonggi, Hàn Quốc). Đây là một test phát hiện kháng nguyên theo nguyên tắc sắc ký miễn dịch dòng chảy hướng ngang 3 vạch có hình dạng một cái que.

3. NGUYÊN LÝ THỬ NGHIỆM

- 3.1 SD-Bioline Malaria Ag Pf/Pan có chứa các kháng thể tác động đến cả protein giàu histidine-2 đặc hiệu cho *P. falciparum* (Pf.HRP2) và enzyme lactate dehydrogenase đặc hiệu với *P. falciparum* và các loài *Plasmodium* khác (*P. vivax*, *P. ovale* và *Pl. malariae*).

- 3.2 Các đặc điểm hiệu quả

- Độ nhạy: *P. falciparum* 99,7%; *P. vivax* 99,5%
- Độ đặc hiệu: 99,5%
- Độ nhạy: 95%, *P. falciparum* 50 KST/μL; *P. vivax* 200 KST/μL.

4. VẬT TƯ VÀ THIẾT BỊ

- 4.1 Các miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/ xanh da trời/ đỏ);
- 4.2 Găng tay dùng một lần;
- 4.3 Ống lấy máu BD-microtainer EDTA 500μL;
- 4.4 Pipette kênh đơn với các đầu tip dùng một lần 10μL;
- 4.5 Que thử nhanh loại SD-Bioline Malaria Ag Pf/Pan CAT No. 05FK60);
- 4.6 Các túi nhựa có khóa kéo;
- 4.7 Gói hạt hút ẩm;
- 4.8 Túi thu thập găng tay và đầu tip pipette đã qua sử dụng;

5. QUY TRÌNH

- 5.1 Kiểm tra ngày hết hạn dùng trên bao bì test;
- 4.2 Mang găng tay vào. Sử dụng găng tay mới đối với mỗi người tham gia;
- 4.3 Mở test nhanh ra và lấy miếng dán có ghi sẵn số ID nghiên cứu độc nhất của người tham gia và ngày lấy máu được viết bằng bút mực không trôi có màu đen/ xanh da trời/ đỏ dán lên bề mặt phía cuối của que thử (xem IMPE-SOP03-Ghi nhãn các mẫu vật tư những người không triệu chứng);
- 4.4 Sử dụng pipette kênh đơn với các đầu tip dùng một lần 10μL chuyển 5μL máu đã pha trộn của người tham gia đã lấy và đựng trong ống BD-microtainer EDTA 500μL;
- 4.5 Nhỏ 3 giọt dung dịch đệm vào giếng pha loãng xét nghiệm hình vuông;
- 4.6 Chờ 15 phút (có thể lên tới 30 phút) sau khi cho chất pha loãng vào. Đọc kết quả test (Chú ý: Không được đọc test sớm hơn 15 phút hoặc sau 30 phút sau khi cho chất pha loãng. Bạn có thể nhận được các kết quả SAI;

- 4.7 Tháo bỏ găng tay và đầu pipette và bao bì test nhanh và bỏ vào một thùng chứa chất thải không sắc nhọn.

5. ĐỌC KẾT QUẢ

5.1 Cách đọc các kết quả

- Kết quả âm được biểu thị bằng việc xuất hiện một vạch đơn, vạch đối chứng “C”, trong phần cửa sổ kết quả;
- Kết quả dương tính *P. falciparum* được thể hiện bởi sự xuất hiện hai vạch có màu, vạch test “*P. falciparum*” và vạch control “C”;
- Sự xuất hiện của hai vạch màu (vạch test “Pan” và vạch đối chứng “C”) trong ô kết quả cho thấy Pan (kết quả dương tính *P. vivax*, *P. ovale*, or *P. malariae* hoặc một ca nhiễm phối hợp không có *P. falciparum*);
- Sự xuất hiện của ba vạch màu (“*P. falciparum*”, vạch test “Pan” và vạch đối chứng “C”) trong ô kết quả cho thấy một kết quả dương tính *P. falciparum* hoặc một ca nhiễm phối hợp *P. falciparum* và *P. vivax* hoặc *P. ovale* hoặc *P. malariae*;
- Trong các trường hợp mà vạch đối chứng không xuất hiện, các kết quả được coi là không hợp lệ và cần lặp lại xét nghiệm bằng một que mới;

- 5.2 Đặt que thử nhanh đã dán nhãn trong một túi nhựa nhỏ có khóa kéo cùng với gói hút ẩm hoặc khoảng 10 hạt hút ẩm và bảo vệ tránh ánh sáng, độ ẩm và nhiệt độ quá cao/thấp cho tới khi được phân tích.

