

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*

PHẠM VĂN KHANG

**THỰC TRẠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ
CỦA BỆNH THAN TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN NÚI
PHÍA BẮC VIỆT NAM, 2010 - 2022**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI – 2024

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*-----

PHẠM VĂN KHANG

**THỰC TRẠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ
CỦA BỆNH THAN TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN NÚI
PHÍA BẮC VIỆT NAM, 2010 - 2022**

Ngành : Y học dự phòng

Mã số : 9 72 01 63

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. TRẦN NHƯ DƯƠNG

2. PGS. TS. PHẠM QUANG THÁI

HÀ NỘI - 2024

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới PGS. TS. Trần Như Dương và PGS. TS. Phạm Quang Thái, những người thầy đã tận tình hướng dẫn, động viên và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn PGS. TS. Hoàng Thị Thu Hà đã tận tình chỉ bảo và đóng góp những ý kiến quý báu trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành bản luận án này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Lãnh đạo Viện, Phòng Đào tạo Sau đại học, Bộ môn Y học Dự phòng - Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, các đồng nghiệp của tôi trong Văn phòng TCMR miền Bắc, Khoa Kiểm soát bệnh truyền nhiễm, Khoa Vi khuẩn, Phòng Kế hoạch Hợp tác Quốc tế, các phòng ban, cán bộ của Viện đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện nghiên cứu.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn tới các bạn đồng nghiệp thực hiện Dự án tại 6 tỉnh khu vực miền núi phía Bắc, Trường đại học Florida, DTRA, Hoa Kỳ, đặc biệt là các đồng nghiệp tại Trung tâm kiểm soát bệnh tật tỉnh Hà Giang, Sơn La đã sát cánh cùng tôi thực hiện nghiên cứu này tại địa phương.

Cuối cùng tôi luôn ghi nhớ và tri ân sâu sắc tới những người thân yêu trong gia đình và bạn bè đã là nguồn động lực lớn lao cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành bản luận án này. Đây là món quà đặc biệt tôi muốn gửi đến cha mẹ, vợ và các con của tôi.

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Tác giả luận án

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là: Phạm Văn Khang; nghiên cứu sinh khóa 40, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương; chuyên ngành Y học Dự phòng, xin cam đoan:

1. Đây là công trình nghiên cứu do bản thân trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của các Thầy giáo PGS.TS. Trần Như Dương và PGS.TS. Phạm Quang Thái;
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam và trên thế giới;
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam đoan này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2024

Người viết cam đoan

Phạm Văn Khang

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	i
LỜI CAM ĐOAN	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC VIẾT TẮT	vii
DANH MỤC BẢNG	ix
DANH MỤC BIỂU ĐỒ	x
DANH MỤC HÌNH	xi
DANH MỤC BẢN ĐỒ	xii
ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Đại cương bệnh than.....	3
1.1.1. Thông tin chung về bệnh than.....	3
1.1.2. Tác nhân gây bệnh.....	4
1.1.3. Đặc điểm lâm sàng của bệnh than.....	4
1.1.4. Nguồn truyền nhiễm và phương thức lây truyền của bệnh than.....	7
1.1.5. Các biện pháp dự phòng.....	9
1.2. Thực trạng bệnh than trên người.....	9
1.2.1. Trên thế giới.....	9
1.2.2. Tại Việt Nam.....	12
1.3. Thực trạng bệnh than trên động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường... ..	13
1.3.1. Thực trạng bệnh than trên động vật.....	13
1.3.2. Thực trạng tác nhân gây bệnh than ở môi trường.....	13
1.4. Các yếu tố nguy cơ của bệnh than trên người.....	14
1.4.1. Các yếu tố cá nhân.....	14
1.4.2. Các yếu tố môi trường.....	16
1.4.3. Các yếu tố thuộc về hệ thống y tế, thú y.....	18

1.4.4. Các yếu tố kinh tế - văn hoá - xã hội	20
1.5. Sinh học phân tử của vi khuẩn <i>B. anthracis</i>	21
1.5.1. Phân bố các chủng <i>B. anthracis</i> trên thế giới.....	21
1.5.2. Phân bố các chủng <i>B. anthracis</i> tại Việt Nam	27
1.6. Các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn <i>B. anthracis</i> trong phòng thí nghiệm...	28
1.6.1. Nuôi cấy, định danh vi khuẩn	28
1.6.2. Phản ứng hạt trai.....	31
1.6.3. Phương pháp kháng thể huỳnh quang	31
1.6.4. Phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp	31
1.6.5. Các phương pháp sinh học phân tử.....	32
1.7. Một số đặc điểm địa lý, kinh tế, văn hóa xã hội, tỉnh Hà Giang và tỉnh Sơn La	37
1.8. Khung lý thuyết	38
CHƯƠNG 2: PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	39
2.1. Phương pháp nghiên cứu cho mục tiêu 1	39
2.1.1. Thiết kế nghiên cứu.....	39
2.1.2. Thời gian	39
2.1.3. Địa điểm	39
2.1.4. Đối tượng nghiên cứu.....	39
2.1.5. Cỡ mẫu	42
2.1.6. Thu thập thông tin	42
2.1.7. Quản lý và phân tích số liệu	43
2.1.8. Sai số và biện pháp hạn chế sai số	44
2.2. Phương pháp nghiên cứu cho mục tiêu 2	44
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	44
2.2.2. Thời gian	45
2.2.3. Địa điểm	45
2.2.4. Đối tượng nghiên cứu.....	45
2.2.5. Cỡ mẫu	46

2.2.6. Thu tuyển đối tượng.....	47
2.2.7. Quy trình nghiên cứu.....	50
2.2.8. Thu thập thông tin cho nghiên cứu bệnh chứng.....	52
2.2.9. Quản lý và phân tích số liệu cho nghiên cứu bệnh chứng	54
2.2.10. Sai số và biện pháp hạn chế sai số	54
2.3. Phương pháp nghiên cứu cho mục tiêu 3	55
2.3.1. Thiết kế nghiên cứu.....	55
2.3.2. Thời gian	55
2.3.3. Địa điểm	55
2.3.4. Đối tượng nghiên cứu.....	56
2.3.5. Cỡ mẫu	56
2.3.6. Sơ đồ nghiên cứu.....	56
2.3.7. Phân tích phòng thí nghiệm.....	56
2.4. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu	62
2.5. Đạo đức trong nghiên cứu	62
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	64
3.1. Thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022	64
3.1.1. Bệnh than trên người.....	64
3.1.2. Bệnh than trên động vật	79
3.1.3. Tác nhân gây bệnh than trong môi trường (đất)	83
3.2. Một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022	84
3.2.1. Đặc điểm nhóm tuổi, giới tính của đối tượng nghiên cứu	84
3.2.2. Các yếu tố nguy cơ bên ngoài đến khả năng mắc bệnh than	85
3.2.3. Phân tích đa biến các yếu tố nguy cơ mắc bệnh than	89
3.3. Một số đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn Bacillus anthracis phân lập được ở bệnh nhân tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022.....	91
3.3.1. Đặc điểm dịch tễ vụ dịch bệnh than tại Sơn La, 2022	91

3.3.2. Đặc điểm dịch tễ vụ dịch bệnh than tại Hà Giang 2019, 2020	93
3.3.3. Các mô hình không gian và phát sinh loài, xác định nguồn lây nhiễm của <i>B. anthracis</i> trong vụ dịch bệnh than ở tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2019-2022.....	94
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	101
4.1. Thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022	101
4.2. Một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022	112
4.3. Một số đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn <i>Bacillus anthracis</i> phân lập được ở bệnh nhân tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022	123
KẾT LUẬN	134
KHUYẾN NGHỊ.....	136
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ	
CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC VIẾT TẮT

STT	Viết tắt	Viết đầy đủ tiếng Anh	Viết đầy đủ tiếng Việt
1	ALT		Độ cao
2	BANG		Bangladesh
3	BNN & PTNT		Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn
4	BSL3	Biosafety level 3	An toàn sinh học cấp 3
5	BYT		Bộ Y tế
6	canSNP	Single nucleotide polymorphism	Phân tích đa hình đơn nucleotide
7	CDC	Control Disease Center	Trung tâm Phòng ngừa và Kiểm soát Bệnh tật
8	cgMLST	Core genome multilocus sequence	Trình tự đa vị trí bộ gen lõi
9	CHI		Trung Quốc
10	CO ₂		Cacbon đi ô xít
11	DBI		Điện Biên
12	DDBJ	Japan DNA Data Bank	Ngân hàng Dữ liệu DNA Nhật Bản
13	EBS	Event-Based Surveillance	Giám sát dựa vào sự kiện
14	ENP	Etosha National Park, Namibia	Công viên quốc gia Etosha, Namibia
15	GPS	Global Positioning System	Hệ thống định vị toàn cầu
16	GT	Genotype	Kiểu gen
17	HBA		Môi trường thạch đậu nành trypticase
18	HGA		Hà Giang
19	INDI		Ấn Độ
20	INDO		Indonesia
21	ITAL		Ý
22	LAT		Kinh độ
23	LCH		Lai Châu
24	LON		Vĩ độ

STT	Viết tắt	Viết đầy đủ tiếng Anh	Viết đầy đủ tiếng Việt
25	MALDI TOF		Máy nuôi cấy định danh vi khuẩn
26	MLVA	Multiple Locus Variable number tandem repeat Analysis	Kỹ thuật phân tích trình tự lặp lại các locus
27	NCBI	National Center for Biotechnology Information	Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia
28	NIHE	National Institute of Hygiene and Epidemiology	Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương
29	PBS	Phosphate buffered saline solution	Dung dịch muối đệm phốt phát
30	PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi Polymeraza
31	PhaME	Phylogenetic Analysis and Molecular Evolution	Phân tích Phát sinh loài và Tiến hóa phân tử
32	PLET	Polymyxin-Lysozyme-EDTA-Thallos acetate	Đĩa thạch polymyxin-lysozyme-EDTA- thallos acetate
33	RUSS		Nga
34	SAT	Standard agglutination test	Thử nghiệm ngưng kết tiêu chuẩn
35	SCOT		Scotland
36	SLA		Son La
37	TEA	Trans-Eurasian	Xuyên Á-Âu
38	THAI		Thái Lan
39	TKSBT		Trung tâm kiểm soát bệnh tật
40	TTLT		Thông tư liên tịch
41	TTYT		Trung tâm Y tế
42	TYT		Trạm Y tế
43	VN		Việt Nam
44	VSDTTU'		Vệ sinh dịch tễ Trung ương
45	WgSNP	Whole Genome Single Nucleotide Polymorphism	Phân tích đa hình đơn nucleotide toàn bộ bộ gen

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	So sánh tính chất sinh vật hoá học của <i>B. anthracis</i> và <i>B. cereus</i> ...	30
Bảng 1.2.	Trình tự các môi cho phản ứng PCR đa môi	34
Bảng 1.3.	Trình tự môi phát hiện vật liệu di truyền vi khuẩn <i>B. anthracis</i> bằng kỹ thuật LAMP.....	36
Bảng 2.1.	Các dấu hiệu/triệu chứng lâm sàng bệnh than trên người	41
Bảng 2.2.	Tổng hợp cỡ mẫu trong nghiên cứu.....	63
Bảng 3.1.	Tổng hợp trường hợp bệnh than tại Hà Giang, Sơn La	64
Bảng 3.2.	Phân bố trường hợp bệnh than theo tuổi và giới tính	69
Bảng 3.3.	Bảng phân loại trường hợp bệnh theo tiền sử tiếp xúc	70
Bảng 3.4.	Phân loại trường hợp bệnh theo thể bệnh và kết quả điều trị.....	72
Bảng 3.5.	Phân bố trường hợp mắc bệnh than trên gia súc tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2010 – 2022, theo số liệu thống kê của Chi cục Thú y tỉnh	81
Bảng 3.6.	Kết quả xét nghiệm bệnh phẩm trên động vật tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2010-2022, theo số liệu lưu giữ trong sổ xét nghiệm tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương	82
Bảng 3.7.	Kết quả xét nghiệm PCR các mẫu đất tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2016-2022	83
Bảng 3.8.	Đặc điểm nhóm tuổi, giới tính của đối tượng nghiên cứu.....	84
Bảng 3.9.	Các yếu tố nguy cơ bên ngoài đến khả năng mắc bệnh than.....	85
Bảng 3.10.	Tổng hợp các yếu tố nguy cơ có ý nghĩa trong phân tích đơn biến	88
Bảng 3.11.	Phân tích đa biến các yếu tố nguy cơ mắc bệnh than.....	89
Bảng 3.12.	Mô hình khả dĩ để đánh giá và tiên lượng nguy cơ mắc bệnh than... 90	90
Bảng 3.13.	Phân bố trường hợp phơi nhiễm, lâm sàng, xét nghiệm theo thôn.....	92
Bảng 3.14.	Phân bố các chủng <i>B.anthraxis</i> phân lập được tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La theo nguồn mẫu bệnh phẩm	94

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Phân bố tỷ lệ mắc bệnh than/100.000 dân tại hai tỉnh	65
Biểu đồ 3.2.	Phân bố trường hợp bệnh than theo thời gian	66
Biểu đồ 3.3.	Phân bố trường hợp bệnh than theo huyện thuộc tỉnh Hà Giang ..	68
Biểu đồ 3.4.	Phân bố trường hợp bệnh than theo huyện thuộc tỉnh Sơn La ...	68
Biểu đồ 3.5.	Phân loại trường hợp bệnh theo chẩn đoán.....	71
Biểu đồ 3.6.	Phân bố trường hợp mắc bệnh theo ngày khởi phát	74
Biểu đồ 3.7.	Phân bố các trường hợp bệnh theo tuổi và giới tính	75
Biểu đồ 3.8.	Phân bố trường hợp bệnh than theo thời gian mắc và giới tính ..	77
Biểu đồ 3.9.	Phân bố tỷ lệ mắc bệnh theo nhóm tuổi	78
Biểu đồ 3.10.	Phân bố đàn trâu, gia súc, dê tại Hà Giang 2010-2022.....	79
Biểu đồ 3.11.	Phân bố đàn trâu, gia súc, dê tại Sơn La 2010-2022.....	80
Biểu đồ 3.12.	Diễn biến theo thời gian vụ dịch bệnh than tại Sơn La 2022.....	91
Biểu đồ 3.13.	Diễn biến theo thời gian vụ dịch bệnh than tại Hà Giang năm 2019, 2020.....	93
Biểu đồ 3.14.	Phân bố kiểu gen tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La theo nguồn gốc mẫu phân lập	95
Biểu đồ 3.15.	Phân bố các chủng <i>B.anthraxis</i> tại các tỉnh Hà Giang, Sơn La phân lập được theo thời gian	96

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Mô hình lan truyền vi khuẩn <i>B. anthracis</i> giữa động vật, môi trường và con người	8
Hình 1.2. Phân bố các chủng <i>B. anthracis</i> trên thế giới	22
Hình 1.3. Hình ảnh khuẩn lạc vi khuẩn <i>B. anthracis</i> trên môi trường SAB.....	29
Hình 1.4. Hình ảnh nhuộm Gram của <i>B. anthracis</i>	30
Hình 1.5. Khung lý thuyết của đề tài.....	38
Hình 2.1. Lưu đồ thu tuyển bệnh nhân cho nghiên cứu	48
Hình 2.2. Sơ đồ nghiên cứu dịch tễ học phân tử	56
Hình 2.3. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu	63
Hình 3.1. Trường hợp bệnh nhân tại vụ dịch.....	73
Hình 3.2. Khu vực tiếp xúc với đất của trẻ con tại ổ dịch.....	76
Hình 3.3. Cây phát sinh loài các chủng <i>B.anthraxis</i> tại Sơn La, Hà Giang có so sánh với các khu vực khác dựa trên phân tích Multiple Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA-25).....	97
Hình 3.4. Cây phát sinh loài các chủng <i>B.anthraxis</i> tại Sơn La, Hà Giang và các khu vực khác dựa trên phân tích Whole genome Single Nucleotide Polymorphism (wgSNP)	99

DANH MỤC BẢN ĐỒ

Bản đồ 3.1. Phân bố trường hợp bệnh than từ 2010 - 2022 tại Hà Giang (B), Sơn La (A), tại khu vực miền Bắc Việt Nam (C)	67
--	----

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh than (Anthrax) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm lây truyền từ động vật sang người (Anthropozoonosis) do vi khuẩn *Bacillus anthracis* (*B. anthracis*) gây ra. Trên người, bệnh thường gây tổn thương ở da, ít gặp hơn tổn thương ở họng, đường hô hấp, hoặc tiêu hoá. Tỷ lệ tử vong của bệnh than khác nhau giữa các thể lâm sàng: 85-90% thể hô hấp, 50% thể tiêu hóa, 20% thể da, tỷ lệ tử vong của bệnh giảm xuống khi được điều trị kháng sinh kịp thời [26, 66, 68, 95, 122]. Đối với động vật, bệnh gây chết đột ngột, trước khi chết có dấu hiệu sốt cao, chảy máu quanh mũi, miệng và hậu môn [153]. *B. anthracis* là vi khuẩn gram dương, hình que, có khả năng tạo nha bào tồn tại lâu dài trong môi trường [131]. Vi khuẩn xâm nhập vào con người hoặc gia súc qua da bị tổn thương hoặc qua niêm mạc đường hô hấp hay đường tiêu hoá [102].

Vào thế kỷ 14, thế giới đã ghi nhận vụ dịch than tại Đức với trường hợp bệnh mắc rải rác trên động vật (cừu, dê, thú nuôi) và người. Đến thế kỷ 17, các vụ dịch than được phát hiện tại Nga và một số nước Trung Âu [112]. Tại Trung Quốc ghi nhận trung bình 2000 trường hợp bệnh than hàng năm từ 1995-2014 [81]. Bệnh xuất hiện ở khắp nơi trên thế giới với khoảng 20.000-100.000 trường hợp mỗi năm chủ yếu ở khu vực nông thôn, miền núi và các nước không có chương trình tiêm chủng vắc xin cho gia súc [7, 103]. Tại Việt Nam bệnh than là bệnh thường gặp tại một số tỉnh miền núi phía Bắc trong đó có tỉnh Sơn La và Hà Giang. Giai đoạn trước năm 2011 tại khu vực này ghi nhận trung bình từ 12-191 trường hợp mỗi năm với hầu hết là ca bệnh thể da [5, 8].

Bệnh than thường không xuất hiện dưới dạng các ca mắc tản phát mà thành các vụ dịch nhỏ hoặc trung bình với yếu tố nguy cơ mắc phổ biến là sống gần khu vực trang trại nuôi gia súc, những nơi chăn thả gia súc không có hàng rào che chắn [93, 110]. Một số ổ dịch bệnh than xảy ra khi có tiếp xúc được ghi nhận như: giết mổ, ăn thịt, chế biến... gia súc ốm, chết; cách xử lý động vật ốm chết không đúng cách [53, 105].

Về đặc điểm sinh học phân tử, trên thế giới có khoảng 1.033 chủng *B. anthracis* phân bố thành 12 nhóm phụ và dưới nhóm phụ là 221 kiểu gen khác nhau. Trong 12 nhóm phụ được phân thành 3 nhóm lớn (A, B, C). Nhóm A được phân tán rộng rãi trên toàn cầu, nhóm B và C có quy mô hẹp hơn [113]. Tại Việt Nam các nghiên cứu về đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn than còn rất hạn chế. Một số ít các nghiên cứu trên quy mô nhỏ cho thấy các chủng *B. anthracis* ở Việt Nam thuộc dòng canSNP của A.Br.011/009, hầu hết bao gồm các chủng thuộc nhóm TEA (Trans-Eurasian) [127]. Việc phân tích được đặc điểm kiểu gen sẽ giúp cho việc điều tra nguồn gốc của vụ dịch qua đó góp phần trong việc xây dựng kế hoạch phòng chống dịch bệnh than.

Hà Giang và Sơn La là những tỉnh thường xuyên ghi nhận ca bệnh than hàng năm, tuy nhiên số liệu báo cáo chưa đầy đủ, yếu tố nguy cơ và nguồn lây chưa được xác định rõ ràng, ngoài ra thông tin về kiểu gen của vi khuẩn than tại đây chưa được nghiên cứu nhiều. Vậy thực trạng bệnh than tại các tỉnh này trong những năm qua như thế nào? Những yếu tố nào là nguy cơ của bệnh than tại hai tỉnh nghiên cứu? Đặc điểm sinh học phân tử của tác nhân gây bệnh như thế nào? Trả lời được những câu hỏi này sẽ giúp cho sự hiểu biết được toàn diện hơn về bệnh than tại một số tỉnh khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam, đồng thời là cơ sở cho các nhà chuyên môn, các nhà quản lý trong việc xây dựng kế hoạch, đề ra các chiến lược cho việc phòng chống dịch bệnh than. Chính vì những lý do trên, chúng tôi thực hiện nghiên cứu: “***Thực trạng và một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại một số tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam, 2010 - 2022***” với ba mục tiêu như sau:

1. *Mô tả thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022.*
2. *Xác định một số yếu tố nguy cơ mắc bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022.*
3. *Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của chủng Bacillus anthracis phân lập được tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN

1.1. Đại cương bệnh than

1.1.1. Thông tin chung về bệnh than

Bệnh than là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm lây truyền từ động vật sang người do vi khuẩn *B. anthracis* gây ra. Bệnh than được xác định gây bệnh chủ yếu trên động vật ăn cỏ hoang dã và gia súc, xuất hiện ở khắp nơi trên thế giới với tỷ lệ nhiễm cao nhất ở các nước không có chương trình tiêm chủng vắc xin cho gia súc [7, 103].

Bệnh than được chia ra thành bốn thể lâm sàng chính dựa trên đường xâm nhập của vi khuẩn và các triệu chứng lâm sàng, bao gồm bệnh than lây qua đường hô hấp khi hít phải nha bào của vi khuẩn, bệnh lây qua đường tiêu hóa khi ăn phải thực phẩm hay uống nước nhiễm nha bào than, bệnh lây qua da thông qua vết thương hở trên da hoặc niêm mạc và bệnh than lây qua đường tiêm truyền xảy ra chủ yếu ở người tiêm chích ma túy [134].

Bệnh than là một bệnh có tỷ lệ tử vong cao với triệu chứng khởi phát bệnh xuất hiện trong 2-6 ngày nhưng cũng có thể kéo dài vài tuần trước khi có triệu chứng đầu tiên, bệnh nhân tử vong trong vòng 1-3 ngày nếu không được điều trị kháng sinh kịp thời. Tỷ lệ tử vong của bệnh than là khác nhau giữa các thể lâm sàng như sau: 85-90% khi lây qua đường hô hấp, 50% lây truyền qua đường tiêu hóa, 34-47% đối với bệnh khi lây qua đường tiêm truyền, 20% đối với bệnh khi lây qua da (tỷ lệ tử vong của bệnh lây qua da có thể giảm xuống dưới 1% khi được điều trị kịp thời với kháng sinh [26, 66, 68, 95, 122]).

Bệnh than có thể dự phòng bằng vắc xin, điều trị bằng kháng sinh và các biện pháp điều trị hỗ trợ khác như giải độc tố. Tuy nhiên, vắc xin cho người hiện chủ yếu được sử dụng cho các đối tượng nguy cơ cao như quân nhân trong các cuộc tấn công sinh học [84].

1.1.2. Tác nhân gây bệnh

Vi khuẩn *B. anthracis* có kích thước từ 1-1,5 x 3 μm có hai đầu vuông, đứng riêng rẽ hoặc xếp thành chuỗi. Sức đề kháng của trực khuẩn than kém, dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát trùng thông thường, nhiệt độ 50-58°C sau 15-40 phút, 100°C sau 10 phút, ánh sáng mặt trời sau 10-16 giờ. Tuy nhiên đây là vi khuẩn gram dương, hình que, có khả năng tạo nha bào [131]. Khi điều kiện môi trường không cho phép, *B. anthracis* có khả năng sinh nha bào và tồn tại lâu dài trong môi trường, do đó nguy cơ nhiễm bệnh cho người và động vật sẽ kéo dài nhiều năm sau khi có trường hợp bệnh than được xác định [32, 49]. Nha bào có khả năng chịu được các tác động của môi trường xung quanh như nhiệt độ, pH, khô hạn, hoá chất diệt khuẩn, phóng xạ và các điều kiện bất lợi tương tự. Khi ở trong cơ thể vật chủ, *B. anthracis* tồn tại ở dạng sinh dưỡng, nhân lên, tạo ra độc tố và gây chết vật chủ. Quá trình nha bào hóa xảy ra ngoài cơ thể vật chủ khi vi khuẩn tiếp xúc với oxy trong không khí. Chu trình chuyển đổi từ dạng sinh dưỡng-nha bào và ngược lại là quá trình quan trọng giúp cho vi khuẩn tồn tại lâu dài và gây nhiễm cho vật chủ tiếp theo, thậm chí đến hàng trăm năm sau khi vật chủ trước đó chết đi, khiến cho bệnh than là bệnh không thể loại trừ ngay cả khi có vắc xin [73, 131].

1.1.3. Đặc điểm lâm sàng của bệnh than

Mỗi thể lâm sàng đều có biểu hiện và triệu chứng khu trú hay toàn thân khác nhau. Tuy nhiên, cả bốn thể lâm sàng đều có thể tiến triển thành viêm màng não xuất huyết và nhiễm khuẩn huyết, đây là tình trạng bệnh lý nghiêm trọng với các biểu hiện như đau cổ, đau đầu, thay đổi trạng thái tinh thần, nôn và sốt cao. Tình trạng viêm màng não cấp tính kèm theo phù nề, dẫn tới tăng áp lực nội sọ và có máu trong dịch não tủy. Tình trạng nhiễm khuẩn huyết xảy ra khi vi khuẩn than lan từ hạch bạch huyết vào máu, gây ra nhiễm độc máu đột ngột; sốc; bệnh nhân bị khó thở; tím tái; mất phương hướng; hôn mê và tử vong xảy ra chỉ trong vài giờ [131].

a. Đặc điểm lâm sàng của bệnh than lây truyền qua da

Do da bị tổn thương tiếp xúc trực tiếp với máu, các chất thải, các mô, lông, da, xương của động vật mắc bệnh than hoặc tiếp xúc với các sản phẩm làm từ những nguyên liệu của động vật bị nhiễm bệnh như mặt trống, bàn chải, áo da. Bệnh có thể lây truyền qua tiếp xúc với đất bị nhiễm nha bào than trong quá trình giết mổ hoặc sử dụng phân bón chế biến từ xương động vật bị mắc bệnh. Bệnh than lây truyền qua da chiếm đến trên 95% tổng số trường hợp mắc bệnh than trên người [5, 131, 132]. Vẩy đen trên da tại vết thương phơi nhiễm với tác nhân gây bệnh là dấu hiệu điển hình của bệnh than, thường đi kèm với sưng nề lan tỏa khá xa từ vết thương. Giai đoạn ủ bệnh có thể kéo dài từ vài giờ cho tới 3 tuần, trung bình là 2-6 ngày [38, 126]. Mặc dù, việc sử dụng kháng sinh có thể giúp tiêu diệt vi khuẩn rất nhanh, nhưng các triệu chứng điển hình trên sẽ kéo dài trong vài ngày trước khi có sự biến đổi và mất vài tuần để có thể hồi phục hoàn toàn.

b. Đặc điểm lâm sàng của bệnh than lây truyền qua đường tiêu hóa

Bệnh than lây truyền qua đường tiêu hóa thường được chia thành hai dạng theo vị trí xâm nhập của nha bào. Thứ nhất, nha bào xâm nhập tại vùng hầu họng, tổn thương sẽ xuất hiện ở khoang miệng hoặc lưỡi, amidan hoặc thành họng sau. Thứ hai, nha bào xâm nhập trong đường tiêu hóa, tổn thương có thể xảy ra ở bất kỳ khu vực nào nhưng chủ yếu là ở hồi tràng và manh tràng [131].

Đau họng, khó nuốt và nổi hạch cổ là những biểu hiện lâm sàng sớm của bệnh tại vùng hầu họng; tiếp sau đó là sưng nề lan tỏa ở cổ và thành ngực trước, trong nhiều trường hợp cần mở khí quản [131].

Các triệu chứng ban đầu của bệnh ở đường tiêu hóa thường không điển hình, bao gồm: buồn nôn, nôn, chán ăn, rối loạn tiêu hóa nhẹ và sốt. Sau đó, sẽ tiến triển sang giai đoạn nặng hơn với triệu chứng tan máu, đi ngoài ra

phân có máu, cổ trướng. Giai đoạn ủ bệnh của bệnh than lây qua đường tiêu hóa thường kéo dài trong 3-7 ngày [131].

c. Đặc điểm lâm sàng của bệnh than lây truyền qua đường hô hấp

Nguyên nhân do hít phải nha bào vi khuẩn, thường gặp trong công nghiệp chế biến da, len, xương hoặc trực tiếp tiếp xúc với động vật mắc bệnh than. Các triệu chứng ban đầu trước khi chuyển sang giai đoạn cấp tính của bệnh than lây qua đường hô hấp cũng không điển hình như sốt hoặc ớn lạnh, đổ mồ hôi, mệt mỏi hoặc khó chịu, ho khan, khó thở, thay đổi trạng thái tinh thần, buồn nôn và nôn; kết quả chụp X-quang vùng ngực có thể cho thấy sự thâm nhiễm, tràn dịch màng phổi và giãn trung thất, có thể nổi hạch vùng trung thất. Thời gian ủ bệnh trung bình là 4-6 ngày nhưng cũng có thể lên tới trên 10 ngày [131].

Với các triệu chứng không điển hình như vậy, bệnh than lây qua đường hô hấp có thể bị chẩn đoán nhầm sang các bệnh đường hô hấp khác; việc chẩn đoán bệnh cần dựa trên các đặc điểm lâm sàng và các yếu tố dịch tễ như tiền sử tiếp xúc của người bệnh với gia súc ốm/chết hoặc ăn thịt gia súc ốm/chết, sống khu vực lưu hành của bệnh than.

d. Đặc điểm lâm sàng của bệnh than lây qua đường tiêu truyền

Triệu chứng của bệnh than lây qua đường tiêu truyền thường khởi phát trong vòng 1-2 ngày (40% trong ngày đầu tiên) sau khi bệnh nhân tiêu thụ ma túy [97]. Trong các trường hợp bị chẩn đoán sai sang bệnh khác và không được điều trị kháng sinh thích hợp, bệnh nhân thường có tình trạng bệnh nặng hơn với hội chứng chèn ép, nhiễm khuẩn huyết, hoại tử, suy đa phủ tạng và tử vong sau 1-3 ngày từ khi nhập viện [97].

Các biểu hiện và triệu chứng lâm sàng của bệnh than lây qua đường tiêu truyền khá đa dạng, nhưng phổ biến nhất là sung lan tỏa kéo dài, đỏ và đau tại chỗ tiêu. Đây cũng chính là những triệu chứng khiến bệnh nhân tìm đến các

cơ sở khám chữa bệnh và dễ bị chẩn đoán nhầm với các nhiễm trùng mô mềm khác. Nghiên cứu tại Scotland chỉ ra rằng sưng và đau tại chỗ tiêm xảy ra ở trên 80% các bệnh nhân. Nghiên cứu này cũng nêu ra một số dấu hiệu và triệu chứng khác ít phổ biến hơn bao gồm cảm giác khó chịu (74%), sốt (65%), chán ăn (52%), buồn nôn (52%) và chảy dịch tại chỗ tiêm (52%) [97]. Triệu chứng phù nề ít xảy ra hơn và thường trong các trường hợp bệnh rất nặng. Vẩy đen (dấu hiệu đặc trưng của bệnh than lây truyền qua đường da) cũng không được đề cập đến trong các nghiên cứu [78].

Việc điều trị cho các trường hợp bệnh than lây qua tiêm truyền khá phức tạp, đòi hỏi kết hợp sử dụng kháng sinh truyền tĩnh mạch và biện pháp hỗ trợ như liệu pháp hút áp lực âm trên bệnh nhân có hội chứng chèn ép. Các loại kháng sinh thường được sử dụng là Clindamycin, Metronidazole, Ciprofloxacin; ngoài ra Penicillin/Benzylpenicillin cũng có thể sử dụng sau khi thực hiện xét nghiệm độ nhạy của kháng sinh [34, 72, 98, 101, 111].

1.1.4. Nguồn truyền nhiễm và phương thức lây truyền của bệnh than

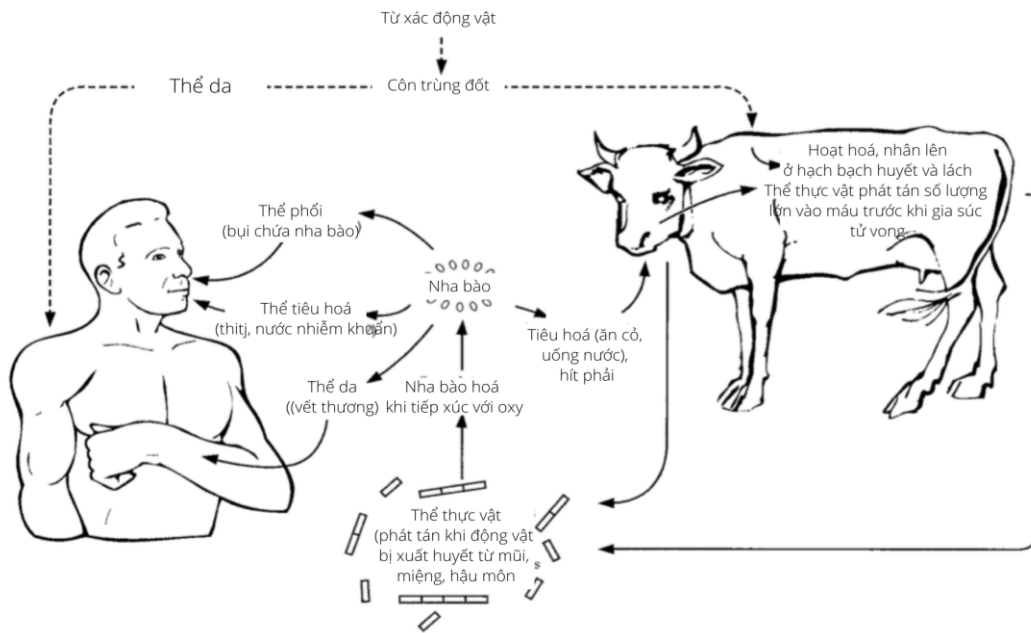
Ô chứa là động vật: thường là động vật ăn cỏ bao gồm vật nuôi (trâu, bò, cừu, ngựa, dê, chó, mèo...) và động vật hoang dã.

Bệnh than thường không lây truyền trực tiếp từ động vật sang động vật hay từ người sang người. Người hay động vật bị nhiễm bệnh khi hít, ăn/uống phải thực phẩm có nha bào của vi khuẩn than hoặc có sự phơi nhiễm vết thương hở trên da/niêm mạc với nha bào của vi khuẩn này [5, 16]. Ngoài ra, nha bào than cũng có thể xâm nhập vào cơ thể vật chủ trong quá trình thực hiện các thủ thuật xâm lấn như tiêm/truyền [26, 122].

Sau khi xâm nhập vào cơ thể vật chủ, nha bào hoạt hóa/nảy mầm, chuyển sang dạng sinh dưỡng, nhân lên và tạo ra các độc tố gây phù nề, độc tố gây chết [131].

Ngày nay với sự thuận tiện đi lại, lưu thông, hoạt động buôn bán, trao đổi động vật hoang dã và gia súc của con người được cho là nguyên nhân chính cho sự lan truyền của bệnh than trên toàn thế giới [131].

Trong các đợt dịch lớn, côn trùng đóng vai trò quan trọng với sự lây lan của bệnh khi chúng tiếp xúc với xác động vật chết vì bệnh than và góp phần vận chuyển nha bào tới một khu vực xa hơn [16, 131].



Hình 1.1. Mô hình lan truyền vi khuẩn *B. anthracis* giữa động vật, môi trường và con người (nguồn WHO) [133]

Đối với bệnh than lây qua đường tiêm truyền, người bệnh bị nhiễm bệnh từ việc tiêm ma túy có chứa nha bào than. Có giả thuyết cho rằng ma túy bị nhiễm nha bào trong quá trình vận chuyển do được gói trong da và xương của động vật bị bệnh than. Các xét nghiệm sinh học phân tử đã được thực hiện và cho kết quả củng cố cho giả thuyết này khi khẳng định được các chủng vi khuẩn trên các bệnh nhân khác nhau ở Scotland có cùng nguồn gốc và xuất phát từ cùng một gói heroin đến từ Afghanistan [12, 55, 104].

1.1.5. Các biện pháp dự phòng

Tuyên truyền tới từng hộ gia đình về tính chất nguy hiểm của bệnh than, các biện pháp phòng, chống bệnh than, nhất là ở những nơi có bệnh lưu hành địa phương, nơi có ổ dịch tiềm tàng, nơi có nguy cơ nhiễm nha bào than trong nông nghiệp cũng như công nghiệp để người dân chủ động phòng bệnh cho bản thân và cộng đồng. Tuyên truyền người dân không giết mổ, không ăn, không sử dụng, không buôn bán, vận chuyển sản phẩm từ gia súc mắc bệnh hoặc nghi ngờ mắc bệnh.

Trong những ngành công nghiệp có nguy cơ lây bệnh than, đặc biệt ở những nơi chế biến nguyên liệu động vật thô (lông, da, các sản phẩm của xương, sừng...), cần có hệ thống thông gió, xử lý bụi tốt. Phải sử dụng quần áo bảo hộ lao động. Duy trì kiểm tra sức khỏe thường kỳ cho công nhân với sự chăm sóc y tế kịp thời đối với những vết xước da dễ bị nhiễm khuẩn [5, 8].

1.2. Thực trạng bệnh than trên người

1.2.1. Trên thế giới

Bệnh than là bệnh lưu hành địa phương ở các nước nông nghiệp thuộc Nam và Trung Mỹ, Nam và Đông Âu, Châu Á, Châu Phi do dịch bệnh than trên động vật thường xuyên xảy ra. Hàng năm, trên thế giới có khoảng từ 20.000 - 100.000 ca mắc bệnh than, chủ yếu ở khu vực nông thôn và miền núi [7, 103]. Bệnh lây qua da chiếm phần lớn các trường hợp bệnh với tỷ lệ tử vong thấp; lây qua đường tiêu hóa xuất hiện ít hơn nhưng với tỷ lệ tử vong từ trung bình đến cao tùy thuộc vào việc được điều trị kịp thời bằng kháng sinh hay không. Hai thể phổ biến hơn của bệnh than thường xảy ra do việc tham gia xử lý, giết mổ gia súc bị bệnh, ăn thịt gia súc bị nhiễm bệnh [35, 121]. Bệnh lây qua đường hô hấp hiếm gặp hơn nhưng tỷ lệ tử vong có thể lên tới 45% ngay cả khi được điều trị bằng kháng sinh và các biện pháp hỗ trợ điều trị tích cực [103].

Tại Châu Âu

Năm 1979, một vụ dịch than lớn thể phổi đã xảy ra ở Yekaterinburg (Sverdlovsk), Nga làm 66 người chết và hàng trăm người mắc bệnh. Điều tra dịch cho thấy nguồn lây là lông thú qua khí dung ở một viện nghiên cứu sinh học [2].

Số liệu từ hệ thống giám sát ở các nước Châu Âu từ 2000-2010 cho thấy nhiễm *B. anthracis* chiếm 4,1% tổng số các trường hợp mắc bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn sinh nha bào [58]. Sau ca nhiễm bệnh than lây qua đường tiêm truyền đầu tiên được ghi nhận năm 2000 tại Na Uy [34], đã có hai đợt dịch trên người tiêm chích ma túy năm 2009-2010 tại Vương quốc Anh (chủ yếu ở Scotland), Đan Mạch [72, 98, 101] và năm 2012 tại Đức [26, 57, 122].

Tại Châu Mỹ

Tại một huyện của Haiti đã có 387 trường hợp được chẩn đoán lâm sàng mắc bệnh than năm 1973, đã có thêm 59 trường hợp khác xuất hiện trong 4 tháng đầu năm 1974 (tỷ lệ mắc là 7,6/10.000 dân). Giám sát trên sản phẩm từ động vật ở Haiti cũng cho thấy tỷ lệ nhiễm nha bào than trên các sản phẩm thủ công làm từ da dê là rất cao (26%) [70].

Tại Châu Á

Tại Siberia, từ năm 1985-2008 đã có 72 trường hợp mắc bệnh than trên người, tương ứng với tỷ lệ mắc trung bình hàng năm là 0,13/1.000.000 dân. Nguồn phơi nhiễm chủ yếu là gia súc lớn như trâu, bò (86%); ngựa (7%) và cừu (3%) [108].

Tại Georgia, từ năm 2000-2009 đã có 340 trường hợp bệnh than được ghi nhận trên người, trung bình mỗi năm có khoảng 33,5 trường hợp (95%CI: 22,5-42,0). Tỷ suất mắc mới hàng năm dao động từ 3,4 - 13,9/1.000.000 dân/năm [77]. Phần lớn các trường hợp bệnh đến từ khu vực nông thôn (51%), nhưng tỷ lệ mắc mới ở khu vực lân cận với thành thị/ngoại thành lại cao hơn

hần khu vực nông thôn và thành thị (24,5/1.000.000 dân ở khu vực lân cận thành thị/ngoại thành so với 11,4/1.000.000 dân ở khu vực nông thôn và 7,3/1.000.000 dân ở khu vực thành thị) [75]. Như vậy, nguy cơ nhiễm bệnh than ở khu vực ngoại thành lại cao hơn ở khu vực nông thôn nơi có nhiều hoạt động chăn thả gia súc hơn. Nguyên nhân có thể do việc tiếp xúc với gia súc mắc bệnh trong quá trình giết mổ, vận chuyển thịt gia súc diễn ra phổ biến hơn tại khu vực ngoại thành [75].

Năm 2007, tại Ấn Độ nơi phần lớn người dân theo đạo Hindu và không ăn thịt bò cũng đã có báo cáo về hai đợt dịch với 20 người mắc tại hai ngôi làng với dân số khoảng 1200 người, cách nhau 50km. Do hạn chế về kỹ thuật xét nghiệm nên không thể khẳng định được mối liên hệ về tác nhân giữa hai đợt dịch trên [106].

Tại Trung Quốc, số liệu ghi nhận từ hệ thống giám sát bệnh từ năm 1955-2014 cho thấy đã có hơn 120 nghìn trường hợp mắc bệnh than trên lâm sàng và đã có hơn 4300 trường hợp tử vong do bệnh, tỷ lệ tử vong chung là 3,6% (cao nhất lên tới 13% năm 1989). Tỷ lệ mắc cao nhất vào năm 1957 (0,54/100.000 dân) và giảm dần từ thập niên 1980 cho đến nay (0,014/100.000 dân). Số liệu này cũng đã chỉ ra xu hướng mắc bệnh theo thời gian trong khoảng từ 1955-2014, theo đó trường hợp bệnh xuất hiện quanh năm nhưng bắt đầu tăng nhanh từ tháng 5, đạt đỉnh vào tháng 8, sau đó giảm dần cho tới tháng 11 hàng năm (56% trường hợp bệnh xuất hiện trong tháng 7 đến tháng 9). Khi phân tích sự phân bố địa lý của bệnh, bệnh xuất hiện ở tất cả các tỉnh của Trung Quốc với số lượng trường hợp bệnh khác nhau. Trong đó, các trường hợp bệnh tập trung chủ yếu ở Tân Cương, Tây Tạng, Tứ Xuyên, Quý Châu, Vân Nam, Quảng Tây [81]. Đây là các tỉnh dọc theo biên giới với nhiều quốc gia có ghi nhận bệnh than trong đó có Việt Nam (tỉnh Điện Biên, Lai Châu, Lào Cai, Hà Giang tiếp giáp với Vân Nam và tỉnh Cao Bằng, Lạng Sơn, Quảng Ninh tiếp giáp với Quảng Tây).

1.2.2. Tại Việt Nam

Bệnh than thuộc danh mục bệnh truyền nhiễm nguy hiểm nhóm B bắt buộc báo cáo từng trường hợp bệnh trong 24 giờ kể từ khi có chẩn đoán quy định tại Thông tư số 54/2015/TT-BYT ngày 28/12/2015 hướng dẫn chế độ thông tin báo cáo và khai báo bệnh, dịch bệnh truyền nhiễm của Bộ Y tế [4].

Bệnh than đã được đưa vào danh sách ưu tiên cho hoạt động giám sát đáp ứng và dự phòng với sự phối hợp giữa ngành y tế và thú y theo Thông tư liên tịch 16/2013/TTLT-BYT-BNN&PTNT ngày 27/5/2013 giữa Bộ Y tế và Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn về việc ban hành Hướng dẫn phối hợp phòng, chống bệnh lây truyền từ động vật sang người. Tuy nhiên, cho đến nay số liệu về tỷ lệ mắc bệnh, sự phân bố và các yếu tố liên quan của bệnh trên con người chưa đầy đủ và có thể không phản ánh chính xác về thực trạng của bệnh ở khu vực miền núi phía Bắc do chất lượng số liệu chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố như người dân e ngại không báo cáo về trường hợp mắc bệnh trên gia súc và trên con người, khoảng cách giữa các cụm dân cư xa và người dân tự mua kháng sinh và điều trị tại nhà khiến cho hoạt động phát hiện sớm và lấy mẫu gặp khó khăn.

Với các số liệu ghi nhận bởi hệ thống giám sát thường xuyên, các trường hợp bệnh lâm sàng trên người chủ yếu được ghi nhận tại các tỉnh miền núi phía Bắc, nơi có hoạt động chăn thả gia súc và buôn bán, trao đổi gia súc ở khu vực biên giới với Trung Quốc và Lào. Từ năm 2000-2014, số trường hợp bệnh lâm sàng được báo cáo dao động lớn giữa các năm từ 12 đến 191 trường hợp/năm, hầu hết là các trường hợp bệnh than lây qua da [9].

Các báo cáo ghi nhận từ thập niên 1955 trở lại đây cho thấy nguy cơ nhiễm bệnh tập trung ở người trồng lúa nước trên ruộng bậc thang (chủ yếu ở miền núi phía Bắc) do tập quán chăn thả tự do gia súc để lấy sức kéo [40]. Trước đây cũng đã có những ghi nhận về các trường hợp bệnh than ở khu vực

miền Bắc dọc theo biên giới với Trung Quốc. Dựa trên số liệu của hệ thống giám sát từ năm 2000-2014 đã có khoảng 1600 trường hợp bệnh than trên người được báo cáo, trung bình là 61,5 trường hợp mỗi năm. Có những năm ghi nhận trên 200 trường hợp, nhưng không có trường hợp tử vong nào được báo cáo [9]. Điều đó cho thấy, tỷ lệ tử vong do bệnh than trên người không phụ thuộc vào số lượng trường hợp bệnh mà phụ thuộc vào các yếu tố khác như tiếp cận với dịch vụ y tế.

1.3. Thực trạng bệnh than trên động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường

1.3.1. Thực trạng bệnh than trên động vật

Tại Úc, có ít báo cáo về bệnh than ở trên người, các nghiên cứu chủ yếu ghi nhận về các trường hợp bệnh than trên động vật (chủ yếu là cừu) từ năm 1930-1962, chia thành hai giai đoạn, từ 1930-1936 với 147 vụ dịch và từ 1949-1962 với khoảng 200 vụ dịch được ghi nhận. Nhóm nghiên cứu tại Úc cũng đã xây dựng mô hình ổ sinh thái dựa trên các số liệu về trường hợp bệnh trên động vật xảy ra trong quá khứ và dữ liệu về môi trường, mô hình chỉ ra khu vực nguy cơ cao của bệnh than là các bang ở bờ đông của Châu Úc [23].

Trong một nghiên cứu về sự phân bố toàn cầu và nguy cơ mắc bệnh than trên người, gia súc và động vật hoang dại đã ước tính rằng 1,83 tỷ người (95% CI: 0,59-4,16 tỷ) sống trong các khu vực có nguy cơ mắc bệnh than. Tổng cộng 63,8 triệu người chăn nuôi nghèo trên toàn cầu (95%CI: 17,5-168,6 triệu) và 1,1 tỷ vật nuôi (95%CI: 0,4-2,3 tỷ) sống trong các khu vực dễ bị nguy cơ mắc bệnh than [143].

1.3.2. Thực trạng tác nhân gây bệnh than ở môi trường

Dịch bệnh than được ghi nhận ở hầu hết các châu lục trên thế giới với sự phân bố bị giới hạn bởi một số điều kiện môi trường nhất định (như pH của đất, các thành phần hữu cơ trong đất) [32, 35, 60, 71, 77]. Nhìn chung, bệnh thường xảy ra ở các khu vực đồng cỏ hoặc thảo nguyên nơi có động vật hoang dã và gia súc sinh sống.

Nghiên cứu về các yếu tố quyết định môi trường ảnh hưởng đến sự phân bố bệnh than ở Uganda có sử dụng phương pháp thuật toán mô hình Entropy tối đa để dự đoán các điều kiện thích hợp và môi trường có thể hỗ trợ sự phân bố bệnh than và sự sống sót của nha bào. Kết quả cho thấy sự phân bố trong môi trường của các nha bào còn sống quyết định đối với phơi nhiễm của động vật ăn cỏ và các đợt bùng phát bệnh than sau đó. Sự tồn tại và tuổi thọ của nha bào phụ thuộc vào điều kiện thích hợp trong môi trường. Điều này được xác định bởi điều kiện khí hậu khô nóng với đất kiềm giàu kali và canxi. Năm biến dự báo quan trọng nhất chiếm 93,8% độ biến thiên của mô hình là lượng mưa hàng năm (70,1%), kali (12,6%), nhiệt độ trung bình hàng năm (4,3%), pH đất (3,7%) và canxi (3,1%). Điều này có ý nghĩa đối với sự hiện diện lâu dài của nha bào *B. anthracis* và có thể giải thích lịch sử lâu dài của bệnh than trong khu vực [45].

1.4. Các yếu tố nguy cơ của bệnh than trên người

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu cung cấp bằng chứng cho các yếu tố nguy cơ của bệnh than, tuy nhiên tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào được thực hiện để phân tích các yếu tố liên quan hay xác định các yếu tố nguy cơ trên người với các đặc điểm cá nhân (sinh học, hành vi), môi trường tự nhiên, điều kiện sống/vệ sinh, hệ thống y tế-thứ y, kinh tế-văn hoá-xã hội để giúp đưa ra các giải pháp can thiệp hiệu quả dựa trên các đặc điểm này tại Việt Nam.

1.4.1. Các yếu tố cá nhân

Các yếu tố cá nhân như tuổi, giới tính, trình độ học vấn, nghề nghiệp... quy định tình trạng và mức độ tiếp xúc với gia súc trong hoạt động chăn nuôi của hộ gia đình, do đó cũng liên quan đến nguy cơ nhiễm bệnh than [37, 94, 96, 103, 132].

Tại Châu Phi

Một nghiên cứu thực hiện trên các mẫu huyết thanh thu được trong chương trình sàng lọc HIV tại Kenya năm 2007 cho thấy người có thu nhập thấp có khả năng có huyết thanh dương tính với *B. anthracis* cao gấp 3,42 lần so với nhóm có thu nhập cao ($p < 0,05$). Mặc dù không xác định được mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa khả năng phơi nhiễm *B. anthracis* với tuổi, giới tính, trình độ học vấn, nhưng nghiên cứu cũng cho thấy nam giới có tỷ lệ huyết thanh dương tính với *B. anthracis* cao hơn ở nữ giới và người có trình độ học vấn từ tiểu học trở lên có tỷ lệ huyết thanh dương tính với *B. anthracis* cao hơn người không biết chữ [94].

Con người có thể nhiễm bệnh khi có tiếp xúc với động vật hoang dã hay gia súc hoặc sản phẩm từ các động vật bị nhiễm bệnh như thịt, da, lông, xương... Do đó, nông dân, nhân viên thú y, những người làm các công việc có tiếp xúc với sản phẩm từ gia súc, kỹ thuật viên xét nghiệm là những đối tượng nguy cơ cao của bệnh than [103].

Tại Châu Âu

Một nghiên cứu tại Anh cho thấy những người làm nghề dệt len từ lông cừu có nguy cơ cao mắc bệnh than, từ năm 1990-1914 đã có 36 trường hợp mắc tại một thị trấn chuyên sản xuất thảm và dệt len, trong đó có 5 trường hợp tử vong; hầu hết những người này đã có tiếp xúc với len thô chưa qua xử lý [37].

Đối với các trường hợp nhiễm bệnh than lây qua đường tiêm truyền tại Châu Âu, thời gian sử dụng ma túy càng dài thì người sử dụng càng có khả năng nhiễm bệnh, cụ thể là người nghiện chích ma túy trên 10 năm có khả năng nhiễm bệnh gấp 2,43 lần (95%CI: 1,31 - 4,52) so với những người có thời gian tiêm chích ngắn hơn [96].

Tại Châu Á

Trong một nghiên cứu tại Kazakhstan năm 2004, người giết mổ gia súc có nguy cơ mắc bệnh gấp 8,3 lần (95%CI: 4,8-14,4); người tham gia xẻ thịt có nguy cơ mắc bệnh gấp 7,7 lần (95%CI: 4,4-13,4) so với người không tham gia công việc này [132].

1.4.2. Các yếu tố môi trường

Quá trình lan truyền của bệnh than chịu sự tác động của các yếu tố về môi trường bao gồm (i) nhóm các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình chuyển hóa từ dạng sinh dưỡng thành nha bào hoặc tái hoạt hóa từ dạng nha bào trở lại dạng sinh dưỡng của vi khuẩn như pH của đất, nhiệt độ, độ ẩm, lượng mưa hàng năm, nồng độ ion (đặc biệt là Mn^{++}), canxi sulfate, thành phần hữu cơ (thấp), lượng oxy, thời gian chiếu sáng của mặt trời; (ii) nhóm yếu tố liên quan tới mùa vụ như hoạt động chăn thả gia súc, tình trạng sức khỏe của gia súc và con người, mật độ côn trùng và các hoạt động khác của con người [23, 60].

Tại Châu Á

Các nghiên cứu tại Georgia và Úc chỉ ra mối liên hệ chặt chẽ giữa độ pH của đất (pH cao, đất có tính kiềm) với khả năng xuất hiện trường hợp bệnh than ở cấp độ cộng đồng (OR=4,58, CI 95%: 1,55-13,51) do độ pH liên quan đến khả năng sống sót và tái hoạt hoá của nha bào *B. anthracis* [23, 77]

Một nghiên cứu bệnh chứng đã được thực hiện ở Bangladesh cho thấy khi có ổ dịch bệnh than xảy ra thì có lịch sử động vật ốm ở trang trại hoặc trang trại gần đó bị giết mổ trong quá khứ (OR=12,2; 95%CI:1,6-93,4; p=0,016), lịch sử có mưa lớn xảy ra trong 2 tuần trước trước khi bùng phát (OR=13,1; 95%CI:1,2-147,1; p = 0,037) và vớt xác động vật chết vào vùng nước gần đó (OR=11,9; 95%CI: 1,0-145,3; p = 0,052) là các yếu tố nguy cơ độc lập đối với bệnh than ở gia súc [110].

Việc tiêu huỷ gia súc/động vật hoang dã mắc bệnh than không đảm bảo tiêu chuẩn kỹ thuật được cho là nguyên nhân của các đợt dịch sau này tại các khu vực tiêu huỷ gia súc trước kia. Một giả thuyết cho các đợt dịch bệnh than trên động vật hoang dã khiến hàng triệu cá thể động vật ăn cỏ ở Siberia chết trong vòng 30 năm đó là việc chôn động vật mắc bệnh không đảm bảo vệ sinh khiến cho một vùng rộng lớn của Siberia bị ô nhiễm bởi xác động vật nhiễm bệnh, phần lớn khu vực nhiễm bệnh lại nằm trong khu vực có băng vĩnh cửu càng làm tăng khả năng tồn tại lâu dài của nha bào. Quá trình tan băng cũng kéo theo nguy cơ giải phóng nha bào than vào môi trường, tan băng cũng gây ngập các khu vực trước đây chôn xác động vật chết khiến cho nha bào than được bộc lộ ra bề mặt đất, được ăn vào bởi các động vật ăn cỏ khác và gây ra các đợt dịch bệnh theo chu kỳ trên động vật. Vấn đề trở nên nghiêm trọng hơn khi quá trình tan băng được đẩy nhanh bởi sự nóng lên toàn cầu và biến đổi khí hậu [108].

Tại Bắc Mỹ

Một nghiên cứu bệnh-chứng ở mức độ trang trại tại Canada cho thấy khả năng mắc bệnh than trên gia súc cao hơn rõ rệt khi xuất hiện ngập lụt ở khu vực chăn thả (OR=3,4; 95%CI: 1,8-6,4); khu vực đồng cỏ ẩm ướt (OR=7,2; 95%CI: 2,9-18,1); mật độ gia súc ở nơi chăn thả trên 1 con/ mẫu (khoảng 4.050m²) [48]. Do nguy cơ mắc bệnh trên con người có mối liên hệ mật thiết với bệnh than trên động vật [90], nên có thể nói các yếu tố môi trường làm tăng khả năng mắc bệnh trên động vật cũng làm tăng nguy cơ nhiễm bệnh than trên người.

Vai trò của côn trùng trong việc lan truyền bệnh than trong các vụ dịch lớn trên động vật đã được khẳng định trong một số nghiên cứu [16, 50]. Một thực nghiệm trong phòng thí nghiệm đã cho thấy khả năng nha bào than đi vào đường tiêu hoá và tái hoạt hoá trong đường tiêu hoá của ruồi nhà *Musca domestica* sau khi các cá thể của loài này ăn xác chết của động vật [50].

1.4.3. Các yếu tố thuộc về hệ thống y tế, thú y

Việc kết hợp liên ngành hệ thống y tế và thú y là một hoạt động quan trọng trong việc giám sát, điều tra, thu thập mẫu bệnh phẩm và phòng chống bệnh than trên người và động vật.

Việc triển khai chương trình tiêm vắc xin cho gia súc của ngành thú y là hoạt động quan trọng và chủ yếu giúp dự phòng bệnh trên gia súc và đồng thời giảm tỷ lệ mắc bệnh trên người. Vắc xin cũng mang lại hiệu quả phòng bệnh trên động vật khi triển khai tiêm sớm. Những trang trại có gia súc được tiêm sau một tuần kể từ khi có báo cáo trường hợp bệnh đầu tiên trong khu vực lân cận có khả năng xuất hiện trường hợp bệnh trên động vật cao gấp 6,3 lần so với các trang trại thực hiện tiêm sớm trong vòng một tuần đầu tiên (95% CI: 2,6-15,3) [48]. Tại Azerbaijan, một nghiên cứu xu hướng của bệnh than trên người cho thấy có sự sụt giảm đáng kể tỷ lệ mắc bệnh trên người khi chương trình tiêm vắc xin phòng bệnh được triển khai trên gia súc từ 6,38 ca xuống 0,37/100.000 dân [74].