6. MÔI TRƯỜNG

- 6.1 Bảo quản các test nhanh trong khoảng nhiệt độ từ 1-40°C.

7. PHÒNG NGỪA

- 7.1 Tránh xa độ ẩm và nhiệt độ quá lớn;
- 7.2 Không được làm đóng băng các bộ test hoặc chất phản ứng;
- 7.3 Hiệu lực hay giá trị hiệu dụng đầy đủ đến ngày hết hạn là trong điều kiện lý tưởng;
- 7.4 Sự ổn định của các thành phần bộ kit được bảo đảm cho tới ngày hết hạn sử dụng;
- 7.5 Không được dùng bất kỳ thành phần nào quá ngày hạn sử dụng

8. GHI KẾT QUẢ

- 8.1 Ghi lại kết quả xét nghiệm trong danh sách các test nhanh thu thập được.

SOP 6: CHUẨN BỊ CÁC LAM MÁU VÀ GIỌT MÁU CHO NGHIÊN CỨU

1. MỤC ĐÍCH

- 1.1 Quy trình thực hành chuẩn này mô tả các quy trình chuẩn bị các lam máu giọt mỏng và dày dùng cho chẩn đoán sốt rét. Quy trình này cũng hướng dẫn việc chuẩn bị các giọt máu cho phân tích quang phổ cận hồng ngoại phát hiện ca nhiễm sốt rét.

2. NGUYÊN LÝ CỦA BIỆN PHÁP

- 2.1 Các lam máu được sử dụng rộng rãi trong việc chẩn đoán sốt rét. Một thể tích máu tương đối lớn có thể được kiểm tra trong một khoảng thời gian ngắn và ký sinh trùng có thể được tìm thấy nếu xuất hiện với số lượng rất nhỏ;
- 2.2 Các lam máu giọt dày có chứa khoảng 15-20 lớp tế bào. Những KSTSR hiển thị các nhân màu đỏ-tía và bào tương bắt màu xanh da trời khi được nhuộm với dd giêm sa ở pH 7,2;
- 2.3 Cùng với việc gia tăng ký sinh trùng *P. falciparum* kháng thuốc, điều cần thiết nhất đó là việc chẩn đoán sốt rét phải được thực hiện một cách nhanh chóng và chính xác. Biện pháp hiệu quả nhất để có thể thực hiện được chính là soi các lam máu giọt dày và mỏng.

3. THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ

- 3.1 Các miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/ xanh da trời/ đỏ);
- 3.2 Ống lấy máu BD-microtainer EDTA 500 μ L, pipet kênh đơn với đầu tip dùng 1 lần 10 μ L, găng tay dùng một lần;
- 3.3 Các lam kính thủy tinh có một đầu nhám hay dán nhãn, hộp đựng lam kính;
- 3.4 Các viên muối đệm phosphate pH 7,2; Thuốc nhuộm giêm sa.

4. BỆNH PHẨM

4. Mẫu máu chích đầu ngón tay của người tham gia được lấy vào trong một ống BD-microtainer EDTA 500 μ L đã dán nhãn trước có chứa 130-150 μ L.

5. QUY TRÌNH

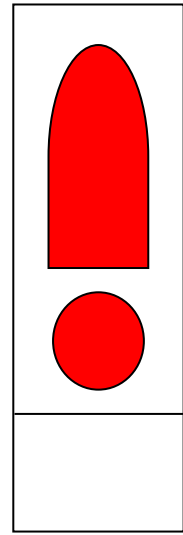
5.1 Chuẩn bị lam máu giọt dày và mỏng

- 5.1.1 Tiến hành theo các bước sau:

- a. Dán miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/xanh da trời/đỏ)
- b. Mang găng tay.
- c. Lau sạch lam kính bằng cồn 70-90% và để lam khô. Không được chạm vào bề mặt của lam nơi tạo thành lam máu;
- d. Pha trộn hỗn hợp trong ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 130-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia;
- e. Sử dụng một pipette kênh đơn với đầu tip 10 μ L dùng một lần, hút 5 μ L từ ống BD-microtainer EDTA 500 μ L và đưa lượng máu phù hợp (3-4 μ L) tới vùng bên phải của đầu nhám lam kính và tạo thành một lam máu giọt dày bằng cách xoay tròn giọt máu bằng một góc của một lam sạch để

có đường kính 10-15 mm và độ mỏng đủ nhìn thấy các kim của một chiếc đồng hồ đeo tay hoặc đọc được vùng chữ in nhỏ trên tờ báo (xem Phụ lục về hình thức của lam máu đã làm);

- f. Trên cùng lam kính đó, lấy phần máu còn sót lại trong pipette đưa sang bên phải của phần lam giọt dày vừa tạo. Một giọt mỏng được làm bằng cách lấy một lam sạch dàn đặt một góc 45° về phía giọt máu, đợi đến khi máu loang đều hết với lam dàn, giữ nguyên góc và đẩy lam dàn về phía trước một cách nhanh và nhẹ nhàng. Đối với nghiên cứu VCHAMS này thì chỉ một lam dày và mỏng được tạo ra trên mỗi bệnh nhân;



- 5.1.2 Đặt lam mỏng và dày trên một khối làm khô lam (37°C) trong vòng 20-30 phút hoặc cho đến khi máu chuyển từ màu đỏ sang màu nâu đỏ;
- 5.1.3 Chờ cho đến khi các lam giọt dày và giọt mỏng hoàn toàn khô trước khi nhuộm. Cố định lam giọt mỏng bằng cồn methanol (100%) và để nó khô hoàn toàn trước khi nhuộm.

6. NHUỘM LAM GIỌT DÀY, GIỌT MỎNG VÀ ĐỌC LAM

- 6.1 Lam giọt dày và mỏng được nhuộm chậm (dung dịch giêm sa 4% trong dung dịch đệm pH 7,2 trong 45 phút) tại trạm y tế nơi nghiên cứu VCHAMS này được tiến hành;
- 6.2 Sau khi nhuộm, rửa lam máu nhẹ nhàng bằng nước máy trong vài giây cho tới khi chỗ nhuộm thừa bị loại bỏ và để khô theo chiều thẳng đứng;
- 6.3 Lam này được đọc độc lập bởi hai kỹ thuật viên IMPE đã có chứng chỉ kỹ thuật viên kính hiển vi sốt rét của WHO cấp 1 hoặc 2.

7. CÁC CHẤT PHẢN ỨNG

- 7.1 Các dung dịch cần thiết dùng cho các lam máu dày và mỏng được chuẩn bị như sau:
- a. Viên muối đệm phosphate pH 7,2 LABCHEM: pha loãng 1 viên với 1.000 ml nước đã khử ion hóa;
- b. Pha loãng 5mL dd nhuộm giêm sa đã chuẩn bị với 45 mL dd đệm pH 7,2 trong một xi lanh đo 50mL. Lọc dd này vào trong lọ nhuộm ngay trước khi dùng. Một dd pha loãng chất nhuộm giêm sa mới phải được chuẩn bị ít nhất 1 lần một ngày và có thể làm thường xuyên hơn, phụ thuộc vào số lượng lam được xử lý;

- 7.2 Không chất phản ứng nào được sử dụng quá ngày hạn sử dụng.

8. KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

Chất lượng mỗi lam máu giọt dày và mỏng đã chuẩn bị phải được đánh giá vào thời điểm soi kính. Bất kỳ lam nào không được dàn, cố định hoặc nhuộm hợp lý phải được làm lại cho tới khi có được một lam với tiêu chuẩn chấp nhận được. Xem xét độ pH dung dịch đệm, chất lượng thuốc nhuộm và thời gian trước khi nhuộm bộ lam dày và mỏng thứ hai.

9. GHI CÁC KẾT QUẢ

Ghi các kết quả của việc đọc lam vào mẫu và vào danh sách kiểm tra các lam máu và giọt máu thu được.

SOP7: ĐỌC LAM MÁU CHẨN ĐOÁN SỐT RÉT CHO NGHIÊN CỨU

1. MỤC ĐÍCH

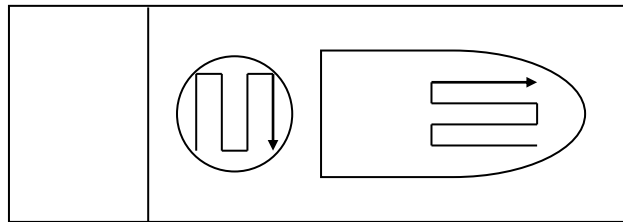
Quy trình thực hành chuẩn này mô tả quy trình kiểm tra lam máu phát hiện KSTSR và báo cáo kết quả.