Tại Châu Phi

Nhận thức của cán bộ y tế, thú y về bệnh than cũng là yếu tố quan trọng góp phần giúp triển khai các hoạt động giám sát phát hiện trường hợp bệnh; kiểm soát và dự phòng bệnh trên người và trên gia súc; điều trị và quyết định chuyển tuyến kịp thời. Nếu cán bộ y tế cơ sở không có đủ kiến thức và nhận thức về bệnh sẽ không thể đưa ra nhận định lâm sàng chính xác về trường hợp bệnh để đưa vào báo cáo trong hệ thống giám sát hay triển khai các hoạt động điều tra dịch tại cộng đồng để phát hiện các trường hợp bệnh tiềm tàng có cùng phơi nhiễm, cũng như đưa ra các chỉ định điều trị phù hợp. Một nghiên cứu tại Ethiopia năm 2015 cho thấy mặc dù có tới 97,5% cán bộ y tế đã từng nghe về bệnh than/nhiệt than nhưng 33% cán bộ y tế cho rằng bệnh không ảnh hưởng đến vật nuôi; 34,7% cho rằng bệnh không ảnh hưởng đến con

người và 31,7% cho rằng bệnh không lây truyền từ động vật sang người. Bên cạnh đó, chỉ khoảng 50-60% người tham gia nghiên cứu biết về các biện pháp dự phòng và kiểm soát bệnh như tiêm vắc xin cho vật nuôi, cách ly vật nuôi bị bệnh, nâng cao nhận thức cộng đồng, sử dụng biện pháp bảo vệ cá nhân, tiệt trùng dụng cụ và chôn động vật chết đúng kỹ thuật [52]. Kiến thức về các đặc điểm lâm sàng của bệnh than của cán bộ y tế ở các cơ sở y tế ở khu vực thành phố tốt hơn cán bộ y tế ở nông thôn [67].

Bệnh than là bệnh lưu hành ở các tỉnh Tây và Tây Bắc của Zambia. Bệnh xảy ra quanh năm và tác động tiêu cực đến nền kinh tế của ngành chăn nuôi và sức khỏe cộng đồng ở Zambia. Trong giai đoạn 1989-1995, có 1.626 trường hợp nghi ngờ mắc bệnh than ở gia súc ở các tỉnh miền Tây và trong số này có 51 trường hợp đã được chẩn đoán xác định. Có 220 trường hợp mắc bệnh than ở người chỉ riêng trong năm 1990 và 248 trường hợp trong giai đoạn 1991-1998 với tỷ lệ tử vong lần lượt là 19,1% và 7,7%. Sự tác động lẫn nhau giữa hệ sinh thái của các khu vực bị ảnh hưởng và các yếu tố con người dường như gây ra dịch bệnh than. Bệnh đã thu hút sự chú ý đáng kể trong những năm gần đây do tiềm năng sử dụng nó như một vũ khí sinh học. Trong nghiên cứu này cho thấy các biện pháp kiểm dịch hạn chế buôn bán gia súc và trao đổi động vật để lấy sức kéo dẫn đến an ninh lương thực ở cấp hộ gia đình kém. Các thách thức của việc kiểm soát bệnh than rất phức tạp và bao gồm các yếu tố chính trị - xã hội, kinh tế, môi trường và văn hóa. Không đủ kinh phí, thiếu các chiến lược kiểm soát dịch bệnh sáng tạo và thiếu sự hợp tác từ các bên liên quan là những hạn chế chính đối với việc kiểm soát dịch bệnh [116].

Tại Châu Mỹ

Nghiên cứu về ổ dịch than xảy ra từ ngày 1 tháng 7 đến ngày 12 tháng 10 năm 2005 ở phía đông Bắc Dakota xung quanh lưu vực sông Red River Basin. Các quận Ransom, LaMoure và Barnes báo cáo hầu hết các trường hợp

(71%). Các loài bị ảnh hưởng bao gồm gia súc, bò rừng, ngựa, cừu, nai sừng tấm, hươu, nai, lợn và lạc đà không bướu. Triệu chứng chủ yếu là đột tử (38%), sau đó là chảy máu từ các lỗ thông (17%). Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa trường hợp bệnh và trường hợp đối chứng về các yếu tố: tử vong trên đồng cỏ, thời gian tiêm phòng, điều kiện khô, điều kiện ẩm ướt, sử dụng kháng sinh, tiêm phòng nhiều lần và loại động vật ăn thịt (sói đồng cỏ). Việc tiêm phòng vắc xin cho động vật gia súc là rất quan trọng trong công tác phòng chống bệnh than, đặc biệt là sự kết hợp giữa y tế và thú y trong việc giám sát những ổ dịch trên động vật và phòng chống lây sang người [87].

1.4.4. Các yếu tố kinh tế - văn hoá - xã hội

Các yếu tố kinh tế - văn hoá - xã hội chung của một quốc gia và các đặc điểm cụ thể tại một khu vực có thể tác động tới chính sách và các hoạt động giám sát đáp ứng và kiểm soát bệnh than tại khu vực đó. Các yếu tố văn hoá có thể liên quan tới hành vi tiếp xúc với gia súc của con người (chăn thả tự do, nuôi dưới nhà sàn...), nhận thức về bệnh và tìm kiếm dịch vụ y tế của người dân.

Một nghiên cứu tại Azerbaijan cho thấy mức độ ảnh hưởng của sự thay đổi hệ thống chính trị dẫn đến thay đổi hệ thống y tế và tăng gánh nặng bệnh than. Phân tích số liệu các trường hợp bệnh than từ năm 1984-2010 tại quốc gia này cho thấy có sự khác biệt về tỷ lệ mắc bệnh than thể da trên người thay đổi rõ rệt trong hai thời kỳ với hai chế độ nhà nước khác nhau. Một là giai đoạn Azerbaijan thuộc Liên Xô (1984-1991) khi hoạt động chăn nuôi sản xuất tập thể là chính sách chung thì việc dự phòng và kiểm soát bệnh tật trên gia súc được chú ý hơn, tỷ lệ bệnh trên người vì thế cũng thấp hơn 3,06 ca/100.000 dân (95%CI: 1,25-3,93). Đến giai đoạn thứ hai sau khi Liên Xô sụp đổ (sau 1991), sự cắt giảm kinh phí cho hoạt động giám sát và kiểm soát bệnh

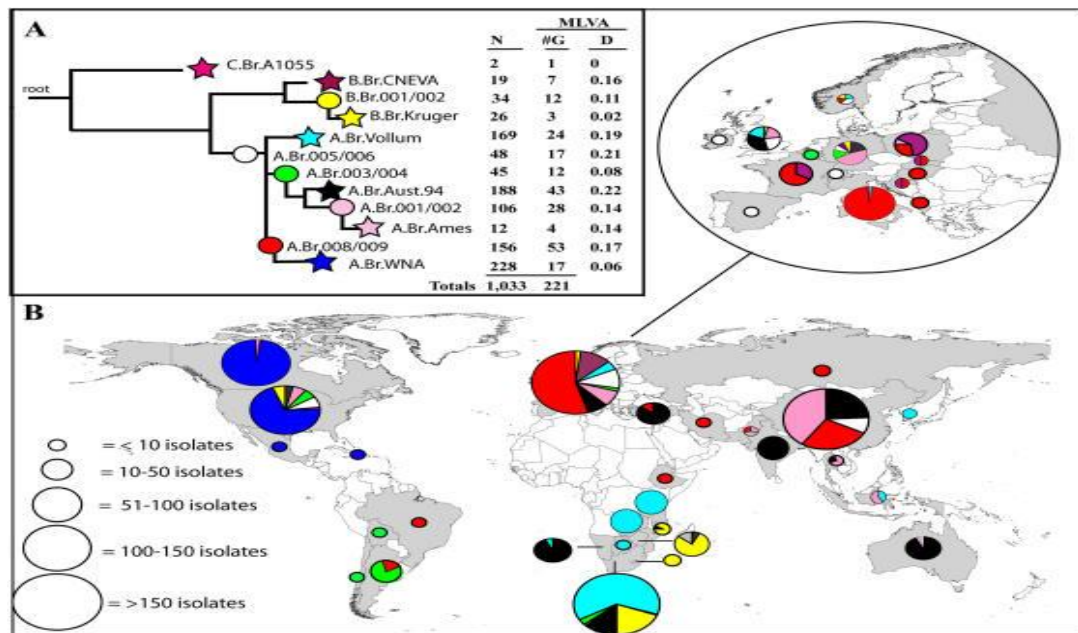
cùng với sự thay đổi về tính sở hữu sản phẩm, hàng hoá từ sở hữu tập thể sang sở hữu tư nhân, trách nhiệm chăm sóc sức khoẻ vật nuôi thuộc về chủ sở hữu; tỷ lệ mắc bệnh than thể da trên người đã tăng lên 6,38 ca/ 100.000 dân (95% CI: 4,53-7,47) trong khoảng thời gian từ 1991-1995 [74].

Cùng với sự phát triển kinh tế, các hoạt động sản xuất công nghiệp cũng phát triển, kéo theo đó là các ngành nghề thuộc da, lông len. Theo số liệu báo cáo các trường hợp động vật mắc bệnh than ở bang Zurich từ năm 1878 đến năm 2005 đã được phân tích ở cấp độ cộng đồng chính trị liên quan đến sự xuất hiện số trường hợp động vật bị ảnh hưởng và số lượng cộng đồng bị ảnh hưởng. Dữ liệu tương quan với các hoạt động công nghiệp (thuộc da, chế biến len và lông ngựa) trong một cộng đồng và với các điều kiện khí tượng hiện hành. Tổng cộng có 830 trường hợp mắc bệnh than ở động vật đã được ghi nhận ở 140 trên 171 cộng đồng. Sự xuất hiện tương quan với các hoạt động công nghiệp trong một cộng đồng chẳng hạn như các công ty xử lý vật liệu có khả năng bị ô nhiễm (da sống, lông, len, thịt hoặc bột xương). Ảnh hưởng của các công ty chế biến len ($p=0,004$) và xưởng thuộc da ($p=0,032$) là đáng kể trong khi chế biến lông ngựa không có ảnh hưởng gì [11].

1.5. Sinh học phân tử của vi khuẩn *B. anthracis*

1.5.1. Phân bố các chủng *B. anthracis* trên thế giới

Tình hình chung: Trên thế giới có khoảng 1.033 chủng *B. anthracis* phân bố thành 12 nhóm phụ và dưới nhóm phụ là 221 kiểu gen khác nhau. Trong 12 nhóm phụ được phân thành 3 nhóm lớn (A, B, C). Nhóm A được phân tán rộng rãi trên toàn cầu, nhóm B và C quy mô hẹp hơn [113].



Hình 1.2. Phân bố các chủng *B. anthracis* trên thế giới [113]

Một nghiên cứu tại khu vực Tây Bắc Mỹ từ các đợt bùng phát dịch bệnh than trong lịch sử bằng cách sử dụng hệ thống lặp lại số lượng song song đa locus, nhà nghiên cứu đã lọc dữ liệu về số lần xuất hiện liên quan đến dòng phụ *B. anthracis* A1.a. Từ năm 2008 đến năm 2012 ở Montana, Colorado và Texas cũng tìm ra được sự phân bố của dòng phụ *B. anthracis* A1.a. Kết quả cung cấp phân phối dự đoán của dòng phụ A1.a của *B. anthracis* cho Mỹ với độ chính xác dự đoán tốt hơn và độ phân giải không gian cao hơn so với các ước tính trước đó. Dự đoán đóng vai trò như một bản đồ nguy cơ bệnh tật được cải thiện để cung cấp thông tin tốt hơn cho việc giám sát và kiểm soát bệnh than ở Mỹ, đặc biệt là Dakotas và Montana, nơi dòng phụ này vẫn tồn tại [135].

Tại Châu Á

Từ năm 2007 đến năm 2018, có tổng cộng 21 vụ bùng phát bệnh than ở người (68 bệnh nhân) liên quan đến các chủng thuộc dòng *B. anthracis* Ames đã được báo cáo ở Trung Quốc. Bệnh than ở người liên quan đến dòng họ Ames chủ yếu phân bố ở phía bắc Trung Quốc, bao gồm các tỉnh Nội Mông,

Liêu Ninh, Cam Túc và Tân Cương. Trong nghiên cứu, tổng số 30 chủng dòng Ames đã được bao gồm và 10 kiểu gen MLVA15 đã được xác định. Các chủng này chủ yếu được tìm thấy ở đông bắc Trung Quốc, Nội Mông và Liêu Ninh. Trong những năm gần đây, hàng năm các dòng thuộc dòng Ames được phân lập ở hai tỉnh. 18 chủng dòng Ames phân lập từ Nội Mông Cổ được chia thành 8 kiểu gen MLVA15. Từ năm 2010 đến năm 2015, liên tục có các báo cáo về các đợt bùng phát ở Quận Keyouzhongqi, Nội Mông, và các chủng được phân lập liên tiếp hàng năm thuộc kiểu gen MLVA15-30 [136].

Để lập bản đồ phân bố các đợt bùng phát bệnh than và các chủng loại phụ ở Kazakhstan trong giai đoạn 1937-2005, các nhà nghiên cứu đã kết hợp công nghệ hệ thống thông tin địa lý và phân tích di truyền bằng cách sử dụng các dữ liệu được lưu trữ. Các xét nghiệm sinh hóa và di truyền đã xác nhận danh tính của 93 chủng được lưu trữ trong Bộ sưu tập Quốc gia Kazakhstan là *B. anthracis*. Số biến đa bội lặp lại phân tích kiểu gen xác định được 12 kiểu gen. Phân tích cụm so sánh các kiểu gen này với các kiểu gen đã công bố trước đây chỉ ra rằng hầu hết ($n = 78$) dòng phân lập thuộc cụm di truyền A1.a đã được mô tả trước đó, 6 dòng phân lập thuộc cụm A3.b và 2 thuộc nhóm A4. Hai kiểu gen trong bộ sưu tập dường như đại diện cho các dòng phụ di truyền mới; 1 trong số các chủng phân lập này đến từ Krygystan. Dữ liệu của nghiên cứu cung cấp mô tả về sự đa dạng lịch sử, địa lý và di truyền của *B. anthracis* ở khu vực Trung Á này [14].

Các đợt bùng phát bệnh than xảy ra không thường xuyên ở Úc và phổ biến nhất là ở "vành đai bệnh than", một khu vực kéo dài từ miền nam Queensland qua trung tâm New South Wales và đến miền bắc Victoria. Hiện tại còn rất ít thông tin về mối liên hệ dịch tễ học giữa các chủng *B. anthracis* được lấy từ các vụ dịch khác nhau và sự đa dạng của các chủng ở Úc. Nghiên cứu đã sử dụng phân tích lặp lại song song đa locus sử dụng 25 điểm đánh dấu (MLVA25) để phân lập kiểu gen 99 *B. anthracis* từ một bộ sưu tập lưu

trữ các chủng phân lập của Úc. Việc phân loại kiểu gen MLVA25 cho thấy 8 kiểu gen duy nhất tập hợp lại trong kiểu gen A3 đã được xác định trước đó của *B. anthracis*. Việc xác định kiểu gen của các chủng *B. anthracis* từ các đợt bùng phát dịch bệnh ở Victoria đã xác định được sự hiện diện của nhiều kiểu gen liên quan đến các đợt bùng phát này. Sự phân bố theo địa lý của các kiểu gen ở Úc cho thấy rằng một kiểu gen duy nhất đã được đưa vào các bang phía đông của Úc, sau đó là sự lây lan và phân hóa cục bộ của mầm bệnh (kiểu gen MLVA25 MG1-MG6) trong suốt vòng đời bệnh than. Ngược lại, sự xuất hiện không rõ nguyên nhân của bệnh ở các khu vực bên ngoài vòng đời bệnh than này có liên quan đến các kiểu gen khác nhau, (kiểu gen MLVA25 MG7 và MG8) cho thấy sự du nhập riêng biệt của *B. anthracis* vào Úc [88].

Tại Yakutia năm 2015 và Yamal năm 2016 đã được mô tả các chủng *B. anthracis* được phân lập trong một đợt bùng phát bệnh than. Đặc điểm chung của các chủng này là bảo tồn trong lớp băng vĩnh cửu, từ đó chúng được chiết xuất do quá trình tan băng của lớp băng vĩnh cửu (chủng Yamal) hoặc kết quả của các cuộc khai quật cổ sinh vật học (chủng Yakut). Tất cả các chủng được phân lập trên Yamal đều có chung kiểu gen giống nhau thuộc dòng B.Br.001/002, chỉ ra nguồn lây nhiễm chung trên lãnh thổ dài hơn 250 km. Ngược lại, trong các cuộc khai quật ở Yakutia, ba chủng khác nhau về mặt di truyền đã được phục hồi từ một hố duy nhất. Một chủng thuộc về B.Br.001/002, và phân tích trình tự toàn bộ gen cho thấy rằng nó có liên quan chặt chẽ nhất với các chủng Yamal mặc dù Yamal ở xa Yakutia. Hai chủng khác đóng góp vào hai nhánh khác nhau của A.Br.008/011, một trong những đa nguyên đáng chú ý được mô tả cho đến nay ở loài *B. anthracis*. Sự phân bố địa lý của các chủng thuộc về A.Br.008/011 cho thấy rằng đa chủng đã xuất hiện vào thế kỷ thứ mười ba, kết hợp với sự hình thành của một đế chế Mông Cổ thống nhất kéo dài từ Trung Quốc đến Đông Âu. Nghiên cứu đã

đề xuất một mô hình tiến hóa cho sự tiến hóa gần đây của *B. anthracis*, trong đó dòng B lan rộng khắp Âu-Á và sau đó được thay thế bằng dòng A ngoại trừ ở một số khu vực cách biệt về địa lý [125].

Trong một nghiên cứu tại Bangladesh là vùng siêu lưu hành bệnh than và ở đó dịch bệnh này gây ra thiệt hại lớn. Trong nghiên cứu này đã phân loại kiểu gen 8 chủng *B. anthracis* được thu thập từ các huyện Sirajganj và Tangail vào năm 2013. Tất cả các chủng này thuộc nhóm canSNP A.Br.001/002 Sterne, chỉ khác nhau ở một vài trong số 31 chủng lặp lại (MLVA). Toàn bộ trình tự bộ gen được thu thập từ 5 trong số các chủng này và so sánh với thông tin bộ gen của các chủng *B. anthracis* có nguồn gốc từ các vị trí địa lý khác nhau [109].

Tại Châu Âu

Vào mùa hè năm 2016, một đợt bùng phát dịch bệnh than đã gây chết 4 gia súc (dê) ở vùng Abruzzo, nơi mà trước đó dịch bệnh này chưa được báo cáo. Để điều tra sự bùng phát, các nhà nghiên cứu đã giải trình tự một dòng và so sánh nó với 19 bộ gen của *B. anthracis* ở Ý. Hơn nữa, nghiên cứu đã tải xuống 71 trình tự toàn bộ bộ gen đại diện cho sự phân bố toàn cầu của các dòng SNP chuẩn và sử dụng chúng để xác minh vị trí phát sinh loài. Để đạt được mục tiêu này, nghiên cứu đã phân tích và so sánh trình tự bộ gen bằng cách sử dụng SNP chính tắc và phân tích dựa trên SNP toàn bộ bộ gen. Kết quả chứng minh rằng chủng bùng phát thuộc nhóm Xuyên Á-Âu (TEA) A.Br.011/009, là nhóm chủ yếu ở Trung-Nam Ý. Kết luận cho thấy mối liên hệ cao về bộ gen của các dòng TEA Ý cho thấy sự tiến hóa của chúng từ một tổ tiên chung, trong khi sự lây lan được cho là do thương mại cũng như các hoạt động truyền máu và con người. Ở đây, nghiên cứu đã chứng minh khả

năng của giải trình tự toàn bộ bộ gen (WGS), có thể được sử dụng như một công cụ để phân tích ổ dịch và các hoạt động giám sát [42].

Bộ gen của *B. anthracis* có tính đơn hình cao do đó cho thấy sự biến đổi trình tự ADN rất thấp. Một nghiên cứu tại Trung và Đông Nam Âu đã phân tích các đặc điểm phân tử của 12 chủng *B. anthracis* phân lập từ các đợt bùng phát ở Croatia và Bosnia và Herzegovina xảy ra trong 10 năm qua cùng với 2 chủng vắc xin. Hệ thống định kiểu gen dựa trên phân tích lặp lại số lượng biến đổi ở 6 locus cho thấy 6 chủng phân lập thuộc kiểu gen từ cụm A1.a trong khi 6 chủng phân lập liên quan đến cụm B2 so với 89 kiểu gen được mô tả trước đó. Sự phân bố của hai cụm xa nhau về mặt tiến hóa cho thấy sự du nhập của *B. anthracis* đến khu vực này trong ít nhất hai nguồn riêng biệt [120].

Tại Châu Phi

Sự phát triển gần đây của các dấu hiệu di truyền đối với *B. anthracis* đã giúp cho việc theo dõi sự lây lan và phân bố của mầm bệnh này trong và giữa các đợt bùng phát bệnh than. Ở Namibia, bệnh than bùng phát hàng năm trong Công viên Quốc gia Etosha (ENP) và tại các trang trại chăn nuôi và trò chơi tư nhân. Nghiên cứu đã phân lập kiểu gen 384 *B. anthracis* được thu thập từ năm 1983-2010 để xác định các mối tương quan dịch tễ học có thể có của các đợt bùng phát bệnh than trong và ngoài ENP để phân tích mối quan hệ di truyền giữa các chủng phân lập từ động vật trong nước và động vật hoang dã. Các dòng phân lập đến từ 20 loài động vật và từ môi trường và được định kiểu gen bằng cách sử dụng phân tích đa locus 31 điểm đánh dấu (MLVA) và một phần là bởi 12 điểm đánh dấu đa hình nucleotide (SNP) và 4 nucleotide lặp lại (SNR) điểm đánh dấu. Tổng số 37 kiểu gen (GT) đã được xác định bởi MLVA, thuộc bốn nhóm SNP. Tất cả GT đều thuộc về nhánh A trong phân tích cụm và SNP. 13 GT chỉ được tìm thấy bên ngoài ENP, 18 chỉ trong ENP và 6 GT ở cả bên trong và bên ngoài. Khoảng cách di truyền giữa các dòng

phân lập tăng lên khi thời gian giữa các lần phân lập tăng lên. Tuy nhiên, khoảng cách di truyền giữa các dòng phân lập ở đầu và cuối giai đoạn nghiên cứu là tương đối nhỏ, cho thấy rằng trong khi phần lớn các GT chỉ được tìm thấy với số lượng ít, ba GT gần nhau về mặt di truyền, chiếm hơn 4/5 tổng số các dòng ENP. Khoảng cách di truyền giữa các chủng phân lập lớn hơn đáng kể đối với các chủng phân lập từ các loài vật chủ khác nhau, nhưng ảnh hưởng này là nhỏ, cho thấy rằng trong khi các yếu tố sinh thái đặc trưng của loài có thể ảnh hưởng đến quá trình phơi nhiễm, các chu kỳ lây truyền ở các loài vật chủ khác nhau vẫn có mối quan hệ chặt chẽ với nhau. Dữ liệu MLVA tiếp tục được sử dụng để thiết lập một mô hình về sự tiến hóa có thể xảy ra của GT trong vùng đặc hữu của ENP. Phân tích SNR rất hữu ích trong việc xác định mối tương quan giữa một chủng phân lập với nguồn của nó nhưng không làm sáng tỏ mối quan hệ dịch tễ học [27].

1.5.2. Phân bố các chủng B. anthracis tại Việt Nam

Nghiên cứu của Hoàng Thị Thu Hà, Đặng Đức Anh và cộng sự tại khu vực miền Bắc Việt Nam về phân tích so sánh bộ gen cho thấy tính đồng nhất di truyền giữa các dòng *B. anthracis* Việt Nam là rất cao. Tất cả các chủng *B. anthracis* ở Việt Nam đều thuộc dòng canSNP của A.Br.011/009, hầu hết bao gồm các chủng thuộc nhóm TEA, bao gồm cả dòng có quan hệ họ hàng gần nhất là Carbosap. Để làm rõ sự đa dạng di truyền của các dòng và chủng Việt Nam thuộc dòng A.Br.011/009 và A.Br.008/011 canSNP, nghiên cứu đã áp dụng phương pháp đa hình đơn nucleotide dựa trên bộ gen (SNP) và phân tích bộ gen (MLST/WGS). Phát sinh loài từ SNP của bộ gen lõi cho thấy rằng các chủng Việt Nam có vị trí gần nhau; hơn nữa, một số SNP đặc trưng cho *B. anthracis* Việt Nam đã được xác định. Phân tích MLST/WGS cho thấy sự khác biệt về số lượng SNP giữa các dòng Việt Nam, điều này có thể cho phép phân biệt về kiểu gen của các chủng khác nhau [127].

1.6. Các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn *B. anthracis* trong phòng thí nghiệm

Việc xác định tác nhân gây bệnh than dựa trên các kỹ thuật chính bao gồm nhuộm mực tâu, nhuộm gram, nuôi cấy vi khuẩn và phản ứng khuếch đại gen (PCR, realtime PCR, qPCR). Trong đó, nuôi cấy được coi là tiêu chuẩn vàng chẩn đoán xác định, tuy nhiên PCR/Realtime/qPCR gần đây được sử dụng như một kỹ thuật khẳng định sự có mặt của *B. anthracis* từ mẫu bệnh phẩm lâm sàng và môi trường. Một số kỹ thuật sinh học phân tử khác như MLVA, đa hình đơn nucleotide (SNP) và giải trình tự gen giúp xác định và so sánh các chủng vi khuẩn phân lập tại các vụ dịch khác nhau [131].

Phương pháp xét nghiệm sẽ tùy thuộc vào loại bệnh phẩm dự định kiểm tra và mục tiêu xét nghiệm/nghiên cứu.

- Mẫu bệnh phẩm mới thu thập từ động vật/người chưa được điều trị.
- Mẫu bệnh phẩm thu thập từ người/động vật đã được điều trị.
- Mẫu bệnh phẩm lưu trữ/xác động vật/thực phẩm hoặc mẫu môi trường [10].

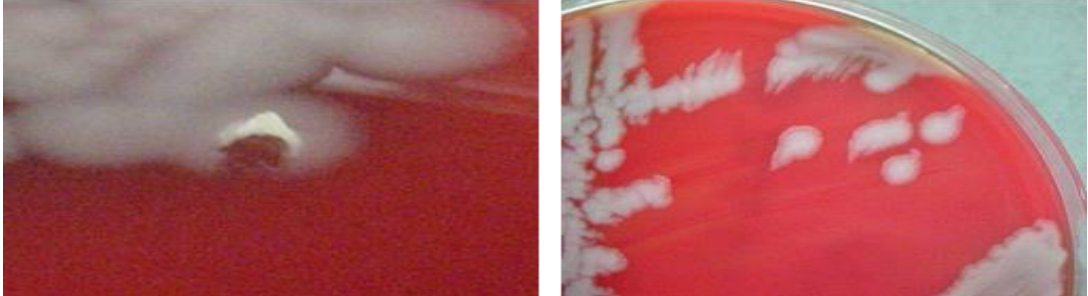
1.6.1. Nuôi cấy, định danh vi khuẩn

a. *Nuôi cấy*: Phương pháp nuôi cấy vẫn được coi là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán xác định vi khuẩn *B. anthracis* tuy nhiên chỉ thực hiện được tại các phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp 3.

Các dụng cụ, môi trường, sinh phẩm cần thiết: Thạch máu cừu 5% (có thể thay thế bằng máu thỏ hoặc ngựa -SBA); Thạch dinh dưỡng (Nutrient agar-NB); Thạch Bicarbonat; Thạch PLET (Polymyxin B - Lysozyme - EDTA - Thallous acetate); Canh thang não tim (Brain Heart Infusion).

Việc chọn lựa môi trường, thời gian nuôi cấy sẽ tùy thuộc từng loại bệnh phẩm: nhỏ 50 - 100 µl dung dịch bệnh phẩm đã xử lý lên môi trường thạch máu 5%, Bicarbonat (nếu là mẫu tổ chức, dịch cơ thể), hoặc thạch PLET, thạch dinh dưỡng (nếu là mẫu môi trường). Dùng que cấy ria theo hình chữ Z với bệnh phẩm là thức ăn, dịch mủ, họng, tổ chức hoặc ria kiểu mắt sàng nếu

là bệnh phẩm nước, đất. Các đĩa môi trường được giữ ở tủ ấm 35⁰C - 37⁰C/18-24h (hoặc 48h với môi trường Bicarbonate, PLET).