2. QUY TRÌNH

- 2.1 Phải chuẩn bị một lam kính hiển vi dày và mỏng và phải nhuộm sớm nhất có thể tại trạm y tế xã được thực hiện nghiên cứu này. Các lam nên được nhuộm và đọc trong ít hơn 2-3 giờ sau khi lấy máu chích đầu ngón tay;
- 2.2 Nếu giọt dày và mỏng được chuẩn bị cùng nhau trên một lam máu, phải hết sức cẩn thận để chắc chắn là giọt dày không bị cố định khi dùng methanol cố định giọt mỏng;
- 2.3 Vì phải mất gần 10 lần khoảng thời gian để soi một giọt mỏng so với một giọt dày cùng đạt chuẩn, việc soi kiểm tra thường lệ lam máu giọt mỏng là điều không khuyến khích. Việc soi kiểm tra lam máu giọt mỏng chỉ khuyến khích trong hoàn cảnh sau:
 - a. Khi không có giọt dày;
 - b. Khi ở giọt dày được cố định hoặc khó đọc;
 - c. Khi cần thiết đọc để xác định việc định loại một loại KSTSR;
 - d. Đối với việc đọc đúng khi mật độ ký sinh trùng sốt rét là rất cao.

3. PHƯƠNG PHÁP SOI LAM

- 3.1 Việc soi thường quy giọt dày là dựa trên 200 VT đại diện dùng vật kính dầu x100. Đó là một lam máu có thể được gọi là âm tính chỉ sau khi không thấy KSTSR trong 200 vi trường với vật kính dầu x100. Biện pháp soi này được mô tả trong sơ đồ dưới:



- 3.2 Phương pháp định loại KSTSR bằng kính hiển vi
 - 3.2.1 Phương pháp định loại KSTSR bằng kính hiển vi như sau:
 - a. Bảo đảm rằng kính hiển vi bạn sắp sử dụng là sạch và đường dẫn ánh sáng tới vật kính là thẳng khi sử dụng;
 - b. Biết rõ các thành phần giả soi thấy trên kính hiển vi trong lam máu;
 - c. Quan sát những đặc điểm của các thành phần máu bình thường được nhuộm trên vi trường khi bạn soi kiểm tra lam. Nếu bạch cầu xuất hiện mờ và “bạc màu”, KSTSR cũng như thế, điều đó cho thấy khâu nhuộm là không chấp nhận được. Khi có thể, làm và nhuộm một giọt dày và giọt mỏng khác. Nếu điều này không thực hiện được, nhuộm lại lam máu sau khi rửa vài lần trong methanol.
 - d. KSTSR nhuộm nhạt màu xác định không được trên kính hiển vi. (tốt hơn khi có sẵn 100 lam giọt dày và mỏng chưa nhuộm từ một bệnh nhân dương tính đã biết. Các lam mỏng nên được cố định khi làm lam. Những lam này sau đó được nhuộm với các lam thường và sử dụng để kiểm tra chất lượng).
 - 3.2.2 Soi kiểm tra giọt dày phát hiện KSTSR. Những KST được nhuộm tốt cho những đặc điểm sau:
 - a. Chromatin là một phần của nhân KSTSR, thường có hình tròn, nhưng thỉnh thoảng bị bẹt ra và khi nhuộm có màu đỏ đậm;

- b. Nguyên sinh chất có hình dạng phong phú từ hình nhẵn đến những hình dạng không theo quy luật. Chúng bắt màu xanh da trời, mặc dù độ đậm của màu da trời có thể thay đổi giữa các loại KSTSR;
- c. Khi bạn tự tin bạn đã xác định được một KSTSR chứ không phải là tạp chất, xác định được loại KSTSR;
- d. Sự xuất hiện KSTSR và định loại KSTSR bởi 1 XNV độc lập khác. Chỉ khi cả 2 đồng ý thì mới là dương tính. Sự bất đồng thì được giải quyết bằng một XNV thứ 3 (kỹ thuật viên nhiều kinh nghiệm hơn).

4. ĐẾM VÀ ĐỌC MẬT ĐỘ KÝ SINH TRÙNG

- 4.1 Lam máu được đọc độc lập bởi hai kỹ thuật viên IMPE đã được chứng nhận bởi WHO (chứng nhận kỹ thuật viên kính hiển vi sốt rét cấp 1 hoặc 2).
- 4.2 Việc đếm KSTSR được tiến hành trên tất cả các lam máu dương tính và được thể hiện bằng số ký sinh trùng đếm được trên 1 microlit máu ($n/\mu L$).