**Hình 1.3. Hình ảnh khuẩn lạc vi khuẩn *B. anthracis* trên môi trường SAB
(nguồn Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương)**

*b. Định danh vi khuẩn sẽ dựa vào các thử nghiệm hoá sinh để phân biệt *B. anthracis* và các *Bacillus* khác.*

- Các môi trường, thuốc thử cần thiết: Manit di động; Voges-Proskauer (VP); Đường: Glucose, Maltose, Mannitol, Arabinose, Sucrose, Salicin

Bảng 1.1. So sánh tính chất sinh vật hoá học của *B. anthracis* và *B. cereus*

Các tính chất	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>
Môi trường Bicarbonate	Trắng, tròn, nhầy	Trắng đục
Di động	Không	Có
Voges-Proskauer (VP)	Dương	Dương
Lên men đường	Sinh acid, không hơi	Sinh acid, không hơi
Glucose	Sinh acid, không hơi	Sinh acid, không hơi
Maltose	Sinh acid, không hơi	Sinh acid, không hơi
Sucrose	Âm tính	Âm tính
Arabinose	Âm tính	Âm tính
Mannitol	Âm tính	Âm tính
Xylose	Thường âm tính hoặc chậm	Thường dương tính trong vòng 24 giờ
Salicin		

c. *Ly giải thực khuẩn thể gamma*: Mục đích khẳng định *B. anthracis* sau khi phân lập được. Gamma-phase đặc hiệu cao với *B. anthracis*.

d. *Nhuộm soi*

- Nhuộm gram: *B. anthracis* là trực khuẩn bắt màu Gram dương, kích thước 1 - 1,5 x 3 - 5 µl m.



Hình 1.4. Hình ảnh nhuộm Gram của *B. anthracis* (nguồn CDC)

- Nhuộm mực tâu: nhìn rõ vỏ của vi khuẩn trong các bệnh phẩm lâm sàng như máu, dịch não tủy...

- Nhuộm Xanh Malachite (mẫu từ ngoại cảnh): Mục đích: tăng cường khả năng phát hiện nha bào.

1.6.2. Phản ứng hạt trai: là một trong các phương pháp chẩn đoán nhanh vi khuẩn B. anthracis, với nguyên lý dựa vào độ nhạy cảm của vi khuẩn với penicillin ở nồng độ thấp

Nếu có vi khuẩn than, trên tiêu bản canh thang không có penicillin G nhìn thấy rõ trực khuẩn có nha bào, xếp thành chuỗi. Trên tiêu bản canh thang có penicillin thấy vi khuẩn xếp thành hình chuỗi hạt trai, do vi khuẩn bị tác động bởi kháng sinh làm phình ra tạo hình thể tròn nối tiếp nhau giống chuỗi ngọc trai.

1.6.3. Phương pháp kháng thể huỳnh quang

- Kháng thể huỳnh quang kháng vi khuẩn than được chế tạo trước bằng cách gắn cộng hợp kháng thể kháng vi khuẩn than với chất huỳnh quang. Sử dụng kính hiển vi huỳnh quang chuyên dụng.

1.6.4. Phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp

- Nguyên lý: kháng nguyên vi khuẩn than (có trong bệnh phẩm) kết hợp với kháng thể đặc hiệu tương ứng đã gắn lên hồng cầu cừu sẽ xảy ra hiện tượng ngưng kết. Quan sát được gián tiếp sự có mặt của vi khuẩn than qua hiện tượng ngưng kết hồng cầu cừu. Kháng nguyên ở đây là kháng nguyên hoà tan của vi khuẩn than sẽ được phát hiện nếu có trong bệnh phẩm. Hồng cầu cừu đã được gắn kháng thể kháng vi khuẩn than (được chế tạo trước). Nếu có kháng nguyên vi khuẩn than trong bệnh phẩm tức là có vi khuẩn than, phản ứng ngưng kết hồng cầu xảy ra hiện tượng các hồng cầu tạo thành mảng ngưng kết có thể nhìn thấy bằng mắt thường. Nếu bệnh phẩm không có vi khuẩn than (không có kháng nguyên) thì không có hiện tượng ngưng kết, hồng cầu sẽ lắng xuống đáy phiến nhựa nghĩa là phản ứng âm tính.

1.6.5. Các phương pháp sinh học phân tử

a. PCR

Kỹ thuật PCR được nhà sinh hóa học người Mỹ là Kary Mullis phát minh ra năm 1985. PCR là phương pháp invitro cho phép tổng hợp nhân tạo các đoạn ADN với tốc độ nhanh, chính xác cao được thực hiện trong máy chu trình nhiệt (máy PCR). Các chuỗi ADN mong muốn được nhân lên hàng triệu lần trong thời gian ngắn nhờ hai đoạn mồi oligonucleotid tương tự với hai đầu 3' ở cả hai sợi của đoạn ADN đích (target DNA sequence) với sự tham gia của *Taq* DNA polymerase.

Quá trình PCR là một chuỗi nhiều chu kỳ nối tiếp nhau, mỗi chu kỳ gồm ba bước (biến tính, gắn mồi, kéo dài) lặp lại nhiều lần, mỗi lần sẽ làm tăng gấp đôi lượng mẫu của lần trước. Đây là sự khuếch đại theo cấp số nhân, theo tính toán, sau 30 chu kỳ sự khuếch đại sẽ là 10^6 so với lượng ADN khuôn. Sản phẩm khuếch đại được điện di và nhuộm dung dịch Ethidium bromide, đọc kết quả trên máy chụp gel.

Trực khuẩn than có các gen độc, mã hóa bởi plasmid pXO1 gồm: *lef*, *pag*, *cya* và pXO2 có các gen *capA*, *capB*, *capC*. Đây là các gen đặc hiệu cho việc phát hiện vi khuẩn than ở trong bệnh phẩm lâm sàng và ngoại cảnh. Trong các gen độc, cần thiết kể là gen *pag* là gen mã hóa kháng nguyên bảo vệ quyết định cho sự xâm nhập của vi khuẩn than vào tổ chức. Gen *capC* xác định cho việc tạo vỏ của vi khuẩn than, là cơ sở phân biệt với nhiều loài trong giống *Bacillus* khác.

Trong kỹ thuật PCR chẩn đoán than cần có hai cặp mồi để xác định trực tiếp gen mã hóa cho các yếu tố độc của vi khuẩn than (gen mã hóa độc tố PA và kháng nguyên vỏ) gồm các mồi như: PA5, PA8, CAP1234, CAP1301. Như vậy để một sản phẩm PCR chẩn đoán than hoàn chỉnh cần có đầy đủ các mồi dùng để xác định theo các trật tự xác định loài, yếu tố vỏ, kháng nguyên PA.

Phương pháp PCR đa môi/đơn môi: được sử dụng để xác định và phân tích đặc điểm các gen độc lực của vi khuẩn như *pag*, *cap*, *rpoB*, *Ba 813* bằng các cặp môi đặc hiệu đã được công bố.

Bảng 1.2. Trình tự các môi cho phản ứng PCR đa môi

Môi	Gen đích	Trình tự	Kích thước (bp)
<i>PA5</i> <i>PA8</i>	<i>pag</i>	CTACAGGGGATTTATCTATTCC ATTGTTACATGATTATCAGCGG	846 bp
<i>Cap1234</i> <i>Cap 1301</i>	<i>cag</i>	ACTCGTTTTTAATCAGCCCG GGTAACCCTTGTCTTTGAAT	630 bp
<i>Ba813 R1</i> <i>Ba813 R2</i>	<i>Ba813R</i>	TTAATTCACCTTGCAACTGATGGG AACGATAGCTCCTACATTTGGAG	152 bp

b. Real time PCR

Là kỹ thuật PCR mà kết quả khuếch đại ADN đích được hiển thị ngay sau mỗi chu kỳ nhiệt của phản ứng, chính vì vậy được gọi là real-time. Quy trình thí nghiệm theo nguyên tắc thông thường của phản ứng tổng hợp chuỗi, trong đó đặc điểm chính là đoạn ADN được nhân lên sẽ được phát hiện trong thời gian thực (real-time). Phản ứng realtime PCR được thực hiện trong một máy gia nhiệt có khả năng chiếu sáng mỗi một mẫu với một chùm ánh sáng có chiều dài bước sóng nhất định. Ngoài ra máy realtime PCR này còn xác định được bước sóng ánh sáng phát ra từ phân tử phát huỳnh quang bị kích hoạt trong ống PCR. Từ đó máy có thể xác định được tín hiệu huỳnh quang thay đổi sau mỗi chu kỳ do số lượng phân tử ADN được tổng hợp tăng lên. Vì vậy, có thể tính được lượng sản phẩm ADN thu được sau phản ứng. Hai phương pháp phổ biến để xác định được sản phẩm trong PCR định lượng đó là: (1) các thuốc nhuộm phát huỳnh quang không đặc hiệu gắn vào bất kỳ đoạn ADN mạch đôi nào đó và (2) các đầu dò đặc hiệu có chứa các đoạn oligonucleotide đã được đánh dấu với chất phát huỳnh quang, cho phép phát hiện khi có sự lai giữa đầu dò với một trình tự bổ sung với nó. Kết quả khuếch

đại được quan sát thông qua các tín hiệu huỳnh quang được giải phóng trong quá trình phản ứng PCR xảy ra. Các tín hiệu này được phát hiện và ghi lại dưới dạng biểu đồ, từ đó có thể đưa ra đánh giá về số lượng sản phẩm khuếch đại ADN đích có mặt ở mỗi chu kỳ.

Các môi dùng cho phản ứng realtime PCR chẩn đoán *B. anthracis*: *LF*, *capB*, *BA-1* chromosome, Genomic Island IV

Đầu dò (probe): 6FAM- AGCTGCAGATTCC-MGB, 6FAM-TTGCAGCGAATGAT-MGB, 6FAM- CGTTGTTGTGTATTTG-MGB, 6FAM-ACATGCCAGCGTTTTTGCCTCTACACA-BHQ1

c. LAMP

LAMP là sự khuếch đại ADN ở điều kiện đẳng nhiệt thông qua cấu trúc vòng hay móc (loop). LAMP được phát triển đầu tiên vào năm 2000 bởi nhóm tác giả T. Notomi (Nhật Bản). Đây là một phương pháp khuếch đại ADN có tính đặc hiệu, hiệu quả cao và thời gian ngắn bằng cách tận dụng ưu điểm của *Bst* polymerase và một loạt bốn môi được thiết kế đặc biệt để nhận diện toàn bộ 6 trình tự cách xa nhau trên ADN đích.

Phương pháp này dựa trên sự tổng hợp ADN thay thế chuỗi tự xoay vòng được thực hiện bởi một ADN polymerase và hai cặp môi trong và môi ngoài được thiết kế đặc biệt. Ở các bước đầu của phản ứng LAMP cả bốn môi được sử dụng, nhưng sau đó trong suốt phản ứng chu kỳ chỉ các môi trong được sử dụng để tổng hợp ADN thay thế chuỗi.

Cặp môi trong gồm hai môi là môi xuôi (forward inner primer - FIP) và môi ngược (backward inner primer- BIP), mỗi một môi có chứa hai trình tự riêng biệt. Để khởi đầu cho chu kỳ phản ứng LAMP, FIP bắt cặp bổ sung với

ADN đầu vòng ở vị trí F2c để tiến hành tổng hợp mạch bổ sung thay thế. Mặt khác, BIP sẽ bổ sung vào đầu kia của mạch ADN đầu vòng và xảy ra quá trình tổng hợp ADN tương tự. Kết quả của phản ứng là hỗn hợp các sợi đôi ADN chứa nhiều trình tự ADN mục tiêu với kích thước khác nhau. Trong quá trình phản ứng sử dụng dẫn chất dNTP, các gốc phosphat giải phóng ra sẽ kết hợp với ion Mg^{++} có trong thành phần phản ứng để tạo nên chất kết tủa vô định Mg₂P₂O₇ (Magnesi pyrophosphate) có màu trắng. Lượng ADN được tổng hợp càng nhiều thì Mg₂P₂O₇ được tạo ra càng lớn, do đó sẽ nhìn rõ bằng mắt thường và có thể đọc kết quả bằng mắt thường hoặc máy đo độ đục.

Bảng 1.3. Trình tự môi phát hiện vật liệu di truyền vi khuẩn *B. anthracis* bằng kỹ thuật LAMP

Môi	Trình tự gen (5'-3')
<i>pagF3</i>	TTTCGAAAAGGTTACAGGAC
<i>pagB3</i>	GCACTTCTGCATTTCCAT
<i>pagFIP</i>	TCTCCATATCTACATGTACAATCGGTTTTAATGTATCACCAGAGGCA
<i>PagBIP</i>	CCACACAGAATACTGATAGTCAAACCTTTTACTTCACTAGTATGTGTCCT
<i>capF3</i>	GATATTCCAACGCAAGAGT
<i>capB3</i>	ATCTGATCCAAACATTCCTG
<i>capFIP</i>	ACCCACTCCATATACAATCCGATTTTTGAACTTAGAAGGCTGGTCA
<i>capBIP</i>	TGCAGCTGAGCCATTAATCGTTTTTCCCTCCACTTAAATCACT

d. Kỹ thuật phân tích trình tự lặp lại các locus (Multiple Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA))

Nguyên lý của kỹ thuật MLVA dựa trình tự các đoạn lặp của locus, xác định sự khác nhau của các locus đa hình.

Tiền hành kỹ thuật: tách chiết ADN từ các mẫu thử nghiệm, PCR để nhân đoạn có tính chất đa hình với các môi đặc hiệu, điện di phân tích độ dài của các sản phẩm PCR thu được đối với từng locus đa hình. Phân tích thống kê dựa tần số xuất hiện các trình tự lặp để tính được xác suất chính xác.

Kỹ thuật này phát hiện nhanh chóng các chủng vi khuẩn có mối liên quan dịch tễ với nhau, phát hiện sự khác biệt chi tiết hơn.

e. Giải trình tự (Sequencing)

Phương pháp giải trình tự ADN là phương pháp xác định trình tự sắp xếp các nucleotid trong phân tử ADN. Phương pháp này được thực hiện theo nguyên tắc tạo ra các mảnh ADN được đánh dấu tại đầu 5' hoặc 3'. Các mảnh có các base đánh dấu được tách ra trên gel polyacrylamid. Các mảnh được phân biệt về vị trí trên gel với sự sai khác chỉ với một nucleotid. Đây là phương pháp được coi là “tiêu chuẩn vàng” để chứng minh sự có mặt của gen mã hóa đặc hiệu ở vi khuẩn. Hiện nay, với sự phát triển nhanh chóng của kỹ thuật giải trình tự gen đã tạo ra các máy giải trình tự cho phép giải trình tự toàn bộ hệ gen của vi khuẩn một cách nhanh chóng (Whole genome sequencing - WGS). Đây là phương pháp chính xác và đưa lại nhiều thông tin nhất để nghiên cứu dịch tễ học cũng như các đặc tính sinh học phân tử, độc lực của vi khuẩn.

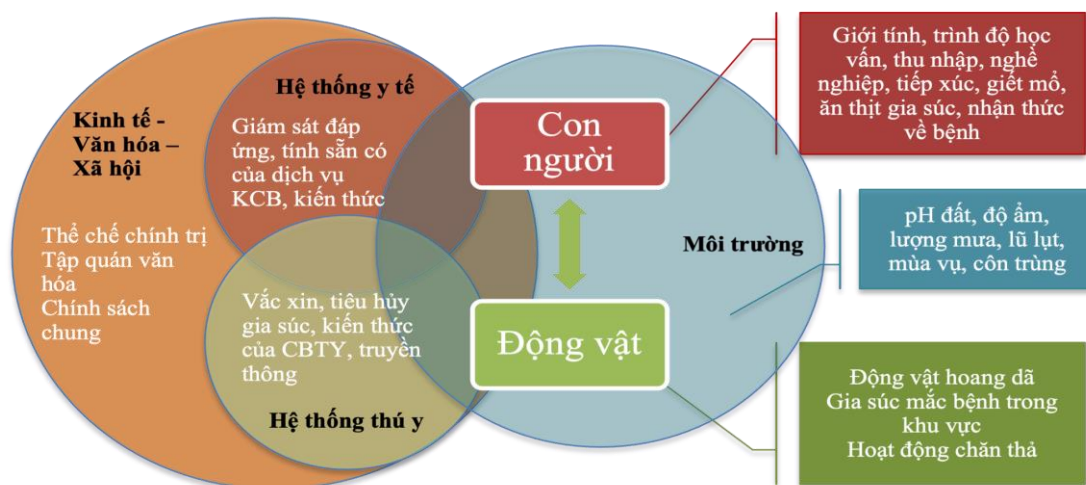
1.7. Một số đặc điểm địa lý, kinh tế, văn hóa xã hội, tỉnh Hà Giang và tỉnh Sơn La

Hà Giang, Sơn La đều là các tỉnh miền núi nằm ở phía bắc Việt Nam, Hà Giang giáp với các tỉnh miền núi khác và có biên giới giáp với Trung Quốc còn Sơn La có biên giới giáp với nước Lào. Cả hai tỉnh đều có thành phần chủ yếu là đồng bào dân tộc: Mông, Tày, Dao, Nùng... Với phong tục tập quán chăn nuôi gia súc gần nơi ở, nhà sàn, việc chăn thả gia súc và giết thịt gia súc chưa đạt tiêu chuẩn an toàn vệ sinh. Trẻ em còn tiếp xúc nhiều với môi trường chưa hợp vệ sinh.

Nghiên cứu của tác giả Trần Như Dương và Phạm Thị Cẩm Hà về tình hình bệnh than tại khu vực miền Bắc Việt Nam từ năm 2006-2011 cho thấy tỉnh Hà Giang, Sơn La là những tỉnh chiếm số lượng lớn. Trong đó 97,8% trường hợp bệnh có tiền sử tiếp xúc trực tiếp với gia súc ốm hoặc chết (giết mổ, chế biến, ăn thịt) trong vòng 1 tuần trước khi khởi phát [8].

Hệ thống giám sát bệnh than tại hai tỉnh được thực hiện từ tuyến cơ sở lên tuyến tỉnh, theo hệ thống giám sát Thông tư 54 và giám sát dựa vào sự kiện. Với sự hỗ trợ của Dự án triển khai tại tỉnh, việc giám sát bệnh than được thực hiện chủ động giám sát tại cộng đồng và trong cơ sở điều trị.

1.8. Khung lý thuyết



Hình 1.5. Khung lý thuyết của đề tài (các yếu tố liên quan của bệnh than trên người)

Dựa vào tổng quan tài liệu và các nghiên cứu trước đó, nhóm nghiên cứu đã xây dựng lên khung lý thuyết về các yếu tố liên quan của bệnh than trên người. Là một bệnh lây truyền từ động vật sang người, bệnh than bị ảnh hưởng bởi các yếu tố liên quan bao gồm: (1) các yếu tố cá nhân tác động tới nguy cơ nhiễm bệnh than trên những người mang các đặc điểm cá nhân nhất định; (2) các yếu tố môi trường (tự nhiên, điều kiện sống); (3) hệ thống y tế - thú y (nhân lực, cơ sở vật chất, chính sách, các hoạt động giám sát đáp ứng...)

và (4) kinh tế - văn hoá - xã hội bao gồm cả việc thông thương đi lại và buôn bán gia súc xuyên biên giới giữa các quốc gia, khu vực có dịch lưu hành. Các yếu tố liên quan này có tác động qua lại với nhau để quy định sự xuất hiện và phạm vi, mức độ nghiêm trọng của bệnh trong một bối cảnh cụ thể.

CHƯƠNG 2

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp nghiên cứu cho mục tiêu 1

Mô tả thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022.

2.1.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả loạt trường hợp bệnh kết hợp với phân tích số liệu thứ cấp.

2.1.2. Thời gian

Thời gian của bộ số liệu: Tháng 1/2010 - 12/2022.

2.1.3. Địa điểm

Tỉnh Hà Giang, Sơn La.

2.1.4. Đối tượng nghiên cứu

a. Đối tượng nghiên cứu trên người

Các trường hợp bệnh than được ghi nhận trong khoảng thời gian từ 01/01/2010 đến 31/12/2022.

Các trường hợp bệnh than, ổ dịch than được chẩn đoán theo tiêu chuẩn của Bộ Y tế theo quyết định số 5703/QĐ-BYT ngày 20/12/2017 [5].

Trường hợp bệnh lâm sàng

Là trường hợp bệnh có phơi nhiễm với động vật, sản phẩm của động vật nghi ngờ mắc bệnh than hoặc ổ dịch cũ và khởi phát bệnh cấp tính với ít nhất một trong các biểu hiện sau:

Bảng 2.1. Các dấu hiệu/triệu chứng lâm sàng bệnh than trên người

Thể bệnh	Các dấu hiệu/triệu chứng lâm sàng
Thể da	<ul style="list-style-type: none"> • Lúc đầu ngứa, sau đó nổi mụn nước, tạo vết loét màu đen thường không đau, hay gặp ở cánh tay, bàn tay, xung quanh miệng và đầu gối
Thể tiêu hóa	<ul style="list-style-type: none"> • Đau bụng dữ dội kèm theo sốt, nhiễm khuẩn huyết
Thể hô hấp	<ul style="list-style-type: none"> • Triệu chứng tương tự như viêm đường hô hấp thông thường nhưng tiến triển nhanh gây ra khó thở nặng và sốc
Thể màng não hiếm gặp	<ul style="list-style-type: none"> • Khởi phát cấp tính sốt cao có thể kèm co giật, mất ý thức, các dấu hiệu và triệu chứng viêm màng não

Trường hợp bệnh xác định

Là trường hợp bệnh lâm sàng kèm theo có ít nhất một trong các kết quả xét nghiệm sau:

- Nuôi cấy phân lập được trực khuẩn than, hoặc
- Xác định được đoạn gen đặc hiệu của trực khuẩn than bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

b. Đối tượng nghiên cứu trên động vật

- Số liệu trường hợp bệnh than trên gia súc được cung cấp bởi Chi cục thú y tỉnh Hà Giang, Sơn La từ năm 2010-2022.
- Mẫu bệnh phẩm động vật tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La từ năm 2010-2022.
- Sở ghi chép xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm trên động vật của Hà Giang, Sơn La lưu tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương từ năm 2010-2022.

c. Đối tượng nghiên cứu ở môi trường

- Mẫu đất thu thập tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La trong giai đoạn nghiên cứu từ năm 2010-2022.

- Sổ ghi chép xét nghiệm các mẫu đất ở môi trường của Hà Giang, Sơn La lưu tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương từ năm 2010-2022.

2.1.5. Cỡ mẫu

Chọn cỡ mẫu toàn bộ các ca bệnh than lâm sàng và các ca bệnh than xác định tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La trong thời gian nghiên cứu. Tổng số ca bệnh thu thập được từ năm 2010-2022 là 99 trường hợp mắc bệnh than.

Toàn bộ số liệu các mẫu bệnh phẩm động vật và mẫu đất thu thập tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La từ năm 2010-2022. Tổng số mẫu thịt đã thu thập là 9, tổng số mẫu đất là 238.

Toàn bộ số trường hợp bệnh than trên gia súc được ghi nhận từ năm 2010-2022 tại Sơn La, Hà Giang. Ghi nhận được 15 trường hợp mắc.

2.1.6. Thu thập thông tin

Trích xuất số liệu hồi cứu từ hệ thống giám sát bệnh truyền nhiễm cho các trường hợp bệnh xuất hiện trong giai đoạn từ 01/01/2010 đến 31/12/2018 (Phiếu điều tra trường hợp bệnh than, báo cáo ổ dịch, danh sách trường hợp bệnh). Các thông tin còn thiếu trong hệ thống giám sát sẽ được bổ sung bằng cách rà soát báo cáo được lưu trữ tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, Trung tâm kiểm soát bệnh tật tỉnh, Trung tâm y tế huyện, Trạm Y tế xã nơi có trường hợp bệnh. Ngoài ra, các trường hợp bệnh bị bỏ sót trong hệ thống báo cáo cũng được bổ sung nếu được phát hiện trong quá trình rà soát lại báo cáo của các đơn vị y tế dự phòng ở địa phương và các chuyến thăm thực địa của nhóm nghiên cứu. Những trường hợp bệnh mắc trong năm 2019-2022 được điều tra đầy đủ theo phiếu điều tra (Phụ lục 2).

Số liệu về dân số được thu thập theo niên giám thống kê về dân số.

Thông tin kết quả xét nghiệm mẫu môi trường, mẫu động vật lưu tại sở xét nghiệm tại khoa Vi khuẩn, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

Các mẫu động vật thu thập: Mẫu thịt trâu bò, mẫu thịt trâu bò khô, mẫu lấy trên gia súc ốm, chết.

Các mẫu môi trường thu thập tại hộ gia đình có trường hợp bệnh than, lò mổ hoặc các chợ nơi buôn bán gia súc, lấy từ 3 đến 5 mẫu đất tại các vị trí: cống vào, chỗ thải nước thải sinh hoạt, chỗ thải chất thải chuồng nuôi, nơi chứa phân gia súc, nơi giết mổ gia súc.

Số liệu các trường hợp bệnh than trên gia súc được cung cấp bởi Chi cục thú y tỉnh Hà Giang, Sơn La.

2.1.7. Quản lý và phân tích số liệu

Số liệu được nhập, quản lý bằng công cụ trực tuyến KoboToolbox và phần mềm Excel.

Mô tả các ổ dịch than tại hai tỉnh: Một nơi (thôn, xóm, đội/ tổ dân phố/ đơn vị...) được gọi là ổ dịch khi ghi nhận ít nhất 1 trường hợp bệnh xác định trở lên và có yếu tố dịch tễ liên quan [5].

- Tất cả các trường hợp bệnh xác định xét nghiệm, lâm sàng có các biểu hiện vết loét ở tay chân... có liên quan về mặt dịch tễ với trường hợp bệnh xác định, hoặc tiếp xúc với gia súc chết không rõ nguyên nhân tại địa phương đã có dịch than trước đó sẽ được đưa vào phân tích.
- Các mẫu đất và thịt gia súc chết được thu thập để điều tra kết quả phòng thí nghiệm.
- Dữ liệu được phân tích theo đặc điểm dịch tễ, tiền sử tiếp xúc, đặc điểm lâm sàng.

Sử dụng phần mềm SPSS 20.0, thống kê mô tả đặc điểm dịch tễ học: sử dụng các thông số như: tần số, tỷ lệ %, trung bình, min, max.

Arc GIS 10.2.2: mô tả phân bố trường hợp bệnh theo địa dư.

Kỹ thuật trong phòng thí nghiệm: Xử lý mẫu, nuôi cấy định danh vi khuẩn (MALDI TOF), PCR với các cặp mồi PA5/PA8 và CAP1234/CAP1301 để phát hiện ADN vi khuẩn *B.anthraxis* từ bệnh phẩm lâm sàng. Trước năm 2020 các mẫu đất được nuôi cấy trên môi trường thạch máu có bổ sung kháng sinh, sau năm 2020 các mẫu được nuôi cấy; định danh bằng máy MALDI TOF, các khuẩn lạc thuần được tách DNA và làm PCR (sử dụng cặp mồi Ba 813) phát hiện các gen đặc hiệu *Ba813*, *cap*, *pag*. Kết quả PCR dương tính gen *Ba813*, *cap* và/hoặc *pag* kết luận được mẫu đất có chứa vi khuẩn *Bacillus cereus* có mang theo gen độc tố của vi khuẩn *B.anthraxis*. Quy trình xét nghiệm thực hiện tại phòng thí nghiệm an toàn sinh học mức độ 3 - Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và theo thường qui chẩn đoán vi khuẩn *B.anthraxis* [146, 154].

2.1.8. Sai số và biện pháp hạn chế sai số

Việc sử dụng thông tin hồi cứu có thể gặp phải nhiều sai số do các thông tin đã được thu thập từ lâu và không tránh khỏi sai sót do việc thiếu thông tin, thông tin không chính xác ngay tại thời điểm thu thập trong quá khứ. Do đó, nhóm nghiên cứu đã khai thác thông tin từ nhiều nguồn (hệ thống giám sát, báo cáo từ các đơn vị, các chuyến thăm thực địa) và điều tra lại hồi cứu trường hợp bệnh để có được thông tin chính xác nhất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu cho mục tiêu 2

Xác định một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022.

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:

Nghiên cứu bệnh - chứng.

2.2.2. Thời gian

Thời gian nghiên cứu từ năm 2019-2022.

Những trường hợp bệnh từ năm 2019-3/2020 được điều tra hồi cứu lại thông tin dịch tễ học, những trường hợp này đã được thu thập mẫu bệnh phẩm từ giai đoạn năm 2019. Những trường hợp bệnh từ tháng 3/2020-2022 được điều tra, lấy mẫu tiên cứu.

2.2.3. Địa điểm

Tỉnh Hà Giang, Sơn La.

2.2.4. Đối tượng nghiên cứu

- Ca bệnh:

○ Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Là trường hợp bệnh xác định hoặc trường hợp bệnh lâm sàng theo tiêu chuẩn chẩn đoán tại mục tiêu 1.
- Bệnh nhân sống tại địa bàn tỉnh nghiên cứu trong ít nhất 01 tháng trước thời điểm điều tra.
- Bệnh nhân đồng ý và/hoặc được cho phép tham gia nghiên cứu bởi cha/mẹ/người giám hộ.

○ Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh nhân được xác định mắc bệnh từ tỉnh khác sau đó chuyển đến địa phương trong địa bàn nghiên cứu để sinh sống.

- Ca chứng:

- Là người khoẻ mạnh bình thường đang sinh sống tại cộng đồng. Không mắc bệnh than trong vòng 12 tháng trước đó (qua điều tra các dấu hiệu lâm sàng và tiền sử mắc bệnh trước đó).
- Điều tra ca chứng cùng thời điểm phát hiện trường hợp bệnh.
- Cùng độ tuổi (± 3 năm), cùng giới tính với trường hợp bệnh.
- Sống trong cùng khu vực với ca bệnh (xã) nhưng khác thôn bản.