5. PHƯƠNG PHÁP ĐẾM KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT

- 5.1 Có một vài biện pháp đếm ký sinh trùng sốt rét
 - a. Đếm số KSTSR thể vô tính trên lam máu giọt dày với lượng BC chưa biết. Nếu lượng BC là chưa biết, giả định nó là 8×10^9 BC/lít và đếm số KSTSR trên ít nhất 200 tế bào BC trên giọt dày. 500 BC được đếm khi mà ít hơn 100 KSTSR đếm được trên 200 BC. Sử dụng VK dầu 100x, chọn khu vực với 10-20 BC/vi trường. Đếm số KSTSR vô tính và số BC trong cùng 1 VT lam giọt dày.
 Tính toán: KST thể vô tính/ μL = (Số KSTSR vô tính đếm được / số BC đếm được) x 8,000 BC/ μL của người tham gia.
 - b. Nếu mật độ KSTSR (ví dụ >100 trên mỗi vi trường có mật độ cao, đếm số KST trên 10.000 hồng cầu (HC) trên lam giọt mỏng (khoảng 25 vi trường ở vùng có độ dày lý tưởng, với khoảng 400 HC mỗi vi trường), với giả sử là 5×10^9 HC/mL.
 Tính toán: KST vô tính/ μL = (Số KSTSR vô tính đếm được / 10.000 HC) x 5.000.000 HC/ μL của người tham gia.
 - c. **Đếm giao bào thể hữu tính (gametocyte) trên lam giọt dày.** Đếm giao bào trên ít nhất 1.000 BC trên lam giọt dày. Sử dụng VK dầu 100x, lựa chọn vùng có 10-20 BC/VT. Đếm số giao bào và BC trong cùng một VT giọt dày;
 Tính toán: Giao bào/ μL = (Số giao bào đếm được / số BC đếm được) x 8.000 BC/ μL

6. PHIÊN GIẢI KẾT QUẢ

- 6.1 Kết quả luôn được biểu thị bằng giai đoạn của KSTSR phát hiện được, loài KSTSR nhìn thấy và số lượng KSTSR trên mỗi microlitre máu;
- 6.2 Khi số lượng KSTSR thể vô tính ít hơn 10/200 BC ở các lam máu theo dõi tiếp theo, việc đếm thực hiện trên ít nhất 500 BC. Một lam máu được coi là âm tính khi soi đếm 1.000 BC mà không thấy KST thể vô tính;
- 6.3 Các lam máu có kết quả còn bất đồng (khác nhau giữa 2 kỹ thuật viên về mật độ ký sinh trùng >50% và về định loài KSTSR) được xem lại bởi XNV thứ ba và mật độ KST được tính bằng trung bình cộng của 2 giá trị gần nhất. Nếu có hơn 10% của số lam đã được xem lại có sự bất đồng, tất cả lam được xem lại trước khi phân tích;
- 6.4 Khi có sự khác biệt về kết quả giữa hai XNV >50%, yêu cầu XNV thứ ba xác nhận lại: XNV thứ nhất đếm 110 KST/ μL máu và XNV thứ hai đếm được 30 KST/ μL . XNV thứ hai đếm được 30 KST/ μL kết quả này không nằm trong phạm vi +/- 50% so với kết quả của XNV (55 tới 165 KST/ μL). Do vậy XNV thứ ba được yêu cầu phải đọc lam máu. Nếu người thứ ba có kết quả là 90 KST/ μL thì kết quả này được tính trung bình với kết quả đếm của người thứ nhất 110 KST/ μL (do kết quả này gần với 110 KST/ μL hơn là 30 KST/ μL) để ra 100 KST/ μL . Tuy nhiên nếu kết quả của người thứ ba là 66 KST/ μL (gần với 30 KST/ μL hơn là 110 KST/ μL) do vậy kết quả này được tính trung bình với kết quả đếm 30 KST/ μL để ra 48 KST/ μL máu
- 6.5 Bác sỹ nghiên cứu ghi MĐKSTSR của bệnh nhân vào mẫu báo cáo ca bệnh và kiểm tra dữ liệu nhập vào danh sách bởi các XNV IMPE tại TYT xã nghiên cứu.