2.2.5. Cỡ mẫu

Áp dụng công thức tính cỡ mẫu kiểm định giả thuyết cho tỷ suất chênh

Khi giả thuyết nghiên cứu bệnh chứng muốn kiểm định tỷ suất chênh của quần thể bằng 1 hay không ($H_0: OR=1$).

$$n = \left(\frac{r+1}{r}\right) \frac{(\bar{p})(1-\bar{p})(Z_b + Z_{\alpha/2})^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Trong đó:

n là cỡ mẫu cần tính toán.

p_1 : Tỷ lệ các cá thể phơi nhiễm với yếu tố nguy cơ được ước lượng cho nhóm bệnh, ước tính $p_1=0,44$ (tỷ lệ phơi nhiễm với yếu tố giết mổ gia súc của nhóm mắc bệnh than theo nghiên cứu tại Georgia 2012 [92]).

p_2 : Tỷ lệ các cá thể phơi nhiễm được ước lượng cho nhóm chứng, $p_2= 0,13$ (tỷ lệ phơi nhiễm với yếu tố giết mổ gia súc của nhóm chứng theo nghiên cứu tại Georgia 2012 [92]).

α : Mức ý nghĩa thống kê: 5%, $Z_{\alpha/2}=1.96$

$1-\beta$: Lực mẫu: 80%, $Z_{\beta}= 0.84$

$r=2$, mỗi một trường hợp bệnh được lấy 2 trường hợp chứng

Từ công thức trên ta tính được $n= 25$

Cỡ mẫu cho nhóm đối chứng với tỷ lệ 1 bệnh ghép cặp với 2 chứng thì cỡ mẫu cho nhóm chứng là 50 người.

Tại nghiên cứu này chúng tôi chọn toàn bộ các trường hợp mắc bệnh than trong thời gian nghiên cứu từ năm 2019 đến năm 2022 và thu thập được 26 ca bệnh và 52 ca chứng.

2.2.6. Thu tuyển đối tượng

2.2.6.1. Thu tuyển bệnh nhân

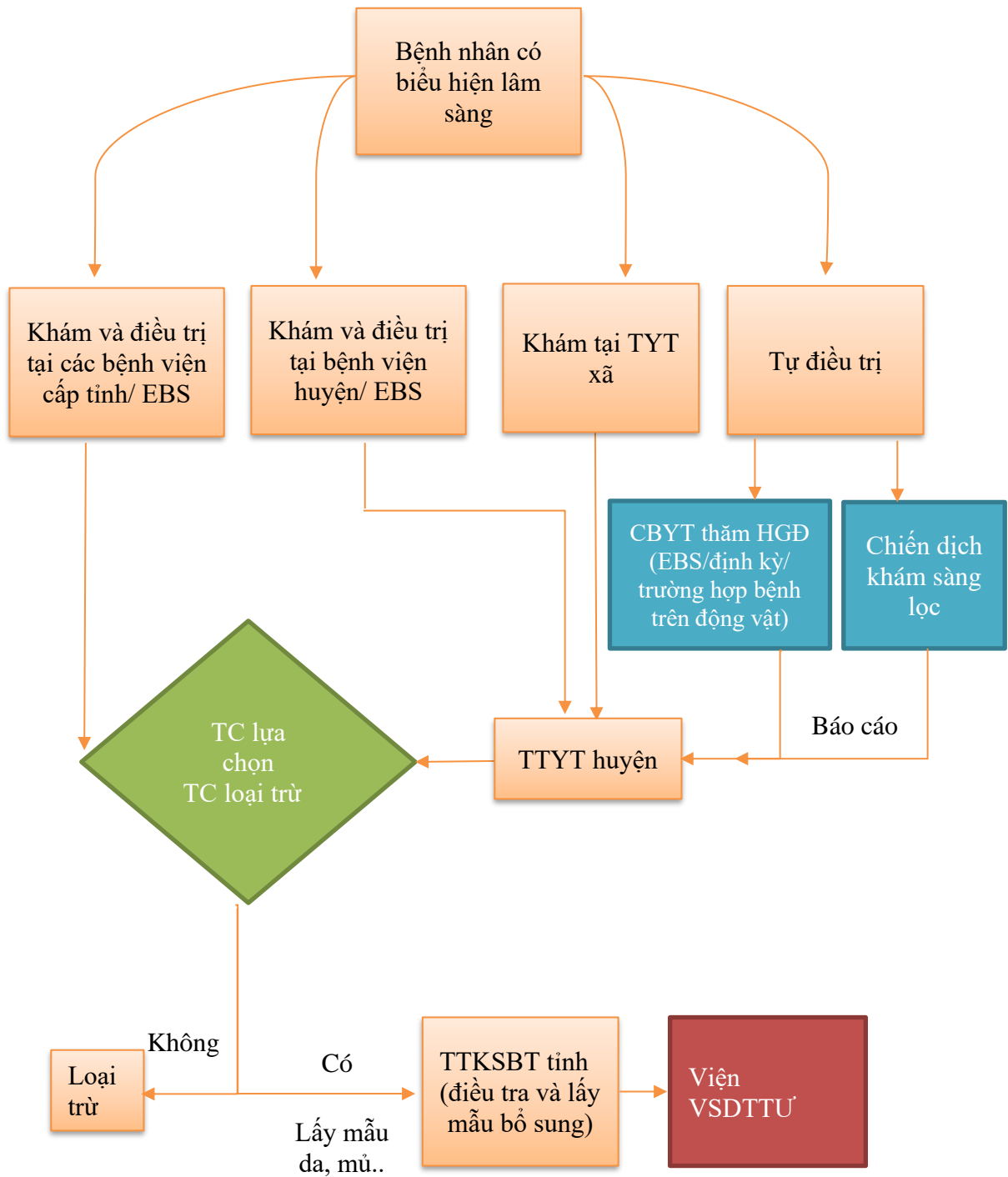
Nghiên cứu áp dụng Hướng dẫn chế độ thông tin báo cáo và khai báo bệnh, dịch bệnh truyền nhiễm ban hành kèm theo Thông tư số 54/2015/TT-BYT ngày 28/12/2015 của Bộ Y tế [3].

Lưu đồ chế độ thông tin báo cáo và khai báo bệnh, dịch bệnh truyền nhiễm theo Thông tư 54 (xem trong phụ lục 5).

Đồng thời, nghiên cứu cũng tham khảo sử dụng mô hình giám sát dựa vào sự kiện (Event-Based Surveillance - EBS) đã được triển khai thí điểm tại một số tỉnh để tăng cường độ nhạy của hệ thống giám sát (theo Hướng dẫn giám sát dựa vào sự kiện ban hành kèm theo quyết định số 2018/QĐ-BYT ngày 28/3/2018 của Bộ Y tế) [6].

Quy trình giám sát dựa vào sự kiện theo quyết định số 2018/QĐ-BYT (xem trong phụ lục 6).

- Lưu đồ thu tuyển bệnh nhân của nghiên cứu:



Hình 2.1. Lưu đồ thu tuyển bệnh nhân cho nghiên cứu

Diễn giải lưu đồ: có 4 hình thức để ghi nhận được trường hợp bệnh bao gồm: bệnh nhân khám và điều trị tại bệnh viện tuyến tỉnh, bệnh nhân khám và điều trị tại bệnh viện tuyến huyện, bệnh nhân khám và điều trị tại TYT xã, bệnh nhân tự điều trị tại nhà. Với mỗi hình thức, nghiên cứu có chiến lược thu tuyển bệnh nhân tương ứng. Cụ thể như sau:

- Tại tuyến tỉnh: các bệnh viện đa khoa, chuyên khoa cấp tỉnh, bệnh viện tư nhân ghi nhận và báo cáo trường hợp bệnh theo hướng dẫn tại Thông tư 54/2015/TT-BYT. Theo đó, các bệnh viện tuyến tỉnh/ thành phố trực thuộc trung ương, bệnh viện tư nhân có trách nhiệm báo cáo, cập nhật thông tin bệnh truyền nhiễm tại đơn vị mình cho Trung tâm Kiểm soát bệnh tật (TTKSBT) tỉnh/thành phố trực thuộc trung ương. Đối với bệnh than, việc báo cáo thực hiện trong 24 giờ cho từng trường hợp kể từ khi có chẩn đoán.
- Tại tuyến huyện: theo Thông tư 54/2015/TT-BYT, các bệnh viện đa khoa huyện, quận, thị xã, thành phố trực thuộc tỉnh phải báo cáo cho Trung tâm y tế (TTYT) quận/huyện tương ứng trong vòng 24 giờ cho từng trường hợp mắc bệnh than kể từ khi có chẩn đoán. Và TTYT quận/huyện có trách nhiệm báo cáo cho TTKSBT tỉnh trong vòng 24 giờ kể từ khi nhận được báo cáo từ bệnh viện huyện.
- Tại tuyến xã: theo Thông tư 54/2015/TT-BYT, các đơn vị y tế cơ quan, phòng khám tư nhân, các cơ sở chẩn đoán, bác sĩ gia đình và nhân viên y tế thôn bản khi phát hiện người nghi ngờ mắc bệnh than phải báo cáo cho Trạm y tế (TYT) xã/phường. TYT xã/phường tiếp nhận, điều tra, xác minh thông tin và báo cáo số liệu bệnh truyền nhiễm được ghi nhận trên địa bàn cho TTYT quận/huyện kể từ khi có chẩn đoán. TTYT quận/huyện có trách nhiệm báo cáo cho TTKSBT tỉnh trong vòng 24 giờ kể từ khi nhận được báo cáo từ bệnh viện huyện.

- Tại hộ gia đình: nghiên cứu tổ chức giám sát chủ động thông qua thăm hộ gia đình có sự tham gia của đơn vị y tế và thú y tuyến xã. Hoạt động giám sát chủ động này được thực hiện định kỳ hàng tháng hoặc khi có thông báo của thú y về trường hợp mắc bệnh nhiệt thán trên động vật. Ngoài ra, các hoạt động khám sàng lọc kết hợp các chuyên giám sát thực địa của tuyến trung ương/tỉnh theo chiến dịch cũng được tổ chức để xác định các ca mắc và tự điều trị tại nhà (ưu tiên các xã đã từng có trường hợp bệnh than trong 15 năm gần đây).

2.2.6.2. Thu tuyển trường hợp đối chứng

Với mỗi trường hợp bệnh được xác định, nghiên cứu thu tuyển thêm 2 trường hợp đối chứng như sau:

- Khi có trường hợp bệnh được báo cáo, nhóm nghiên cứu tại Viện VSDTTU đưa ra tiêu chuẩn lựa chọn đối chứng dựa trên trường hợp bệnh được ghi nhận.
- Tiêu chuẩn lựa chọn ca đối chứng được gửi về TTKSBT tỉnh.
- TTKSBT tỉnh phối hợp với TTYT huyện và TYT xã để xác định trường hợp đối chứng phù hợp.
- Các trường hợp đối chứng phù hợp được đưa vào danh sách để điều tra.

2.2.7. Quy trình nghiên cứu

- Xác định trường hợp bệnh qua hệ thống giám sát thường xuyên và hoạt động giám sát chủ động. Xác định đối chứng tương ứng với các trường hợp bệnh (tỷ lệ 1:2).
- Cung cấp thông tin và ký thỏa thuận tham gia nghiên cứu: cán bộ điều tra trao đổi với bệnh nhân/ đối chứng và người giám hộ nhằm cung cấp các thông tin cơ bản về nghiên cứu như mục đích, quy trình thực hiện, các nguy cơ và lợi ích của việc tham gia nghiên cứu, tính bảo mật,

quyền tham gia và rút lui ra khỏi nghiên cứu tại bất cứ thời điểm nào; để đối tượng và người giám hộ có đầy đủ thông tin cho việc quyết định có tham gia nghiên cứu hay không (Phiếu cung cấp thông tin và thỏa thuận tham gia nghiên cứu tại Phụ lục 3).

- Lập danh sách và cấp mã số đối tượng nghiên cứu. Mã số được sử dụng thay cho tên của đối tượng trong các tài liệu nghiên cứu nhằm đảm bảo tính bảo mật và khả năng kết nối số liệu dịch tễ, xét nghiệm trong bộ số liệu.

Mã số được lập theo công thức sau: TỈNH 2-SỐ THỨ TỰ BỆNH NHÂN CỦA TỈNH- MÃ TRƯỜNG HỢP B/C.

- Mã số tỉnh: HGA - Hà Giang, SLA - Sơn La.
- Số thứ tự bệnh nhân tại mỗi tỉnh: từ 000 - 250
- Mã trường hợp: B - Bệnh, C - Chứng

Ví dụ: HGA2-001-B là bệnh nhân thứ nhất tại tỉnh Hà Giang tham gia nghiên cứu.

HGA2-001-C1 là chứng số 1 của bệnh nhân thứ 1 tại tỉnh Hà Giang tham gia nghiên cứu.

HGA2-001-C2 là chứng số 2 của bệnh nhân thứ 1 tại tỉnh Hà Giang tham gia nghiên cứu.

- Phỏng vấn sử dụng bộ câu hỏi: cán bộ điều tra sử dụng bộ câu hỏi dựng sẵn trên máy tính bảng/ điện thoại thông minh để phỏng vấn đối tượng và/hoặc người giám hộ các câu hỏi liên quan đến thông tin nhân khẩu học của bệnh nhân/đối chứng (tuổi, giới tính, trình độ học vấn...), tiền sử sức khỏe của đối tượng, tình trạng kinh tế hộ gia đình, hoạt động chăn nuôi gia súc, kiến thức-thái độ-thực hành phòng chống bệnh than và bệnh lây truyền từ động vật sang người (Bộ câu hỏi tại Phụ lục 2).

- Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu về TTKSBT tỉnh và Viện VSDTTU:
 - Nhằm đảm bảo mẫu được lấy sớm nhất sau khi chẩn đoán (trước khi sử dụng kháng sinh), việc lấy mẫu lâm sàng (mủ/mô, vảy da, mẫu máu) của trường hợp bệnh được thực hiện bởi cán bộ tuyến huyện được tập huấn kỹ càng và sử dụng bộ dụng cụ vô trùng được cung cấp bởi nghiên cứu. Việc lấy mẫu có thể được thực hiện trước khi cung cấp thông tin và ký thỏa thuận tham gia nghiên cứu do đây cũng là hoạt động bắt buộc của hệ thống giám sát.
 - Mẫu lâm sàng (mô/mủ, mẫu vảy da, máu trường hợp bệnh/đối chứng) sau khi lấy được xử lý tại TTYT huyện, bảo quản trong nhiệt độ 2-8°C và chuyển về TTKSBT tỉnh trong vòng 24 giờ kể từ khi lấy mẫu. Mẫu được bảo quản tại TTKSBT tỉnh ở nhiệt độ 2-8°C và chuyển về Viện VSDTTU trong tối đa 72 giờ kể từ khi lấy mẫu. Mẫu có thể được lưu giữ tại TTKSBT tỉnh lâu hơn 72 giờ nếu được bảo quản ở nhiệt độ -20°C (Quy trình lấy mẫu, xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu tại phụ lục 1)
 - Mẫu môi trường, mẫu động vật do nhóm điều tra trung ương và tuyến tỉnh thực hiện thu thập, xử lý, bảo quản và vận chuyển về Viện VSDTTU.
- Xét nghiệm tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và trả kết quả cho bác sĩ điều trị của bệnh nhân.

2.2.8. Thu thập thông tin cho nghiên cứu bệnh chứng

2.2.8.1. Công cụ thu thập thông tin:

Bộ câu hỏi phỏng vấn được lập trên máy tính bảng hoặc điện thoại thông minh dựa trên công cụ trực tuyến KoboToolbox.

Bộ câu hỏi phỏng vấn được xây dựng dựa trên các biến số và thông tin cần thu thập. Bộ câu hỏi bao gồm các phần chính sau:

- Thông tin về tọa độ GPS của hộ gia đình bệnh nhân/đối chứng.
- Thông tin nhân khẩu học của trường hợp bệnh/đối chứng.

- Tiền sử sức khoẻ của người bệnh/đối chứng và các thành viên khác trong gia đình.
- Tiền sử tiếp xúc với người mắc bệnh than khác, gia súc ốm chết, môi trường có nguy cơ lây nhiễm bệnh.
- Hoạt động chăn nuôi gia súc của hộ gia đình.
- Kiến thức và thực hành phòng chống bệnh than.

Mỗi bộ câu hỏi được gán một mã số định danh đối tượng được phỏng vấn tương ứng với mã số trong danh sách bệnh nhân/đối chứng.

2.2.8.2. Phương pháp thu thập thông tin

Bộ câu hỏi được xây dựng thành biểu mẫu điều tra (Phụ lục 2), biểu mẫu này được nhóm nghiên cứu xây dựng dựa trên hướng dẫn của CDC và các tài liệu tham khảo trong tổng quan tài liệu. Cán Bộ Y tế tuyến tỉnh là người phỏng vấn người tham gia nghiên cứu và nhập số liệu trên máy tính bảng với các bước chuyển và lệnh ràng buộc để đảm bảo thông tin được thu thập đầy đủ và đảm bảo tính nhất quán giữa các câu hỏi với nhau.

Số liệu sau khi nhập bởi cán bộ thực địa tại TTKSBT được tải lên cơ sở dữ liệu lưu trữ tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương ngay khi máy tính bảng được kết nối với mạng Internet.

Đối với người trên 18 tuổi, các điều tra viên tiến hành phỏng vấn trực tiếp người tham gia nghiên cứu. Đối với người từ 12-18 tuổi, việc phỏng vấn kết hợp hỏi thông tin người giám hộ và người tham gia nghiên cứu. Đối với người dưới 12 tuổi, chỉ phỏng vấn người giám hộ.

Các cuộc phỏng vấn chỉ được thực hiện khi người tham gia và/hoặc người giám hộ đồng ý và ký vào phiếu thỏa thuận tham gia nghiên cứu. Các cuộc phỏng vấn được tiến hành tại hộ gia đình hoặc cơ sở y tế theo đề nghị của đối tượng nghiên cứu để tạo điều kiện thoải mái nhất cho đối tượng khi tham gia nghiên cứu.

2.2.9. Quản lý và phân tích số liệu cho nghiên cứu bệnh chứng

Số liệu được quản lý bằng phần mềm KoboToolbox, làm sạch và phân tích bằng SPSS 20 (phân tích hồi quy logistic đơn biến), phần mềm R (phân tích đa biến theo các nhóm yếu tố nguy cơ từ cá thể; các yếu tố nguy cơ từ bên ngoài (tiền sử tiếp xúc gia súc ốm, chết, tiền sử giết mổ gia súc ốm, chết)).

Trong phân tích đơn biến, thống kê suy luận được thể hiện qua test thống kê Khi bình phương (χ^2) với tần số mong đợi > 5 hoặc Fisher- Exact test với tần số mong đợi < 5 khi kiểm định sự khác biệt giữa các nhóm bệnh và nhóm chứng.

Trong phân tích đa biến:

- Biến số phụ thuộc là biến số mắc bệnh và không bệnh, biến số độc lập là các biến số như (tiền sử tiếp xúc gia súc ốm, chết, tiền sử giết mổ gia súc ốm chết...).
- Tất cả các biến số độc lập và phụ thuộc trong phân tích đơn biến được đưa vào phần mềm phân tích số liệu R để phân tích theo phương pháp Bayesian Model Average (BMA) cho mô hình hồi quy logistic đa biến: Đây là một phương pháp không đưa ra một mô hình duy nhất mà đưa ra một mô hình tối ưu nhất. Để đánh giá mô hình tốt nhất ta dựa vào chỉ số BIC (Bayesian Information Criterion), chỉ số BIC càng nhỏ thì mô hình càng tốt.
 - Dựa vào tổng quan tài liệu để xác định các yếu tố nguy cơ;
 - Đưa toàn bộ các yếu tố được lọc vào mô hình BMA;
 - Lựa chọn mô hình tối ưu nhất tiếp tục phân tích tìm giá trị R^2 khả năng giải thích của mô hình.

2.2.10. Sai số và biện pháp hạn chế sai số

Sai số trong chọn mẫu có thể xảy ra trong quá trình lựa chọn trường hợp bệnh (khi không chọn đúng đối tượng mắc bệnh) và chọn không đúng đối tượng làm đối chứng (đã từng mắc bệnh và mang các đặc điểm phơi nhiễm

tương tự như trường hợp bệnh). Nghiên cứu hạn chế tối đa sai số này bằng các tiêu chuẩn lựa chọn chặt chẽ (có rà soát lại bởi cán bộ nghiên cứu ở tuyến tỉnh và trung ương) kết hợp với các xét nghiệm trong hệ thống giám sát thường xuyên giúp khẳng định trường hợp bệnh. Sai số trong quá trình thu thập thông tin bao gồm sai số do nhớ lại với các câu hỏi về thông tin trong quá khứ và cách hiểu khác nhau giữa các điều tra viên với cùng một câu hỏi. Sai số nhớ lại được giải quyết bằng cách đặt các mốc thời gian cho các câu hỏi kết hợp với một số mốc thời gian quan trọng của địa phương như mùa đổ nước, cấy lúa, thu hoạch, ngày lễ tết... Sai số trong quá trình thu thập số liệu của điều tra viên được hạn chế bằng hoạt động tập huấn, điều tra thử để đảm bảo các câu hỏi được hiểu thống nhất giữa các điều tra viên. Ngoài ra, việc kiểm tra số liệu thường xuyên bởi nhóm nghiên cứu tại Viện VSDTTU giúp phát hiện các giá trị còn thiếu, giá trị ngoại khoảng và thông báo cho điều tra viên thu thập bổ sung, điều chỉnh. Bộ câu hỏi được xây dựng trên máy tính bảng với các lệnh ràng buộc cũng giúp cho việc kiểm soát chất lượng số liệu tốt hơn.

2.3. Phương pháp nghiên cứu cho mục tiêu 3

*Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của chủng *Bacillus anthracis* phân lập được tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022.*

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả qua phân tích phòng thí nghiệm.

2.3.2. Thời gian

Tháng 1/2019 - 12/2022.

2.3.3. Địa điểm

Các xét nghiệm và phân tích được thực hiện tại phòng thí nghiệm Vi khuẩn đặc biệt, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

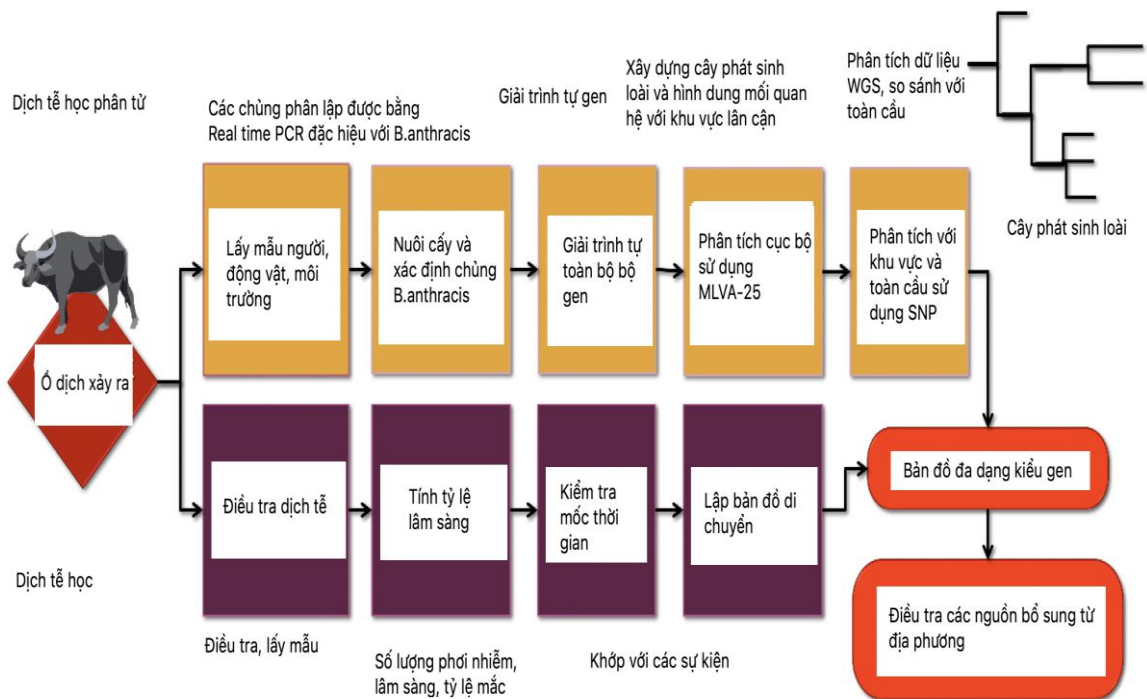
2.3.4. Đối tượng nghiên cứu

Các chủng vi khuẩn than *B. anthracis* xác định trong thời gian nghiên cứu.

2.3.5. Cơ mẫu

Chọn mẫu toàn bộ chủng *B. anthracis* phân lập được trong giai đoạn nghiên cứu. Giai đoạn năm 2019-2020 tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La đã xác định được 15 chủng *B. anthracis*.

2.3.6. Sơ đồ nghiên cứu



Hình 2.2. Sơ đồ nghiên cứu dịch tễ học phân tử [85]

2.3.7. Phân tích phòng thí nghiệm

a. Chuẩn bị mẫu

Các mẫu thu thập từ ổ dịch được vận chuyển đến và xử lý tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương (NIHE), sử dụng quy trình vận hành tiêu chuẩn an toàn sinh học cấp 3 (BSL3) được mô tả trong An toàn sinh học trong vi sinh và y sinh [144].

Các mẫu lâm sàng ở người được cấy trên môi trường thạch đậu nành trypticase (Becton Dick-inson and Company, Sparks, MD, USA) với 5% máu ngựa (Công ty TNHH Thương mại và Dịch vụ Nam Khoa, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam) (HBA), các mẫu nuôi cấy thu được được dùng để tìm các khuẩn lạc biệt lập trên HBA.

Mẫu đất từ địa điểm giết mổ được ngâm trong dung dịch muối đệm photphat (PBS) và ủ ở 65°C trong 1 giờ trong bể lắc 200 vòng/phút. 100 µl huyền phù được đặt lên các đĩa thạch polymyxin-lysozyme-EDTA- thallos acetate (PLET) (Merck KGaA, Darmstadt, Đức) và ủ ở 37°C trong 24 giờ.

Mẫu động vật được rửa bằng PBS sau đó được cắt thành từng miếng nhỏ và hoà trong 300 µl dung dịch natri clorua 0,9%.

Huyền phù thu được được đồng nhất hóa tạo thành dạng viên và 50-100 µl được mạ lên HBA. Sau đó, môi trường nuôi cấy được ủ ở 37°C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc đơn lẻ không tan máu có hình thái biểu thị *B. anthracis* được bảo quản ở -80°C trong kho glycerol 20%.

b. Xác định vi khuẩn, tách chiết ADN

Các mẫu phân lập được xác nhận là *B. anthracis* bằng cách chiết xuất DNA và sử dụng xét nghiệm qPCR đã được thiết lập trước đó nhằm mục tiêu vào dấu hiệu nhiễm sắc thể Ba-1 và dấu hiệu độc lực của plasmid; *lef* (pXO1 plasmid) và *capB* (pXO2 plasmid) [138]. Các mẫu được cấy vào các đĩa thạch BHI và DNA được chiết xuất từ một vòng nuôi cấy đầy đủ bằng Bộ lọc DNA bộ gen Wizard® (Promega, Madison, WI, USA). DNA được khử trùng bằng bộ lọc cellulose axetat 0,22 µm (Corning Costar, Corning, New York, USA) quay ở tốc độ 14.000 vòng trong 1 phút. Để xác nhận tính vô trùng, 10% thể tích DNA đã lọc được đặt lên môi trường thạch BHI và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Các mẫu không phát triển được xác nhận là vô trùng và định lượng bằng cách

sử dụng xét nghiệm độ nhạy cao DNA Qubit™, Kit (Tập đoàn Life Technologies, Eugene, OR, Hoa Kỳ). Độ tinh khiết DNA được xác nhận với tỷ lệ 260/280 trong khoảng từ 1,8 đến 2,0 bằng cách sử dụng Nano-Drop™ One (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA).

Mỗi phản ứng qPCR chứa 2 µl mẫu được chuẩn hóa thành 1 ng/µl, nuclease không chứa H₂O, mỗi đầu dò FAM (ThermoFisher, Waltham, MA, USA) và TaqMan® Universal PCR Master Mix (Life Technologies, Woolstone, WA, Vương quốc Anh), như đã mô tả trước đây. Thử nghiệm phức hợp đơn được chạy ba lần trên hệ thống QuantStudio 7 Flex (Hệ thống sinh học ứng dụng, Thành phố Foster, California, Hoa Kỳ) sử dụng các điều kiện của máy quay vòng nhiệt sau: 2 phút ở 95°C và 40 chu kỳ 20 giây ở 95°C và 30 giây ở 60°C, như đã mô tả trước đây.

c, Giải trình tự toàn bộ gen

Toàn bộ trình tự bộ gen của các mẫu được thực hiện bằng nền tảng giải trình tự Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA). Những cách tiếp cận này phù hợp với những nỗ lực giải trình tự gần đây với các chủng *B.anthraxis* ở Ukraine và Kazakhstan [142]. Các thư viện DNA được tạo ra bằng Bộ chuẩn bị thư viện DNA Nextera XT kết hợp với các chỉ mục kép từ Nextera XT Index Kit v2 (Illumina, San Diego, CA, USA). Các thư viện đã được định lượng bằng cách sử dụng Bộ xét nghiệm độ nhạy cao DNA Qubit™ ds (Life Technologies Corporation, Eugene, OR, USA) và định cỡ chạy trên gel agarose 2% được nhuộm bằng ethidium bromide để hình dung phạm vi kích thước của thư viện. Các thư viện được gộp lại, biến tính và pha loãng theo các thông số kỹ thuật được Illumina mô tả và chạy trên bộ PE chu trình Miseq® v2 300 (Illumina, San Diego, CA, USA) với mức tăng đột biến PhiX 5%. đối với mỗi mẫu được phân kênh thông qua nền tảng Basespace của Illumina và được sử dụng để phân tích thêm.