SOP8: PHÂN TÍCH GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD)

BẢNG CÔNG CỤ CẢM BIẾN SINH HỌC

1. MỤC ĐÍCH

- 1.1 Quy trình thực hành chuẩn này mô tả các quy trình xác định hoạt độ enzyme G6PD ở những người không biểu hiện triệu chứng tham gia vào nghiên cứu tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông, Việt Nam.

2. DỤNG CỤ VÀ THIẾT BỊ

- 2.1 Máy phân tích cảm biến sinh học Care-START G6PD, que thử;
2.2 Các miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/ xanh da trời/ đỏ);
2.2 Găng tay dùng một lần;
2.3 Pipette kênh đơn với các đầu tip dùng một lần 10 μ L;
2.4 Ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 100-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia;
2.5 Túi thu thập găng tay và đầu tip pipette đã qua sử dụng

3. QUY TRÌNH

- 3.1 Kỹ thuật viên và bác sĩ nghiên cứu của IMPE nên chú ý đọc kỹ sách hướng dẫn sử dụng thiết bị cảm biến sinh học Care-START G6PD đi kèm với máy. Sách hướng dẫn này giúp bạn hiểu được làm thế nào để thiết lập máy phân tích và làm thế nào để tiến hành quy trình xác định hoạt động enzyme G6PD của những người tham gia vào nghiên cứu này.

	Đặc điểm kỹ thuật • Loại test định lượng tại chỗ (Quantitative point-of-care test); • Đo chính xác tổng hoạt độ G6PD; • Mẫu vật: Máu toàn phần; • Thể tích mẫu vật: 5 μL máu; • Thời gian kết quả 4 phút • Kích thước gói: ◦ Máy phân tích: 1 máy/hộp; ◦ Que : 25 que/lọ nhựa; ◦ Máy phân tích: 1 máy và 25 que/chai. • Các đặc điểm khác ◦ Cảm biến trong căn chỉnh nhiệt độ ◦ Bộ nhớ trong lưu trữ lên tới 1.000 kết quả test; ◦ Nạp máu tự động
---	--

- 3.2 Sách hướng dẫn sử dụng hướng dẫn bạn đi vào chế độ SETUP (thiết lập), Đặt giờ, ngày, tháng, năm, âm lượng của âm thanh cảnh báo;

- 3.3 Trước khi xét nghiệm một mẫu máu, kỹ thuật viên phải làm quen với sách hướng dẫn sử dụng vì trong sách có giải thích các Mã (Code) của máy phân tích và làm thế nào để thử máy bằng một que thử máy và một dung dịch đối chứng;
- 3.4 Quy trình test như sau:
- 3.4.1 Chạy test ở mức nhiệt độ từ 10°C đến 40°C;
 - 3.4.2 Nhấn cái nút ở giữa hoặc đưa que vào trong cổng chứa que để bật máy phân tích lên. Tất cả biểu tượng xuất hiện trên màn hình ngay và sau đó mã số (code) hiển thị trên màn hình;
 - 3.4.3 Nhấn nút ở giữa để vào chế độ đo (Measure mode);
 - 3.4.4 Lấy một que CareSTART G6PD Biosensor mới từ chai đựng và đóng nắp ngay sau khi lấy que ra;
 - 3.4.5 Đưa que này cùng với nhãn dán G6PD mặt hướng lên trên vào cho tới khi nó dừng lại. Một âm thanh bíp phát ra và biểu tượng giọt máu nhấp nháy;
 - 3.4.6 Sử dụng một pipet kênh đơn đầu tip 100 µL, hút 20 µL máu đã pha trong ống BD-microtainer EDTA 500 µL có chứa 120-150 µL máu chích đầu ngón tay của người tham gia vào trong que thử. Một âm thanh bíp phát ra khi buồng máu (5 µL) của que được lấp đầy máu;
 - 3.4.7 Một biểu tượng hình chữ nhật nhấp nháy trên màn hình và sau đó phép đo được tiến hành tự động với tiếng bíp phát ra. Việc đếm ngược bắt đầu từ 240;
 - 3.4.8 Khi đồng hồ đếm ngược về 1, kết quả test xuất hiện cùng với một đơn vị (U/dL) trên màn hình và được bộ nhớ máy phân tích lưu lại;
 - 3.4.9 Nhấn vào nút đẩy ra ở phía sau của máy phân tích để tháo que thử đã dùng khỏi máy phân tích;
 - 3.4.10 Để tắt máy phân tích, nhấn và giữ nút ở giữa trong 3 giây. Chữ “OFF” xuất hiện trên màn hình và máy tắt.
- 4. PHIÊN GIẢI KẾT QUẢ**
- 4.1 Máy phân tích cảm biến sinh học CareSTART G6PD đo tổng hoạt động enzyme G6PD trong máu toàn phần (U/Dl, đơn vị trên decilit (100mL));
 - 4.2 Phạm vi của kết quả test: 0-300 U/dL của máu;
 - 4.3 Hoạt động G6PD được chuyển đổi sang U/g Hb để tính ra ngưỡng lâm sàng đối với các hoạt động enzyme G6PD thông thường, trung bình và thiếu.
 - 4.4 Các kết quả mỗi người tham gia được ghi vào sách sách.

SOP9: ĐO NỒNG ĐỘ HEMOGLOBIN (Hb) TRÊN MÁY CẦM TAY

1. MỤC ĐÍCH

- 1.1 Quy trình thực hành chuẩn này mô tả quy trình xác định nồng độ Hb trong người không biểu hiện triệu chứng trong nghiên cứu tại huyện Tuy Đức, tỉnh Đắk Nông.

2. DỤNG CỤ VÀ THIẾT BỊ

- 2.1 Máy careSTART Hb (Hệ thống Hemoglobin) và các que cùng với các chip Code
2.2 Các miếng dán đã ghi nhãn sẵn số ID nghiên cứu và ngày thu thập (thông tin được viết bằng một cây bút mực không trôi màu đen/ xanh da trời/ đỏ);
2.3 Găng tay dùng một lần;
2.4 Pipette kênh đơn với các đầu tip dùng một lần 10 μ L;
2.5 Ống BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 125-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia;
2.6 Túi thu thập găng tay và đầu tip pipette đã qua sử dụng.

3. QUY TRÌNH

- 3.1 Kỹ thuật viên và bác sĩ nghiên cứu của IMPE nên chú ý đọc kỹ sách hướng dẫn sử dụng máy CareSTART Hb (Hệ thống theo dõi Hemoglobin) đi kèm với máy. Sách hướng dẫn này giúp bạn hiểu được làm thế nào để cài đặt đồng hồ đo của máy phân tích và làm thế nào để tiến hành quy trình xác định nồng độ Hb của người tham gia nghiên cứu này;
- 3.2 Sách hướng dẫn còn hướng dẫn thiết lập hệ thống theo dõi Hb, cài đặt giờ, ngày, tháng, năm, âm lượng của âm thanh cảnh báo;
- 3.3 Kiểm tra dung dịch đối chứng: Xác nhận rằng đồng hồ của máy đo và các que thử hoạt động tốt. Sử dụng dung dịch đối chứng chuyên biệt “VERI-Q hemoglobin control solution”. Để kiểm tra chất lượng dung dịch đối chứng tiến hành như sau:
- 3.3.1 Đưa chip mã vào;
- 3.3.2 Nhấn và giữ nút nguồn khoảng 3 giây tới khi nghe tiếng bíp phát ra;
- 3.3.3 Nhấn nút ▲ dòng thông báo “Ctl” xuất hiện trên màn hình LCD;
- 3.3.4 Nhấn nút nguồn;
- 3.3.5 Đưa que thử vào và kiểm tra mã số trùng với mã số ghi trên chai đựng que thử;
- 3.3.6 Lắc chai dung dịch đối chứng. Nhẹ nhàng nhấn vào chai cho tới khi tạo thành một giọt dung dịch. Vứt bỏ giọt đầu tiên và lặp lại cho tới khi tạo thành một giọt mới;
- 3.3.7 Chạm giọt này vào đầu rãnh máu vào của que thử sao cho dung dịch này bị hút vào trong que thử. Khi dung dịch đã đưa vào trong que thử, phép đo bắt đầu;
- 3.3.8 Sau 5 giây, biểu tượng $\checkmark$ (biểu tượng dung dịch đối chứng) và giá trị phép đo hiển thị trên màn hình LCD.
- 3.4 Quy trình test như sau:
- 3.4.1 Đảm bảo trùng khớp mã trên que code với mã ghi trên chai đựng que thử;
- 3.4.2 Đưa que có code sẵn vào. Đưa que có code vào;
- 3.4.3 Đưa que vào cho tới khi kêu tiếng “bíp” và kiểm tra mã số trên chai đựng que thử;
- 3.4.4 Sử dụng pipette kênh đơn đầu tip dùng một lần 10 μ L, chuyển 7 μ L từ ống hỗn hợp BD-microtainer EDTA 500 μ L có chứa 120-150 μ L máu chích đầu ngón tay của người tham gia lên đầu rãnh máu vào của que thử sao cho máu được hút vào que thử;
- 3.4.5 Kết quả của phép đo Hb hiển thị trong vòng 5 giây;