Các lần đọc được phân tách cho từng mẫu đã được kiểm tra chất lượng, tập hợp và căn chỉnh bằng cách sử dụng phiên bản Galaxy của Đại học Florida [13]. Chất lượng của các lần đọc được phân kênh, đánh giá bằng FASTQC phiên bản 0.11.08 [19]. Trình tự bộ chuyên đổi Illumina và các lần đọc có điểm chất lượng kém đã bị xóa bằng phiên bản Trimmomatic 0.36.5 [33]. Các tệp FASTQ được cắt xén thu được đã được tập hợp bằng Unicycler, trình tối ưu hóa SPAdes và SPAdes, thuật toán lắp ráp bộ gen de novo [22]. Pilon được sử dụng để giảm sự không khớp, khoảng trống và cơ sở không chính xác [130]. Chất lượng của các tổ hợp được đánh giá bằng QUAST phiên bản 5.0.2 [86], dựa trên các chủng tổ tiên Ames (Số gia nhập: GCF000008445.1). Các tập hợp có điểm LG50 thấp (<20) là số lượng nhánh cần thiết để chiếm 50% bộ gen tham chiếu và có độ dài tham chiếu như mong đợi đối với *B. anthracis*, gần 5,5 triệu cặp bazơ (Mbp) được coi là có chất lượng đủ cao. Ngoài ra, mỗi tổ hợp phải có phần trăm tỷ lệ bộ gen cao (> 95%), xác định mức độ bao phủ của bộ gen tham chiếu theo các đường viền được lắp ráp. Các bộ gen đã vượt qua kiểm soát chất lượng đã được sử dụng để phân tích phát sinh gen.

Trong nghiên cứu này, ngoài 15 chủng *B. anthracis* xác định được tại hai tỉnh Sơn La, Hà Giang giai đoạn 2019-2022 chúng tôi còn bổ sung các chủng tại các địa phương khác tại Việt Nam giai đoạn từ 2008-2022 để so sánh về đặc điểm di truyền giữa các tỉnh, với tổng số chủng được đưa vào so sánh là 26. Các chủng từ các quốc gia lân cận như Trung Quốc (UF00305, UF00306, UF00308) và Indonesia (UF00516, UF00525, UF00530), được mua từ bộ sưu tập anthracis Martin-Hugh Jones Bacillus đặt tại Đại học Florida. Các chủng này được xác định trước đây lần lượt là A0568, A0569, A0574 và A0422, A0421, A0413. Những chủng này đã được hồi sinh, DNA được chiết xuất và được xác nhận là *B. anthracis* bằng phương pháp PCR (như đã mô tả trước đây). Toàn bộ trình tự bộ gen và phân tích xuôi dòng được thực hiện theo các phương pháp được mô tả ở trên tại trường đại học Florida, Hoa Kỳ.

d, Phân tích đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn

Cây di truyền phân tử phát sinh loài của vi khuẩn (Phylogenetic tree) được tạo ra để thể hiện vị trí toàn cầu cũng như các mối quan hệ khu vực và địa phương của các chủng bùng phát ở Sơn La, Hà Giang. Toàn bộ trình tự bộ gen của các chủng đại diện cho dòng phụ cuối cùng của nhánh A, ví dụ *B. anthracis* Sterne (A.Br. Sterne) đã được mua lại từ Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia (NCBI). Tương tự, các tài liệu tham khảo khu vực đã được thu thập cho Bangladesh, Indonesia, Thái Lan, Gambia (chủng loại Gmb-1), Senegal (chủng loại nhóm Sen2Col2, Sen3), Ý (chủng loại Carbo sap, chủng gốc không rõ nguồn gốc), Ấn Độ, Nga (chủng loại Tsiankovskii-I), và Scotland (chủng loại Ba4599, không rõ nguồn gốc chủng tổ tiên). Dữ liệu WGS bộ gen đã được sử dụng để tạo ra kiểu phát sinh gen dựa trên wgSNP. Ngoài ra, kiểu gen MLVA-25 có nguồn gốc từ silico [82], đã tham khảo so sánh 67 cấu hình MLVA-25 từ một tập hợp các chủng *B. anthracis* đa dạng về mặt di truyền thường được coi là đại diện cho sự phân bố toàn cầu. Bộ gen *B. anthracis* bổ sung từ các tỉnh miền Bắc Việt Nam khác đã được công bố vào năm 2020 [56] và được lấy từ Ngân hàng Dữ liệu DNA Nhật Bản (DDBJ).

Các dòng và dòng phụ của *B. anthracis* đã được xác định cho tất cả các chủng sử dụng canSNP đã được thiết lập được mô tả năm 2004 [100]. Toàn bộ lệnh gọi SNP của bộ gen được thu thập bằng công cụ dòng lệnh parSNP theo Harvest Suite [152]. Bộ gen tham chiếu trong nghiên cứu này, tổ tiên Ames, được biết là có A.Br.006, A.Br.003, A. Br.002, A.Br.001 và A01 SNP. Mối quan hệ di truyền giữa các chủng ở quy mô địa phương đã được nghiên cứu bằng MLVA-25. Phân tích này được thực hiện bằng cách sử dụng siêu máy tính tính toán hiệu năng cao của Đại học Florida, HiPerGator2. Tập lệnh python mlva-finder [129] đã được sử dụng để thực hiện phân tích silico để xác định số lần lặp lại tại locus MLVA được xác định trước đó [82].

Để xác nhận khả năng tái tạo của kiểu MLVA silico sang kiểu MLVA in vivo, dữ liệu WGS cho các chủng tham khảo toàn cầu được liệt kê đã được mua lại. Chúng bao gồm các chủng loại cuối cùng từ các nhánh và dòng phụ *B. anthracis* chính, bao gồm nhưng không giới hạn ở A1055 (Nhánh C), CNEVA 9066 (Nhánh B), Kruger B (Nhánh B), Tây Bắc Mỹ (WNA, Nhánh A) và Aust94 (Nhánh A). Kết quả là cấu hình silico MLVA-25 giống hệt với cấu hình MLVA-25 in vivo của chúng được xuất bản trong nghiên cứu của Lista (2006) [82].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tạo ra hai loại cây phát sinh gen để quan sát xác định mối quan hệ di truyền giữa các chủng toàn cầu, khu vực (các nước lân cận và các chủng Việt Nam ngoài Sơn La, Hà Giang). Tại địa phương, chúng tôi quan tâm đến sự đa dạng của các chủng được phục hồi trong quá trình điều tra ổ dịch. Đầu tiên, vị trí chung của các chủng Sơn La, Hà Giang trong phát sinh loài *B. anthracis* được xác định bằng cách sử dụng công cụ phân tích Phát sinh loài và Tiến hóa phân tử (PhaME) [114]. Các chủng từ đợt bùng phát dịch, cùng với các chủng tham chiếu khu vực và toàn cầu đã đề cập trước đó, được căn chỉnh theo chủng tổ tiên Ames (Số gia nhập: GCF000008445.1) bằng cách sử dụng NUCmer (bộ MUMmer 2) [44]. Sau đó, các SNP theo cặp đã được xác định và phát sinh chủng loại dựa trên wgSNP được tạo ra bằng cách sử dụng chương trình khả năng tối đa Axelerated ngẫu nhiên (RAxML) (Stamatakis, 2014). RAxML sử dụng mô hình Gamma + có thể đảo ngược thời gian tổng quát bằng cách sử dụng các vị trí bất biến (I) (GTRGAMMAI) để phát triển cây phát sinh gen có khả năng tối đa [151] với các giá trị khởi động [99]. Nói một cách đơn giản, thuật toán này lặp đi lặp lại tạo ra các cấu trúc liên kết cây ($n = 100$) để xác định cây phát sinh gen có khả năng lớn nhất, được biểu thị bằng các giá trị dây đeo khởi động ước tính xác suất của nhánh.

Tiếp theo, các mối quan hệ cục bộ trong đợt bùng phát dịch đã được nghiên cứu bằng cách sử dụng cây liên kết hàng xóm (NJ). Cây ghép hàng xóm được giới thiệu vào năm 1987 và có nguồn gốc từ ma trận khoảng cách di truyền [150]. Đây là một phương pháp phân cụm kết tụ sẽ tạo ra các cụm dựa trên khoảng cách di truyền và nối các cụm theo cách từng bước cho đến khi tạo ra cây cuối cùng. Cây ghép hàng xóm tạo ra những diễn giải chính xác về mối quan hệ di truyền trong các tập dữ liệu nhỏ hơn và đã được sử dụng để trực quan hóa các mối quan hệ trong dịch tễ học của *B. anthracis* ở Ukraine và Kazakhstan, cũng như các mầm bệnh lây truyền từ động vật sang người khác.

2.4. Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu

- Các biến số về nhân khẩu học: tuổi, giới tính, dân tộc, nghề nghiệp....
- Các biến số về dịch tễ: thời gian mắc bệnh, tiền sử tiếp xúc, chăn thả gia súc...
- Các biến số về lâm sàng: triệu chứng mắc bệnh...
- Các biến số về yếu tố nguy cơ.
- Các biến số về sinh học phân tử: mã chủng vi khuẩn, kiểu gen, nguồn mẫu...

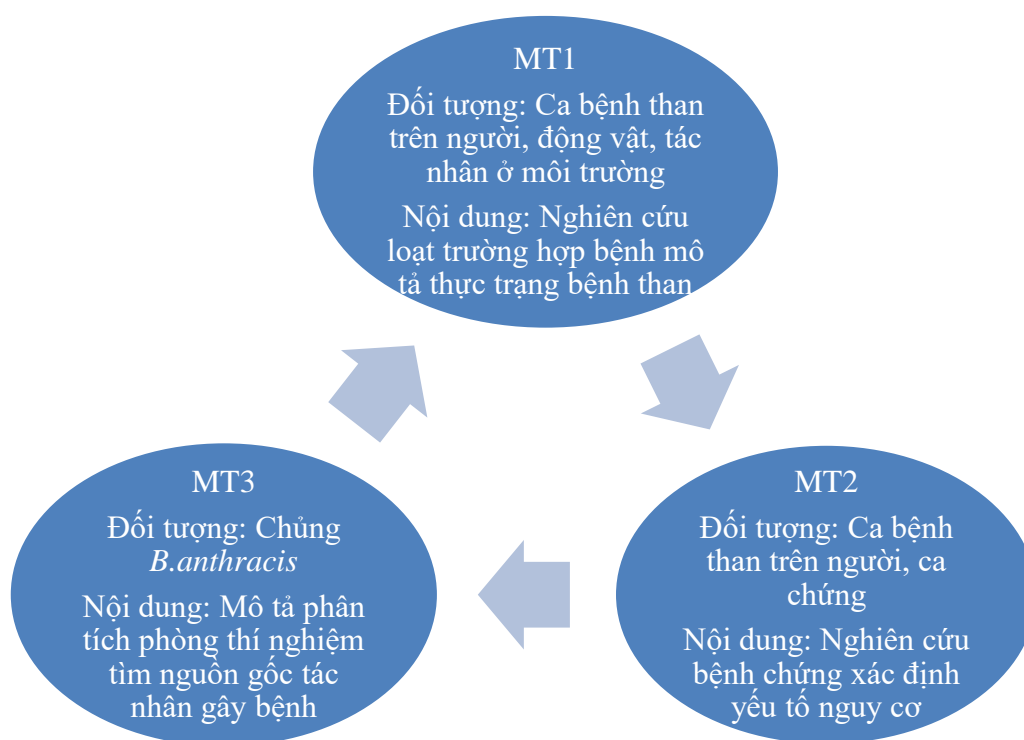
Biến số và chỉ số theo từng mục tiêu chi tiết tại phụ lục 4.

2.5. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện theo các nguyên tắc đạo đức trong nghiên cứu y sinh học theo quy định chung trong nước và thông qua Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương số HĐDD-04/2022 ngày 12/4/2022 bao gồm các nội dung sau:

- Tính bảo mật thông tin của nghiên cứu.
- Tham gia tự nguyện.
- Quyền lợi của người tham gia nghiên cứu.
- Những nguy cơ và biện pháp giảm thiểu nguy cơ cho đối tượng.
- Quy trình lấy đồng thuận.

2.6. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu và tổng hợp cỡ mẫu



Hình 2.3. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

Bảng 2.2. Tổng hợp cỡ mẫu trong nghiên cứu

STT	Mục tiêu	Cỡ mẫu
1	Mô tả thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022	99 ca bệnh than trên người 9 mẫu động vật 238 mẫu đất 15 ca bệnh than trên gia súc
2	Xác định một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022	26 ca bệnh, 52 ca chúng
3	Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của chủng <i>Bacillus anthracis</i> phân lập được tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022	15 chủng vi khuẩn <i>B.anthraxis</i>

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022

3.1.1. Bệnh than trên người

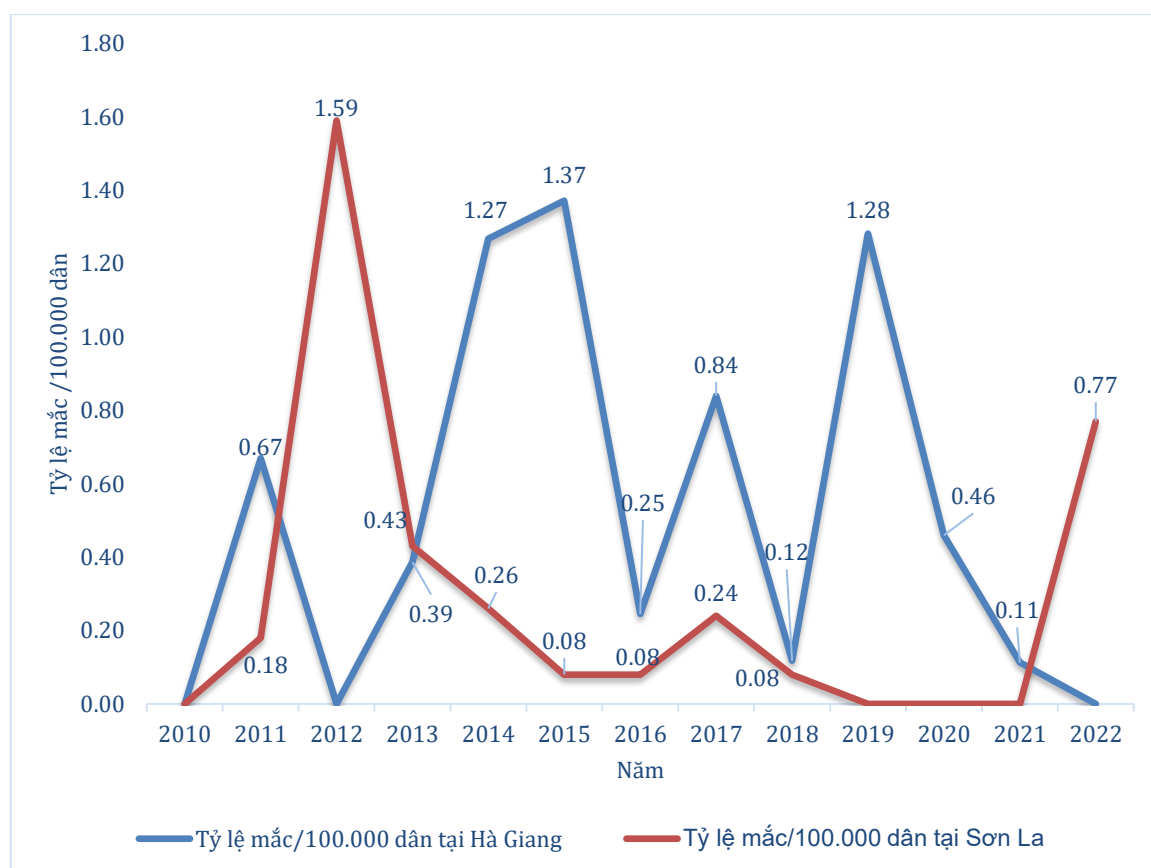
3.1.1.1. Tổng hợp trường hợp bệnh than tại Hà Giang, Sơn La

Bảng 3.1. Tổng hợp trường hợp bệnh than tại Hà Giang, Sơn La (n=99)

TT	Tỉnh	Loại chẩn đoán				Tổng	
		Lâm sàng	Tỷ lệ %	Xét nghiệm	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
1	Hà Giang	32	58,2	23	41,8	55	100
2	Sơn La	34	77,3	10	22,7	44	100
Tổng		66	66,7	33	33,3	99	100

Tổng số trường hợp mắc bệnh than trong thời gian nghiên cứu tại hai tỉnh là 99 trường hợp, tại Hà Giang là 55 chiếm 55,6%, tại Sơn La là 44 trường hợp chiếm 44,4%. Tỷ lệ chẩn đoán trường hợp bệnh than bằng lâm sàng tại hai tỉnh (66,7%) cao hơn phương pháp chẩn đoán xét nghiệm (33,3%). Tại Hà Giang phương pháp chẩn đoán bằng xét nghiệm đạt 41,8% cao hơn tỷ lệ chẩn đoán bằng xét nghiệm tại tỉnh Sơn La.

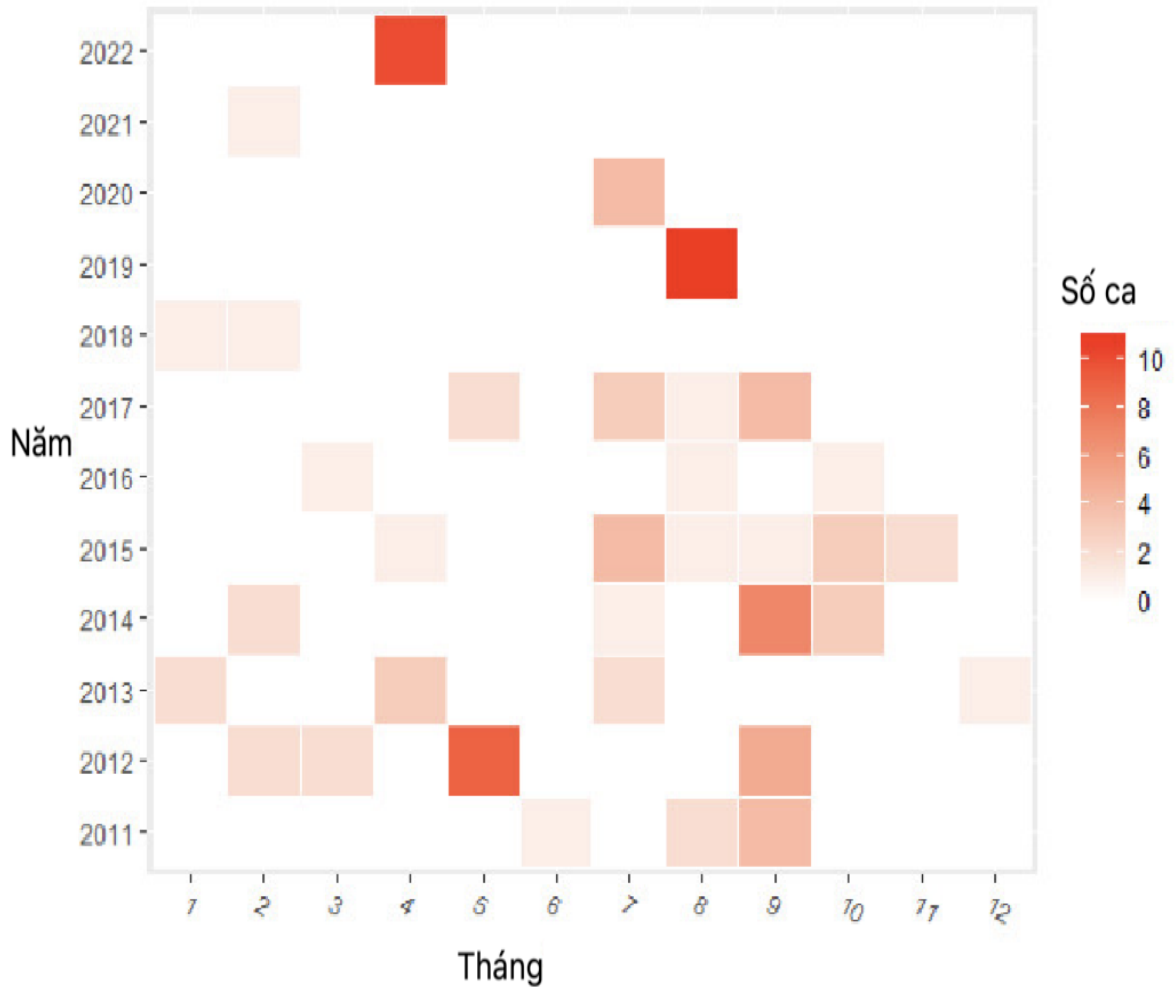
3.1.1.2. Tỷ lệ mắc trường hợp bệnh than trên 100.000 dân



Biểu đồ 3.1. Phân bố tỷ lệ mắc bệnh than/100.000 dân tại hai tỉnh

Biểu đồ cho thấy hầu hết các năm tiến hành nghiên cứu đều có trường hợp than mắc tại hai tỉnh, tỷ lệ mắc/100.000 dân tại tỉnh Sơn La tăng cao nhất năm 2012 (1,6/100.000 dân), các năm tiếp theo tỷ lệ mắc giảm, năm 2019-2021 không ghi nhận trường hợp mắc tại tỉnh tuy nhiên đến năm 2022 ghi nhận số trường hợp than tăng cao. Tại Hà Giang tỷ lệ mắc phân bố ở hầu hết các năm, tỷ lệ mắc tăng giảm theo chu kỳ từ 2-3 năm, từ năm 2020-2022 tỷ lệ mắc giảm và không ghi nhận trường hợp mắc vào năm 2022.

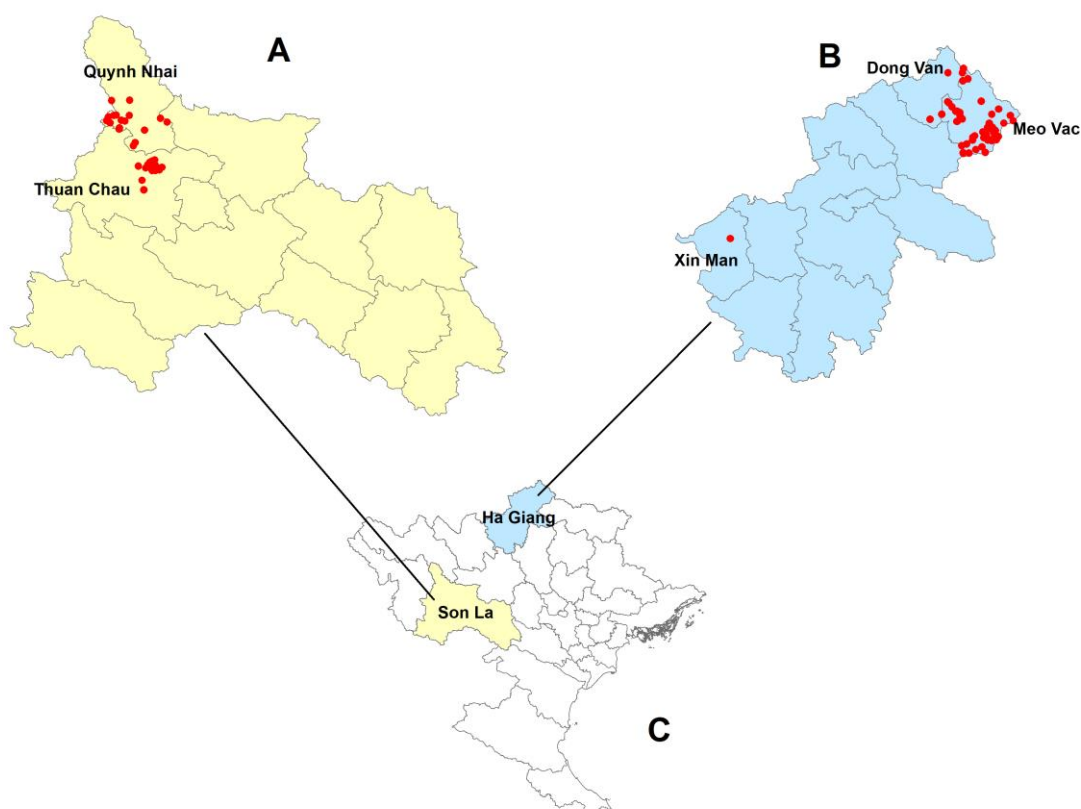
3.1.1.3. Phân bố trường hợp bệnh theo thời gian



Biểu đồ 3.2. Phân bố trường hợp bệnh than theo thời gian (n = 99)

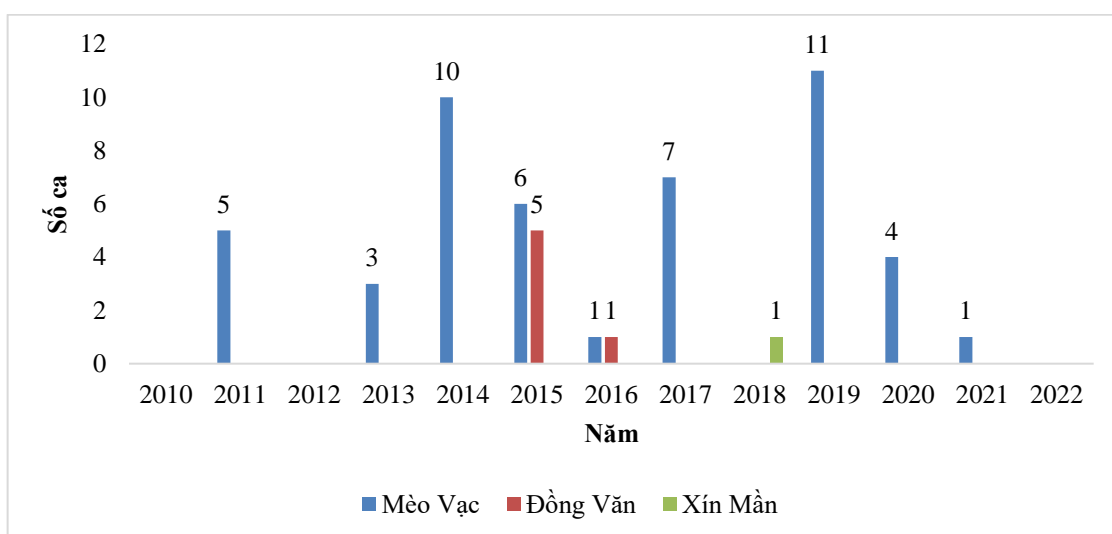
Các trường hợp bệnh than xảy ra ở hầu hết các năm trong giai đoạn nghiên cứu, từ năm 2014 đến 2019 số trường hợp bệnh xuất hiện nhiều hơn, năm 2020-2021 số trường hợp mắc ít chiếm 5% trường hợp mắc. Ổ dịch rải rác quanh năm tuy nhiên thường xảy ra vào từ tháng 7 đến tháng 9 của hầu hết các năm với trên 50% trường hợp mắc.

3.1.1.4. Phân bố trường hợp bệnh than theo địa điểm



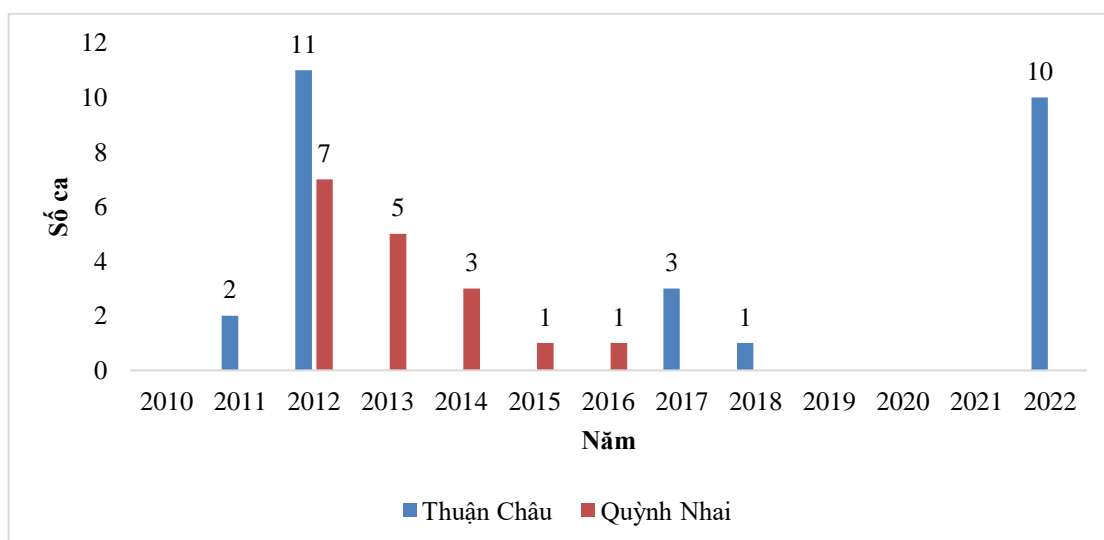
Bản đồ 3.1. Phân bố trường hợp bệnh than từ 2010 - 2022 tại Hà Giang (B), Sơn La (A), tại khu vực miền Bắc Việt Nam (C) ($n = 99$)

Trong 13 năm tại Hà Giang ổ dịch than xảy ra tại 3/11 huyện/thành phố, trong đó chủ yếu ổ dịch tập trung tại huyện Mèo Vạc trong 8 xã. Huyện Đồng Văn ổ dịch xảy ra tại 2 xã, huyện Xín Mần chỉ có một trường hợp vào năm 2018. Tại Sơn La từ năm 2010-2022 ổ dịch than xảy ra tại 2/12 huyện/thành phố. Huyện Quỳnh Nhai không ghi nhận trường hợp bệnh từ năm 2016. Huyện Thuận Châu các trường hợp bệnh rải rác từ năm 2011-2022.



Biểu đồ 3.3. Phân bố trường hợp bệnh than theo huyện thuộc tỉnh Hà Giang (n=55)

Trường hợp bệnh than chủ yếu xuất hiện ở huyện Mèo Vạc tỉnh Hà Giang tại hầu hết các năm từ giai đoạn 2010-2022. Tại huyện Đồng Văn xuất hiện bệnh than vào các năm 2015-2016, tại huyện Xín Mần chỉ xuất hiện bệnh vào năm 2018.



Biểu đồ 3.4. Phân bố trường hợp bệnh than theo huyện thuộc tỉnh Sơn La (n=44)

Tại huyện Thuận Châu tỉnh Sơn La, bệnh than xuất hiện vào các năm từ 2011, 2012 sau đó bệnh tiếp tục xảy ra tại các năm 2017, 2018, 2022. Tại huyện Quỳnh Nhai bệnh than xảy ra liên tục từ năm 2012-2016.

3.1.1.5. Phân bố trường hợp bệnh than theo tuổi và giới tính

Bảng 3.2. Phân bố trường hợp bệnh than theo tuổi và giới tính (n = 99)

Thông tin chung	Số lượng	Tỷ lệ
	n	%
Tuổi		
< 5 tuổi	13	13,1
6 - 10 tuổi	2	2,0
11 - 15 tuổi	10	10,1
16 - 20 tuổi	5	5,05
21 - 25 tuổi	10	10,1
26 - 30 tuổi	19	19,2
31 - 35 tuổi	12	12,1
36 - 40 tuổi	7	7,1
41 - 45 tuổi	8	8,1
46 - 50 tuổi	6	6,1
51-55 tuổi	2	2,0
>55 tuổi	5	5,05
Tổng	99	100
$\bar{X} \pm SD$; Max; Min	27,8 \pm 15,3; 61; 1	
Giới tính		
Nam	75	75,8
Nữ	24	24,2
Tổng	99	100

Tuổi mắc bệnh than phân bố hầu hết các nhóm từ 1 đến trên 50, tuy nhiên có 3 nhóm tuổi chiếm tỷ lệ cao hơn: ở nhóm dưới 5 tuổi (13,1%), 26-30 tuổi (19,2%) và nhóm 31-35 tuổi (12,1%). Tuổi mắc bệnh trung bình là 27,8, tuổi cao nhất là 61 và thấp nhất là 1 tuổi. Phần lớn trường hợp mắc bệnh than là nam chiếm 75,8%, cao gấp 3,1 lần so với nữ.

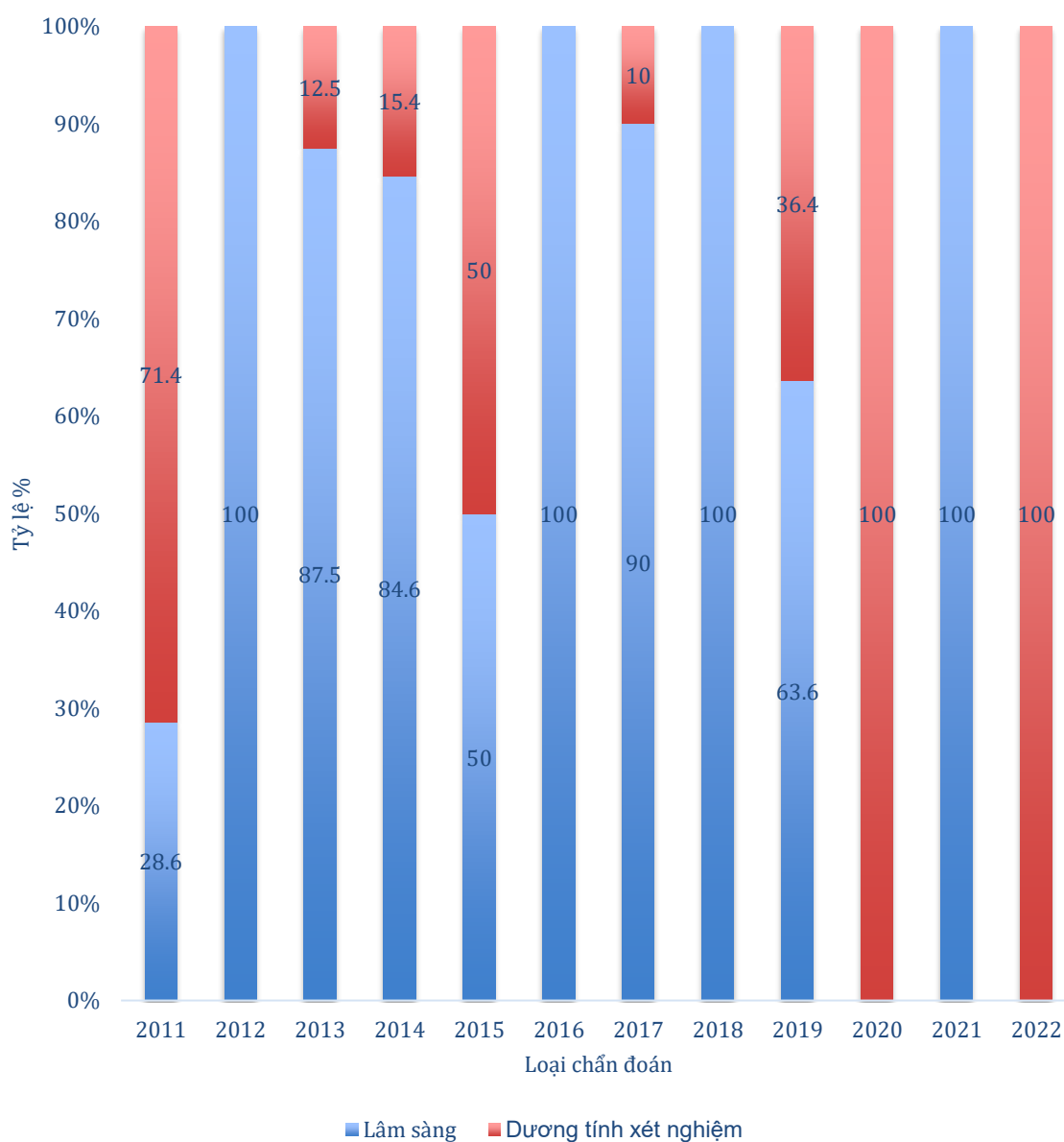
3.1.1.6. Phân bố trường hợp bệnh than theo tiền sử tiếp xúc

Bảng 3.3. Bảng phân loại trường hợp bệnh theo tiền sử tiếp xúc (n=99)

Nguồn tiếp xúc	Hình thức tiếp xúc	Số lượng	Tỷ lệ %
Trâu	Tiếp xúc với trâu	25	28,3
	Giết mổ và ăn thịt trâu chết	2	
	Mua thịt trâu về ăn	1	
Bò	Tiếp xúc với bò	12	22,2
	Ăn thịt bò chết	9	
	Giết mổ bò chết	1	
Lợn	Tiếp xúc với lợn	7	10,1
	Tiếp xúc và ăn thịt lợn chết	1	
	Giết mổ và ăn thịt lợn chết	1	
	Giết mổ lợn ốm chết	1	
Dê	Giết mổ và ăn thịt dê chết	2	4
	Ăn thịt dê chết	2	
Tiếp xúc với Đất	Tiếp xúc đất tại khu vực nước thải chuồng trâu bò	11	11,1
Không rõ	Không khai thác được tiền sử tiếp xúc	24	24,2
Tổng số		99	100

64,6% các trường hợp bệnh có tiền sử tiếp xúc với gia súc, trong đó chiếm tỷ lệ cao là tiếp xúc với trâu và bò. Hình thức tiếp xúc bao gồm: tiếp xúc trực tiếp, giết mổ, ăn thịt gia súc ốm chết. 11,1% các trường hợp được ghi nhận có tiền sử tiếp xúc với đất khu vực có nước thải chuồng gia súc. 24,2% các trường hợp chưa khai thác được tiền sử tiếp xúc.

3.1.1.7. Phân bố tỷ lệ chẩn đoán bệnh theo thời gian



Biểu đồ 3.5. Phân loại trường hợp bệnh theo chẩn đoán (n=99)

Từ năm 2010-2018 các trường hợp bệnh than chủ yếu được chẩn đoán bằng phương pháp lâm sàng. Giai đoạn 2019-2022 hầu hết các trường hợp được chẩn đoán bằng xét nghiệm, năm 2021 chỉ có 1 trường hợp bệnh tại 2 tỉnh và không lấy được mẫu xét nghiệm.

3.1.1.8. Phân bố thể bệnh theo kết quả điều trị

Bảng 3.4. Phân loại trường hợp bệnh theo thể bệnh và kết quả điều trị (n=99)

Thể bệnh	Kết quả điều trị			
	Khỏi bệnh	Tỷ lệ %	Tử vong	Tỷ lệ %
Thể da (n=97)	97	100	0	0
Thể phổi (n=1)	0	0	1	100
Thể tiêu hoá (n=1)	0	0	1	100
Tổng số	97	98	2	2

Kết quả cho thấy có 98% trường hợp mắc bệnh than là thể ngoài da, 100% thể bệnh da được điều trị khỏi bệnh. Chỉ có 2% thể bệnh là phổi và tiêu hoá, tuy nhiên hai người bệnh thể này đều tử vong. Tỷ lệ chết/mắc thấp (2,02%).

3.1.1.9. Mô tả ổ dịch bệnh than năm 2022 tại huyện Thuận Châu tỉnh Sơn La

a. Đặc điểm chung vụ dịch

Bản Nong Giăng xã Nong Lay là địa điểm khởi phát dịch bệnh than (địa điểm có 1 con trâu bị chết và là nơi giết mổ trâu) ngoài ra còn 2 bản Nong Lay và Huổi Lọng mỗi bản có 1 hộ gia đình lấy thịt trâu tại bản Nong Giăng về ăn. Cả 3 bản đều là đồng bào dân tộc Laha sinh sống, giáp với các bản Phiêng Phớ, Liên Minh, Cửa Hàng, Bó Mạ cùng xã (nơi có ổ dịch bệnh than cũ). Tổng số 17 người cùng tham gia giết mổ trâu, 10 trường hợp có triệu chứng lâm sàng (tỷ lệ tấn công 58,8%), 137 người thuộc 3 bản và 26 hộ có tiền sử tiếp xúc với ổ dịch. Bản Nong Giăng có 50 hộ với 267 nhân khẩu; bản Nong Lay có 39 hộ với 177 nhân khẩu; bản Huổi Lọng có 163 hộ với 733 nhân khẩu cả 3 bản đều là bản đặc biệt khó khăn của xã Nong Lay huyện Thuận Châu tỉnh Sơn La.

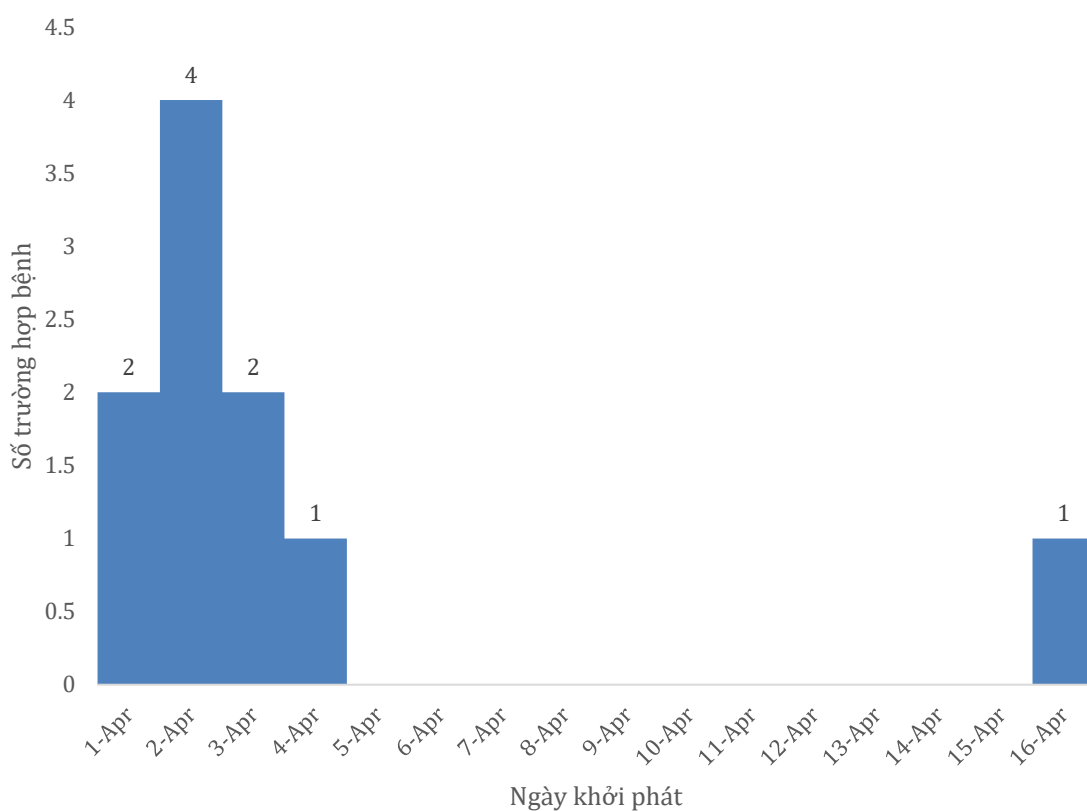
b. Trường hợp bệnh đầu tiên

Bệnh nhân nam, 24 tuổi, trú tại bản Nong Giảng, xã Nong Lay huyện Thuận Châu. Ngày 31/3/2022 bệnh nhân có tham gia giết mổ trâu chết tại nhà hàng xóm cùng bản, đến ngày 01/4/2022 bệnh nhân xuất hiện gai sốt, mọc ban ở đầu ngón giữa bàn tay phải sau đó tạo thành vết loét, tẩy đỏ phù nề xung quanh, tại vết loét xuất hiện điểm màu đen tại giữa vết loét, không đau, ngứa. Bệnh nhân tự điều trị tại nhà, mua thuốc kháng sinh (không rõ loại gì) về uống và vệ sinh tay bằng nước muối. Ngày 7/4/2022 bệnh tiến triển nặng vào khám và điều trị tại bệnh viện huyện Thuận Châu.



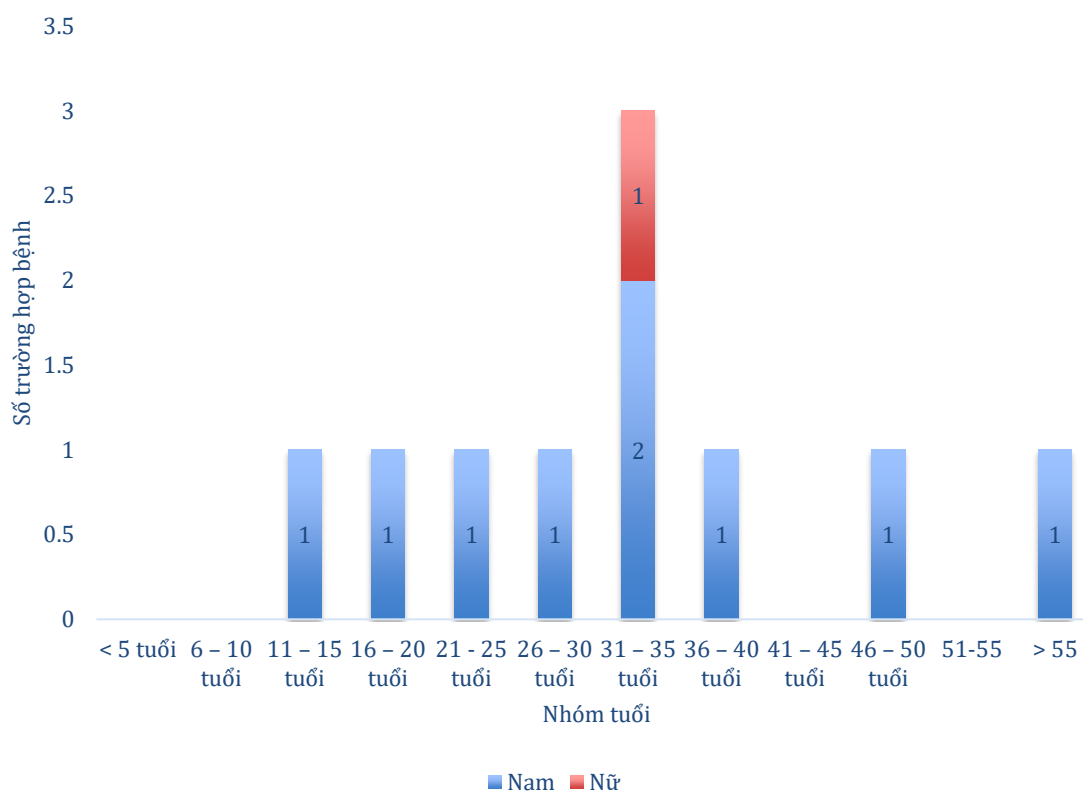
Hình 3.1. Trường hợp bệnh nhân tại vụ dịch

c. Diễn tiến vụ dịch



Biểu đồ 3.6. Phân bố trường hợp mắc bệnh theo ngày khởi phát (n=10)

Sau khi phát hiện trường hợp bệnh đầu tiên, 8 trường hợp tiếp theo lần lượt xuất hiện vào các ngày từ 1 đến 4 tháng 4 năm 2022. Trường hợp cuối cùng tại vụ dịch được ghi nhận vào ngày 16 tháng 4 năm 2022, đây là trường hợp mang thịt trâu về bảo quản ở tủ lạnh và sau hơn 1 tuần mới chế biến ăn.



Biểu đồ 3.7. Phân bố các trường hợp bệnh theo tuổi và giới tính (n=10)

Lứa tuổi mắc bệnh chủ yếu trên 16 tuổi (90%), trường hợp mắc nhỏ nhất là 15 tuổi và cao tuổi nhất trên 57 tuổi. 90% trường hợp mắc là nam giới, chỉ có 1 trường hợp là nữ giới mắc bệnh.

d. Đặc điểm dịch tễ gia súc

Trâu đã nuôi được hơn 2 tuổi do gia đình mua từ bản khác về nuôi được hơn hai năm, trước ngày tử vong không thấy trâu ăn uống bất thường.

e. Đặc điểm lâm sàng của các trường hợp bệnh

Triệu chứng chung của các ca bệnh có sốt, đau đầu, có mọc ban, sau hóa mủ, chảy nước, đóng vẩy đen, sưng tấy, phù nề xung quanh ban, ngứa, không đau nhức.

Vị trí tổn thương: 100% ở tay không thuận do tiếp xúc trực tiếp với nguồn bệnh và da bị tổn thương: 89% ở bàn tay, 11% ở cẳng tay.

f. Lấy mẫu chẩn đoán

Lấy 31 mẫu (01 mẫu đất, 02 mẫu thịt trâu, 28 mẫu của bệnh nhân gồm dịch mũi, vẩy da và huyết thanh. Kết quả xét nghiệm cho thấy cả mẫu người, gia súc và môi trường đều có kết quả dương tính với vi khuẩn than.

g. Kết luận vụ dịch

Đây là một vụ dịch bệnh than điển hình trên người, gia súc (trâu) và tác nhân gây bệnh cũng tìm thấy được ở ngoài môi trường (đất).

3.1.1.10. Mô tả ổ dịch than tại Hà Giang năm 2019

a. Đặc điểm chung vụ dịch

Nơi xuất hiện các trường hợp bệnh, người dân chủ yếu làm nương, gia súc được nuôi nhốt chính là bò, dê và lợn. Tại xã Sủng Máng trong nhiều năm không ghi nhận ổ dịch bệnh than. Trên xã không có hiện tượng giết mổ, vận chuyển gia súc trái phép. Tổ 2 thôn Sủng Máng nằm trong lòng thung lũng gồm 18 hộ, các hộ gia đình nằm sát nhau, chuồng gia súc đặt ngay trước cửa nhà, phân gia súc không được thu gom. Tất cả các trường hợp bệnh được ghi nhận có chơi tại vùng đất trũng của thôn nơi vào mùa mưa có hiện tượng chảy đất và chất thải từ các chuồng gia súc trên cao xuống.

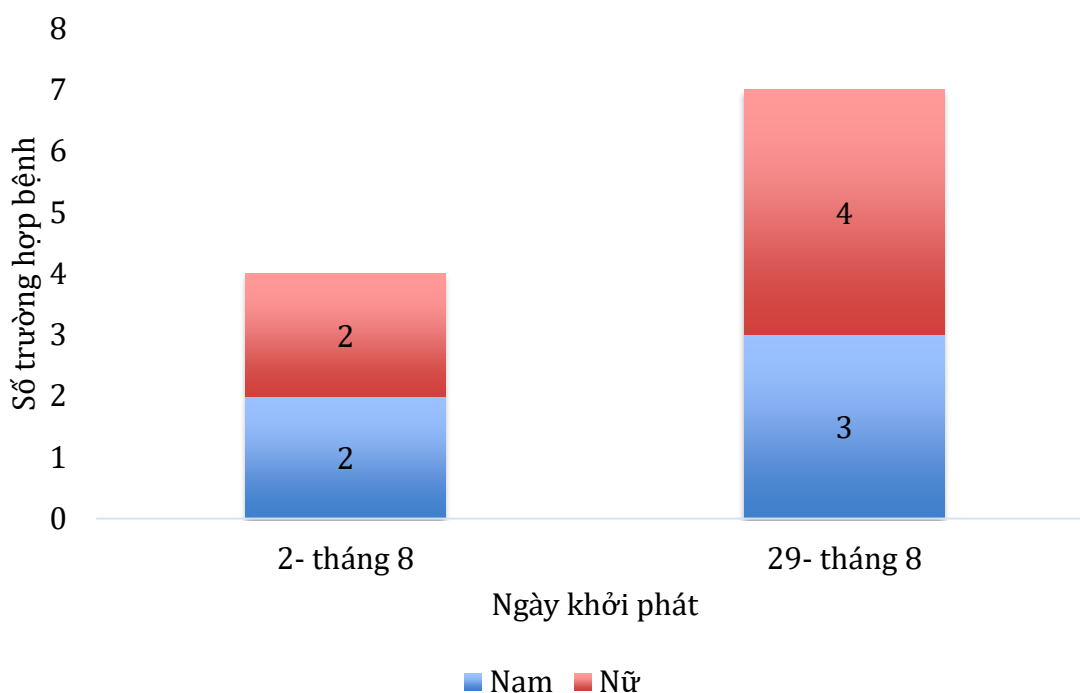


Hình 3.2. Khu vực tiếp xúc với đất của trẻ con tại ổ dịch

b. Trường hợp bệnh đầu tiên

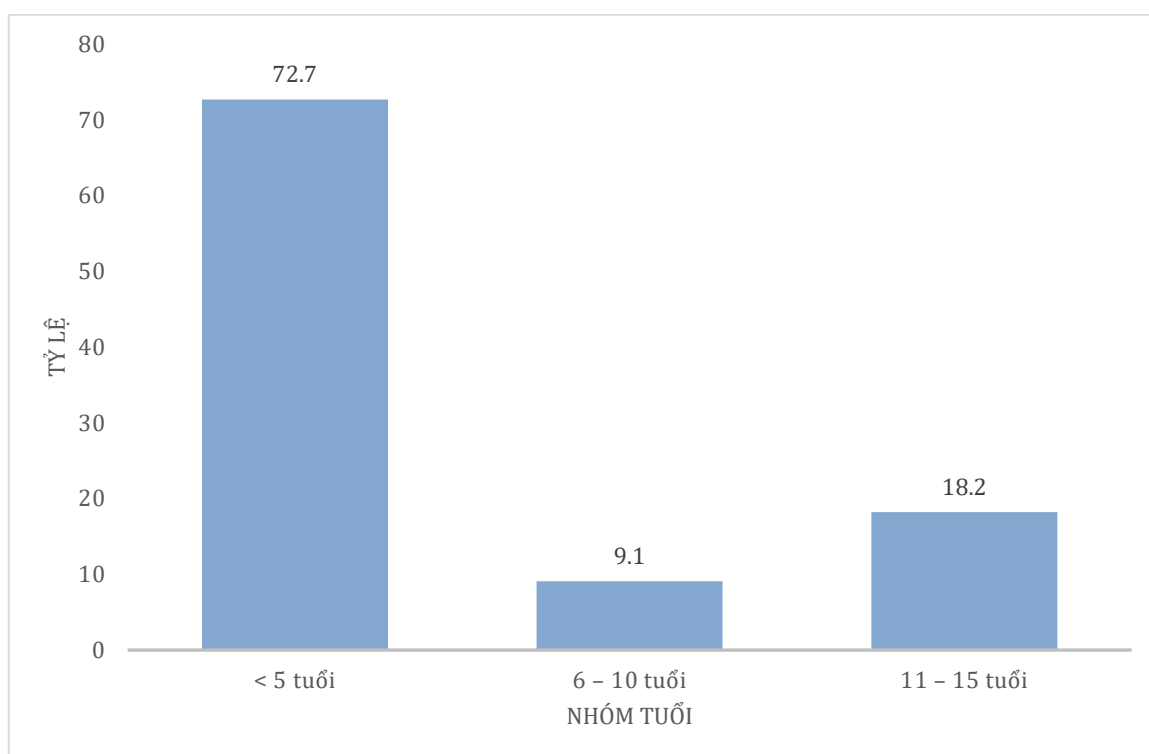
Ngày 29/8/2019 Trung tâm Y tế huyện Mèo Vạc phát hiện một số trường hợp nghi bệnh than vào khám và điều trị. Qua quá trình điều tra xác định được một số trường hợp nghi ngờ bệnh than, trường hợp đầu tiên biểu hiện từ 2/8/2019.

c. Diễn tiến vụ dịch



Biểu đồ 3.8. Phân bố trường hợp bệnh than theo thời gian mắc và giới tính (n=11)

Ô dịch chỉ xảy ra vào tháng 8 vào hai thời điểm khác nhau, 4 trường hợp nghi ngờ mắc bệnh vào ngày 2/8 và 7 trường hợp nghi ngờ vào ngày 29/8. Tỷ lệ mắc bệnh tại nhóm nữ giới là 54,5% cao hơn nhóm nam giới là 45,5%.



Biểu đồ 3.9. Phân bố tỷ lệ mắc bệnh theo nhóm tuổi (n=11)

Chiếm phần lớn với 72,7% trường hợp mắc bệnh là nhóm tuổi dưới 5 tuổi, 100% các trường hợp mắc bệnh tại vụ dịch là dưới 15 tuổi.

d. Đặc điểm lâm sàng của các trường hợp bệnh

Toàn bộ các trường hợp có vết loét tại chân, tay, và vùng đầu.