3.4.6 Những hạn chế:

- Nếu kết quả đo được lớn hơn 25 g/dL, trên màn hình có thông báo HI (cao)
- Nếu kết quả đo được nhỏ hơn 5 g/dL, trên màn hình có thông báo LO (thấp).
- Nếu cả hai thông báo HI hoặc LO đều xuất hiện thì làm lại phép đo bằng một que test mới.

4. PHIÊN GIẢI KẾT QUẢ

- 4.1 Máy Care-START Hb (Hệ thống theo dõi Hb) đo nồng độ Hb trong máu toàn phần (g/dL, g trên decilit (100 mL);
- 4.2 Ngưỡng bình thường phụ thuộc vào tuổi và giới tính từng người. Ví dụ, trẻ em từ 9-12 tuổi có ngưỡng bình thường là từ 120-150g/dL trong khi người lớn tuổi từ 45-64 có ngưỡng bình thường là từ 131-172 g/dL đối với nam và từ 117-160 g/dL đối với nữ;
- 4.3 Kết quả mỗi người tham gia được lưu trong danh sách.

5. BẢO QUẢN QUE TEST HAEMOGLOBINE (Hb)

- 5.1 Bảo quản các que test ở nhiệt độ xác định (8-30°C);
- 5.2 Giữ các que test tránh xa ánh sáng mặt trời trực tiếp;
- 5.3 Các que code đo mức Hb phải được lưu/ bảo quản cả trong đồng hồ của thiết bị hoặc trong lọ chứa que.
- 5.4 Bảo quản máy này trong nhiệt độ từ 10-40°C.

6. NGUY HIỂM

Không được để dung dịch đối chứng tiếp xúc trực tiếp với da hoặc mắt kỹ thuật viên vì nó có thể gây ngứa rát,

SOP10: THEO DÕI NHIỆT ĐỘ TỦ ĐÔNG TRONG NGHIÊN CỨU

1. MỤC ĐÍCH

- 3.1 Quy trình này tóm lược việc theo dõi nhiệt độ tủ đông thường quy dùng để bảo quản các ống ly tâm 1,5 mL eppendorf® LoBind dùng cho chiết xuất DNA/RNA.

2. THIẾT BỊ

- Tủ đông (phạm vi nhiệt độ -18°C tới -25°C);
- Thiết bị cảnh báo nhiệt độ (Parmer Cat No. 401012 (-50°C to 70°C)).

3. QUY TRÌNH

- 3.1 Kỹ thuật viên IMPE chịu trách nhiệm việc ghi chép hàng ngày nhiệt độ của tủ đông để đảm bảo rằng các ống ly tâm 1,5 mL Eppendorf® LoBind dùng cho chiết xuất DNA/RNA được duy trì ở -20°C;
- 3.2 Kỹ thuật viên này báo cáo cho bác sĩ nghiên cứu nếu nhiệt độ của tủ đông ghi được vượt quá phạm vi nhiệt độ chấp nhận được;
- 3.3 Bác sĩ nghiên cứu IMPE kiểm tra và ký tên hàng tuần rằng việc theo dõi nhiệt độ của tủ đông được thực hiện.

Tủ đông: Nhân hiệu/ Kiểu mẫu/ Số Seri.

TT	Thứ	Ngày	Thời gian (h)	Tủ đông	Chữ ký của Kỹ thuật viên	Chữ ký của bác sĩ nghiên cứu
				Phạm vi Nhiệt độ Cho phép (-18 to -25°C)		
1	Thứ Hai					
2	Thứ Ba					
3	Thứ Tư					
4	Thứ Năm					
5	Thứ Sáu					
6	Thứ Bảy					
7	Chủ Nhật					
8	Thứ Hai					
9	Thứ Ba					
10	Thứ Tư					
11	Thứ Năm					
12	Thứ Sáu					
13	Thứ Bảy					
14	Chủ Nhật					