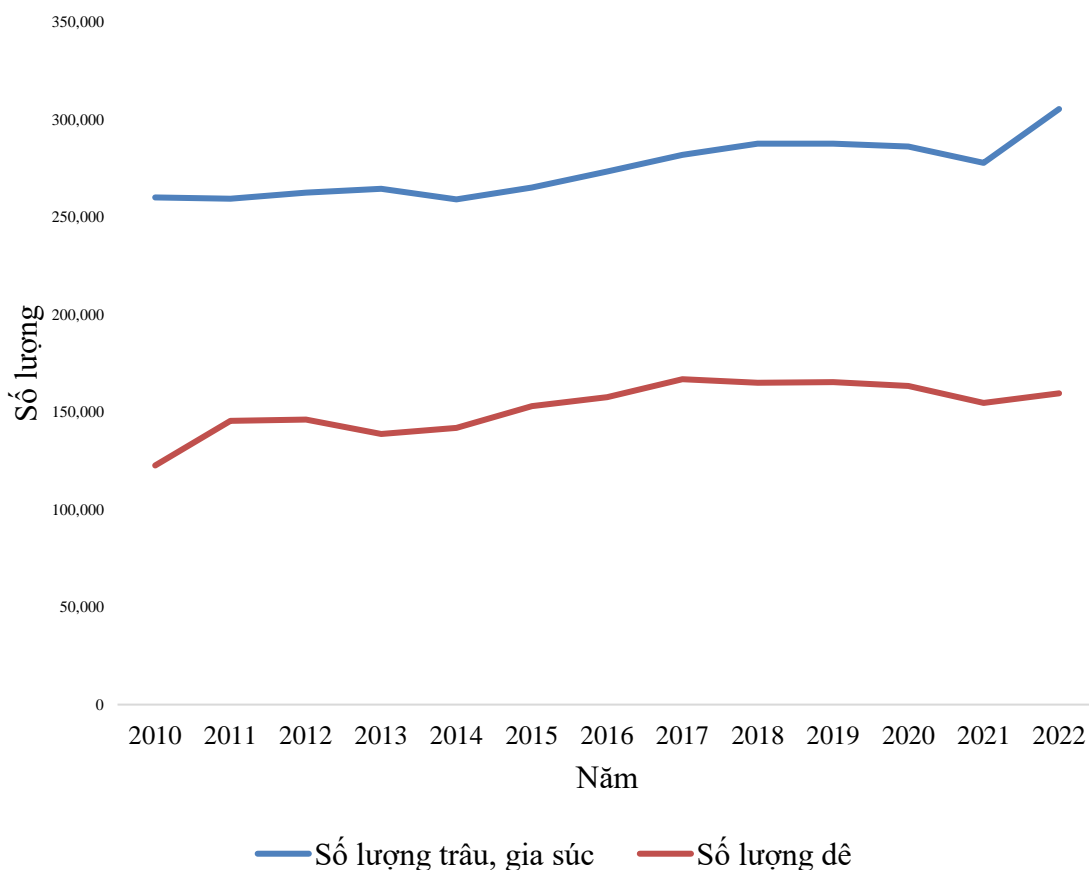
e. Lấy mẫu chẩn đoán

Ngày 2/9/2019 lấy 5 mẫu đất tại khu vực trẻ con vui chơi, 7 mẫu bệnh phẩm trên người khởi phát ngày 29/8/2019. Kết quả cho thấy các mẫu đất dương tính với vi khuẩn *Bacillus cereus* có mang theo gen độc tố của vi khuẩn than và 4/7 mẫu bệnh nhân dương tính với vi khuẩn *B. anthracis*.

f. Chẩn đoán vụ dịch: Đây là một vụ dịch bệnh than trên người có tiền sử tiếp xúc với đất (có chứa tác nhân gây bệnh than) nơi chứa chất thải của gia súc, chưa xác định được tiền sử tiếp xúc với gia súc.

3.1.2. Bệnh than trên động vật

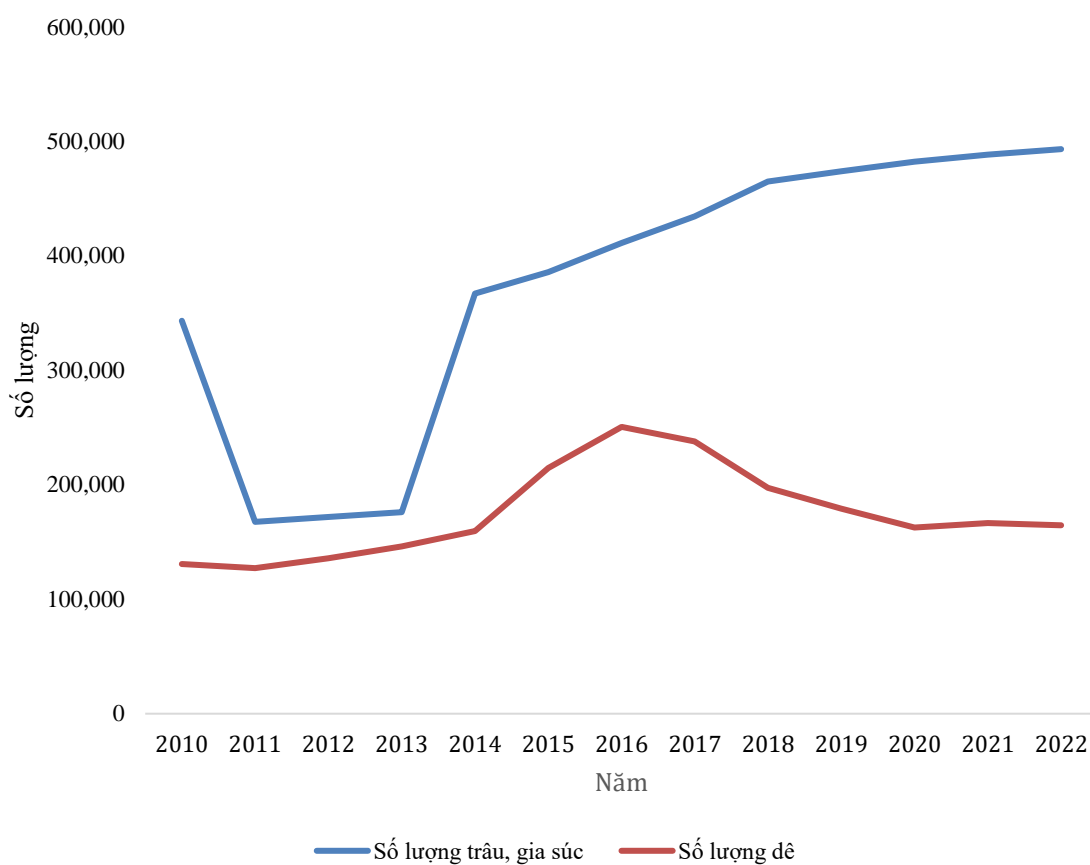
3.1.2.1. Phân bố đàn trâu, gia súc, dê tại Hà Giang 2010-2022



Biểu đồ 3.10. Phân bố đàn trâu, gia súc, dê tại Hà Giang 2010-2022

Theo số liệu thống kê của Chi cục Thú y tỉnh Hà Giang về số liệu trên gia súc cho thấy, tại Hà Giang từ năm 2010-2022 số lượng trâu, gia súc từ 250.000 đến 300.000 con, cao gần gấp đôi số lượng dê từ 100.000 - 150.000 con. Số lượng gia súc và dê tại Hà Giang có xu hướng tăng dần qua các năm.

3.1.2.2. Phân bố đàn trâu, gia súc, dê tại Sơn La 2010-2022



Biểu đồ 3.11. Phân bố đàn trâu, gia súc, dê tại Sơn La 2010-2022

Theo số liệu thống kê của Chi cục Thú y tỉnh Sơn La, số lượng trâu, gia súc tại Sơn La giảm giai đoạn 2011-2013 sau đó tăng dần qua các năm với số lượng cao nhất vào năm 2022 (gần 500.000 con). Số lượng dê tăng dần từ 2010-2016 sau đó giảm dần đến năm 2022, năm cao nhất 2016 (gần 300.000 con).

3.1.2.3. Phân bố trường hợp mắc bệnh than trên gia súc tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2010 - 2022

Bảng 3.5. Phân bố trường hợp mắc bệnh than trên gia súc tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2010 – 2022, theo số liệu thống kê của Chi cục Thú y tỉnh (n = 15)

Năm	Hà Giang		Sơn La	
	Trâu, bò	Dê	Trâu, bò	Dê
2010	5	0	0	0
2014	1	4	0	0
2015	2	0	0	0
2017	0	1	0	0
2020	1	0	0	0
2022	0	0	1	0
Tổng	9	5	1	0

Tại Hà Giang, số trường hợp gia súc mắc bệnh được ghi nhận rải rác từ năm 2010 - 2020, trong đó 2 năm có số trường hợp mắc nhiều nhất là năm 2010 (5) và 2014 (5). Tại Sơn La không được ghi nhận trường hợp gia súc mắc than các năm trước kia, tuy nhiên năm 2022 ghi nhận 1 trường hợp trâu mắc tại Thuận Châu.

3.1.2.4. Kết quả xét nghiệm bệnh phẩm trên động vật tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2010-2022

Bảng 3.6. Kết quả xét nghiệm bệnh phẩm trên động vật tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2010-2022, theo số liệu lưu giữ trong sổ xét nghiệm tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương (n=9)

Năm	Loại mẫu	Số lượng	Địa điểm	Kết quả nuôi cấy		Kết quả PCR	
				+	-	+	-
2020	Thịt bò khô	5	Hà Giang	0	0	5	0
2021	Lông đuôi trâu	2	Hà Giang	0	2	0	2
2022	Thịt trâu	1	Sơn La	1	0	1	0
2022	Giò trong sừng trâu	1	Sơn La	1	0	1	0
Tổng		9		2	2	7	2

Từ năm 2020 Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương đã thu thập các mẫu động vật tại Hà Giang, kết quả dương tính với vi khuẩn *B. anthracis* trên các mẫu thịt bò, trâu. Năm 2022 tại ổ dịch tại Sơn La được lấy mẫu trên trâu xét nghiệm cũng cho kết quả dương tính với vi khuẩn *B. anthracis*.

3.1.3. Tác nhân gây bệnh than trong môi trường (đất)

Bảng 3.7. Kết quả xét nghiệm PCR các mẫu đất tại tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2016-2022 (n=238)

Năm	Loại Mẫu	Số lượng	Địa điểm	+ <i>B. Bacillus (Ba813)</i>	+ gen <i>cap</i>	+ gen <i>pag</i>	+ cả gen <i>cap/pag</i>
2016	Đất	64	Hà Giang	55	15	6	2
2017	Đất	45	Hà Giang	30	4	5	3
2018	Đất	55	Hà Giang	26	4	5	4
2019	Đất	48	Hà Giang	10	10	7	1
2020	Đất	5	Hà Giang	0	0	0	0
2021	Đất	11	Sơn La	1	1	0	0
2021	Đất	9	Hà Giang	0	0	0	0
2022	Đất	1	Sơn La	1	0	0	1
Tổng		238		123	34	23	11

Kết quả cho thấy có 123 mẫu (51,7%) dương tính với gen *Ba813*, 34 mẫu (14,3%) dương tính với gen *cap*, 9,6% mẫu đất cho kết quả dương tính với gen *pag*, 4,6% số mẫu dương tính với cả hai gen *cap/pag*.

3.2. Một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022

3.2.1. Đặc điểm nhóm tuổi, giới tính của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.8. Đặc điểm nhóm tuổi, giới tính của đối tượng nghiên cứu

Yếu tố	Nhóm bệnh (n=26)	%	Nhóm chứng (n=52)	%	
Giới tính	Nam	18	69,2	36	69,2
	Nữ	8	30,8	16	30,8
Nhóm tuổi	<= 20 tuổi	12	46,2	26	50
	> 20 tuổi	14	53,8	26	50

Bảng 3.8 về các yếu tố nhân khẩu học cho thấy lựa chọn nhóm chứng đã được thực hiện ghép cặp với nhóm bệnh theo đúng tỷ lệ 1 bệnh, 2 chứng. Số trường hợp mắc bệnh của nam cao hơn nữ, về nhóm tuổi cho thấy nhóm dưới 20 tuổi mắc bệnh có số lượng thấp hơn nhóm trên 20 tuổi.

Các biến số thành phần dân tộc, nghề nghiệp có tính đặc thù của địa bàn nghiên cứu là khu vực miền núi, phân tích số liệu cho thấy 100% có thành phần là người dân tộc và 100% đối tượng nghiên cứu làm nghề nông nghiệp.

3.2.2. Các yếu tố nguy cơ bên ngoài đến khả năng mắc bệnh than

Bảng 3.9. Các yếu tố nguy cơ bên ngoài đến khả năng mắc bệnh than

Yếu tố		Nhóm bệnh (n=26)	Nhóm chứng (n=52)	OR 95%CI
Trong quá khứ đã có bệnh than xung quanh gia đình (thôn, bản)	Có	11	6	5,62 (1,78-17,80)
	Không	15	46	1
Tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh	Có	19	6	20,81 (6,18-70,09)
	Không	7	46	1
Sinh hoạt gần chuồng nuôi gia súc 1 tuần trước khi mắc bệnh	Có	10	8	3,44 (1,15-10,24)
	Không	16	44	1
Từng nghe về bệnh than (triệu chứng bệnh)	Có	10	7	4,02 (1,3-12,34)
	Không	16	45	1
Xử lý phân gia súc (chôn)	Không	17	17	4 (1,31-12,25)
	Có	6	24	1
Làm sạch thức ăn cho gia súc	Có	9	32	0,33 (0,12-0,88)
	Không	17	20	1
Người chăn thả gia súc	Bệnh nhân	15	16	3,1 (1,2-8,1)
	Người khác	11	36	1
Đã nghe về bệnh nhiệt thán (triệu chứng)	Có	10	20	1 (0,4-2,6)
	Không	16	32	1
Tiêm vắc xin cho gia súc (tiêm chiến dịch)	Có	10	15	1,54 (0,6-4,2)
	Không	16	37	1
Mổ lấy thịt gia súc ốm, chết	Có	17	19	3,28 (1,2-8,8)
	Không	9	33	1

Kết quả phân tích đơn biến các yếu tố nguy cơ bên ngoài đến khả năng mắc bệnh than cho thấy trường hợp sống tại nơi có bệnh than xung quanh trong quá khứ (thôn, bản) có nguy cơ mắc bệnh cao gấp 5,62 lần người sống tại nơi chưa từng ghi nhận bệnh than trong quá khứ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 1,78 - 17,80).

Về tiền sử tiếp xúc trực tiếp với gia súc ốm, chết 1 tuần trước thời điểm mắc bệnh cho thấy những trường hợp có tiếp xúc (như giết mổ, chăn nuôi) có nguy cơ mắc bệnh cao gấp 20,81 lần so với nhóm không tiếp xúc. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 6,18 - 70,09).

Những trường hợp có nhà ngay bên cạnh hoặc sinh hoạt (rửa rau, nấu nướng) bên cạnh chuồng nuôi gia súc có nguy cơ mắc bệnh than cao gấp 3,44 lần trường hợp có nhà ở xa hoặc không có hoạt động cạnh chuồng nuôi trong vòng 1 tuần trước khi bị bệnh. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 1,15 - 10,24).

Phân tích về yếu tố thông tin về bệnh than cho thấy, những nhóm từng nghe về bệnh than (thông qua việc tuyên truyền của nhân viên y tế, hoặc trên loa đài) có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn 4,02 lần so với nhóm chưa nghe về bệnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 1,3 - 12,34).

Đối với hành vi xử lý phân gia súc (chôn) cho thấy những trường hợp không xử lý phân gia súc (không chôn) làm tăng nguy cơ mắc bệnh than lên 4 lần so với nhóm có xử lý phân gia súc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 1,31 - 12,25).

Thực hiện làm sạch thức ăn (cỏ, lá cây) trước khi cho gia súc ăn là yếu tố bảo vệ khi làm giảm nguy cơ mắc bệnh xuống còn 0,33 lần so với thức ăn chưa được rửa sạch. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 0,12 - 0,88).

Người trực tiếp tham gia vào công việc chăn thả gia súc có nguy cơ mắc bệnh cao gấp 3,1 lần người không tham gia vào việc chăn thả. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 1,2 - 8,1).

Không có sự khác biệt về nguy cơ mắc bệnh than đối với nhóm đã từng nghe về bệnh nhiệt thán hoặc chưa từng nghe về bệnh trên động vật (95%CI: 0,4 - 2,6).

Về hoạt động tiêm phòng vắc xin trên gia súc (tiêm chiến dịch) cho thấy không có sự khác biệt về nguy cơ mắc bệnh than trên người đối với nhóm người đã tiêm vắc xin phòng chống bệnh than cho gia súc trong gia đình hoặc chưa được tiêm vắc xin (95%CI: 0,6 - 4,2).

Kết quả cho thấy những người tham gia mổ lấy thịt gia súc ốm, chết có nguy cơ mắc bệnh than cao gấp 3,28 lần những người không tham gia vào hoạt động giết mổ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (95%CI: 1,2 - 8,8).

Bảng 3.10. Tổng hợp các yếu tố nguy cơ có ý nghĩa trong phân tích đơn biến

TT	Các biến số	Nhóm bệnh	Nhóm chứng	OR	95%CI
1	Trong quá khứ đã có bệnh than xung quanh gia đình (thôn, bản)	11	6	5,62	1,78-17,80
2	Có tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh	19	6	20,81	6,18-70,09
3	Có sinh hoạt gần chuồng nuôi gia súc 1 tuần trước khi mắc bệnh	10	8	3,44	1,15-10,24
4	Có từng nghe về bệnh than (triệu chứng bệnh)	10	7	4,02	1,3-12,34
5	Không xử lý phân gia súc (chôn)	17	17	4	1,31-12,25
6	Có làm sạch thức ăn cho gia súc	9	32	0,33	0,12-0,88
7	Bệnh nhân là người chăn thả gia súc	15	16	3,1	1,2-8,1
8	Có mổ lấy thịt gia súc ốm, chết	17	19	3,28	1,2-8,8

Bảng 3.10 cho thấy khi phân tích đơn biến có 8 yếu tố nguy cơ hoặc là yếu tố bảo vệ liên quan đến khả năng mắc bệnh than trên người là: trong quá khứ đã có bệnh than xung quanh gia đình (thôn, bản); có tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh; có sinh hoạt gần chuồng nuôi gia súc 1 tuần trước khi mắc bệnh; có từng nghe về bệnh than (triệu chứng bệnh); không xử lý phân gia súc (chôn); có làm sạch thức ăn cho gia súc; bệnh nhân là người chăn thả gia súc; có mổ lấy thịt gia súc ốm, chết.

3.2.3. Phân tích đa biến các yếu tố nguy cơ mắc bệnh than

Bảng 3.11. Phân tích đa biến các yếu tố nguy cơ mắc bệnh than

	Xác suất hệ số hồi quy khác 0 ($p! = 0$)	Mô hình 1	Mô hình 2	Mô hình 3
Giá trị dự đoán biến phụ thuộc khi các biến độc lập bằng 0 (Intercept)	100	-11,57	-60,17	-9,9
Trong quá khứ đã có bệnh than xung quanh gia đình (thôn, bản)	13		19,92	
Tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh	87	4,27		4,07
Sinh hoạt gần chuồng nuôi gia súc 1 tuần trước khi mắc bệnh	0			
Từng nghe về bệnh than (triệu chứng bệnh)	0			
Xử lý phân gia súc (chôn)	7,5			2,7
Làm sạch thức ăn cho gia súc	0			
Bệnh nhân là người chăn thả gia súc	0			
Đã nghe về bệnh nhiệt thán (triệu chứng)	0			
Tiêm vắc xin cho gia súc (tiêm chiến dịch)	0			
Mổ lấy thịt gia súc ốm, chết	92,5	3,28	19,92	
BIC		-210,21	-206,6	-205,5
Xác suất hậu định (Post prob)		0,795	0,13	0,075

Sau khi phân tích đơn biến các biến số độc lập để tìm yếu tố nguy cơ mắc bệnh than, tất cả các biến số độc lập đó được đưa vào mô hình đa biến để phân tích tìm ra mô hình tối ưu nhất. Kết quả cho thấy phương pháp BMA nhận dạng ra 3 mô hình tối ưu. Mô hình 1 gồm hai yếu tố nguy cơ là: tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh và mổ lấy thịt gia súc ốm, chết; mô hình 2 gồm hai yếu tố nguy cơ: trong quá khứ đã có bệnh than xung quanh gia đình (thôn, bản) và mổ lấy thịt gia súc ốm, chết; mô hình 3 gồm 2 yếu tố nguy cơ: tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh và không xử lý phân gia súc (chôn). Tuy nhiên, mô hình 1 giá trị BIC thấp nhất (-210,21) và có xác suất hậu định (xác suất mô hình xuất hiện) cao nhất (79,5%), vì thế hai yếu tố có xác suất liên quan đến nguy cơ mắc bệnh than là: tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh (xác suất biến xuất hiện trong mô hình 87%) và mổ lấy thịt gia súc ốm, chết (xác suất biến xuất hiện trong mô hình 92,5%).

Bảng 3.12. Mô hình khả dĩ đến đánh giá và tiên lượng nguy cơ mắc bệnh than

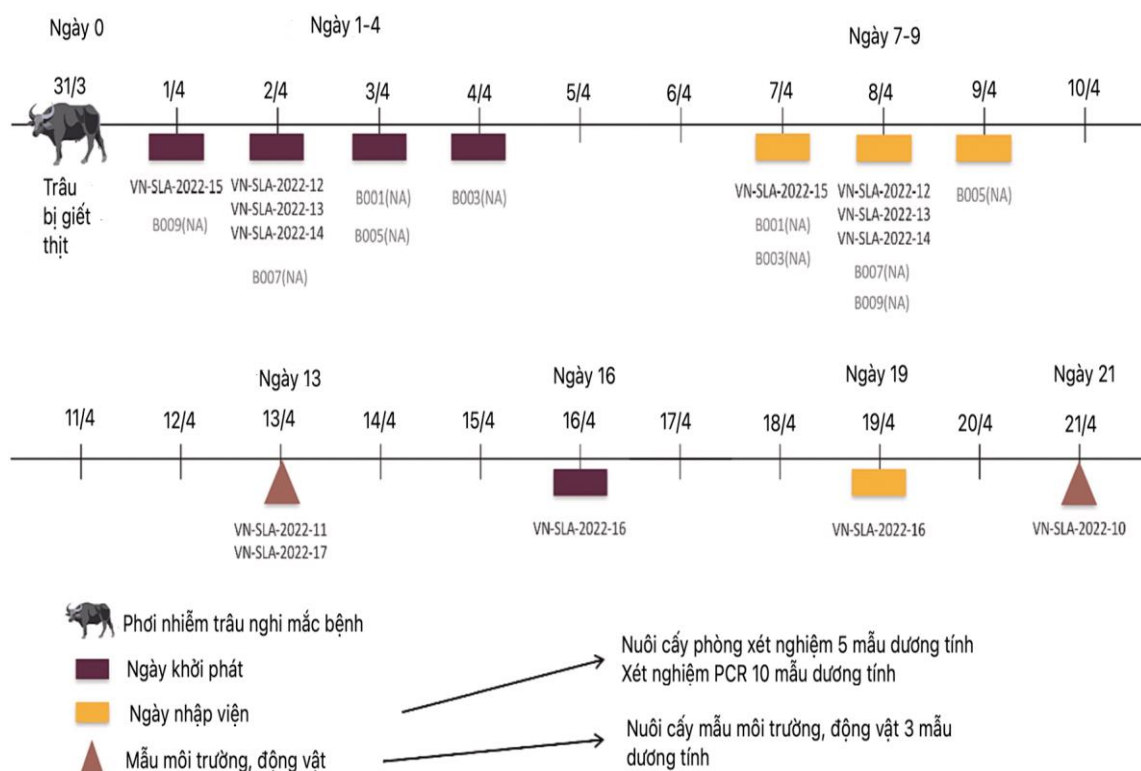
	Hệ số hồi quy chưa chuẩn hóa (Coef)	Sai số chuẩn (S.E.)	aOR 95%CI	p
Intercept	-7,13	1,86	0,0008 0,00001-0,02	0,0001
Tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh	3,32	0,72	27,8 7,7-137	< 0,0001
Mổ lấy thịt gia súc ốm, chết	1,67	0,71	5,3 1,4-25,7	0,0188

$R^2 = 0,523$

Theo hệ số xác định $R^2 = 0,523$, mô hình trên giải thích được 52,3% nguy cơ gây bệnh than. Hai yếu tố nguy cơ mắc bệnh than là: tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết 1 tuần trước khi mắc bệnh (aOR=27,8; 95%CI=7,7-137) và mổ thịt gia súc ốm, chết (aOR=5,3; 95%CI=1,4-25,7).

3.3. Một số đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn *Bacillus anthracis* phân lập được ở bệnh nhân tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022

3.3.1. Đặc điểm dịch tễ vụ dịch bệnh than tại Sơn La, 2022



Biểu đồ 3.12. Diễn biến theo thời gian vụ dịch bệnh than tại Sơn La 2022

Biểu đồ cho thấy diễn tiến theo thời gian bùng phát từ đợt điều tra về vụ dịch Sơn La năm 2022. Ngày khởi phát triệu chứng được thể hiện bằng (hình chữ nhật màu tím), ngày nhập viện, lấy mẫu ở người (hình chữ nhật màu vàng), ngày lấy mẫu động vật (hình tam giác màu nâu) và ngày lấy mẫu môi trường (tam giác màu nâu). Các trường hợp lâm sàng ở người chưa được xác định xét nghiệm được hiển thị bằng màu xám. Các mẫu lâm sàng ở người và mẫu động vật đã được xác định chủng *B. anthracis* được hiển thị bằng màu đen.

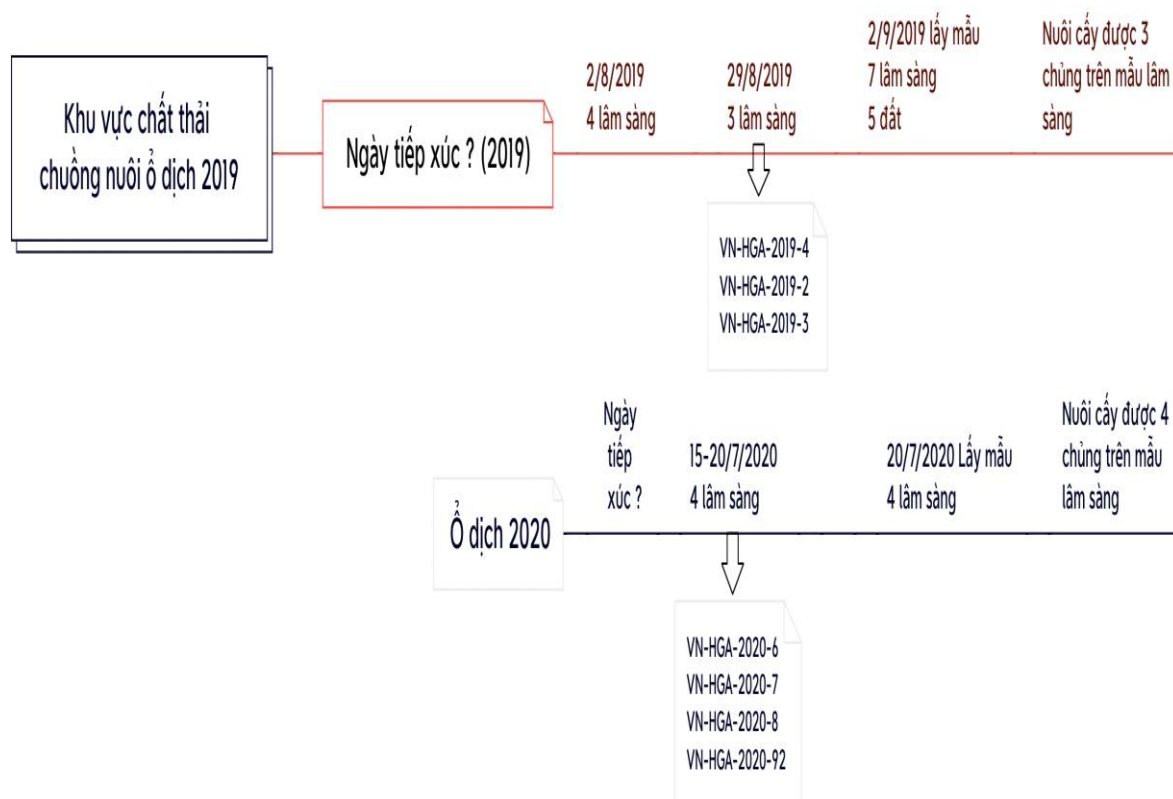
Từ diễn biến của vụ dịch cho thấy, ngày 31/3/2022 (ngày 0), trâu chết không rõ nguyên nhân, sau đó được một nhóm người giết mổ và chuyển số thịt cho 3 thôn. Về mặt không gian, thôn 1 là địa điểm giết mổ, nằm cách thôn 2 và 3 trong vòng 2 km. Từ ngày 1 đến ngày 4 tháng 4 (ngày 1-4), xuất hiện những trường hợp đầu tiên có triệu chứng nghi ngờ bệnh than ở da và đến ngày 7 tháng 4 (ngày thứ 7) bắt đầu nhập viện. Điều tra dịch tễ ngày 13/4 (ngày 13) đã thu thập được mẫu da trâu và sừng trâu có giòi. Đất ở khu giết mổ được thu thập vào ngày 21/4 (ngày 21). Một trường hợp nghi ngờ khác phát sinh vào ngày 16 tháng 4 (ngày 16), được nhập viện và lấy mẫu vào ngày 19 tháng 4 (ngày 19).

Bảng 3.13. Phân bố trường hợp phơi nhiễm, lâm sàng, xét nghiệm theo thôn

Thôn	Số lượng phơi nhiễm	Trường hợp lâm sàng	Tỷ lệ lâm sàng	Nuôi cấy dương tính
1	131	8	6,1	4
2	3	1	33,3	1
3	3	1	33,3	0

Tại thôn 1, tỷ lệ lâm sàng là 6,1% với 8 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh than trên lâm sàng. Thôn 2 và 3 có tỷ lệ lâm sàng là 33,3% với mỗi thôn có ba trường hợp phơi nhiễm và một trường hợp lâm sàng được ghi nhận. 10 trường hợp lâm sàng, xét nghiệm PCR đều cho kết quả dương tính, tuy nhiên chỉ nuôi cấy được 5 chủng *B. anthracis*: 4 chủng ở thôn 1 và 1 chủng ở thôn 2. Không có chủng nào được phát hiện từ trường hợp bệnh lâm sàng ở thôn 3. Mẫu môi trường và động vật được lấy ở thôn 1.

3.3.2. Đặc điểm dịch tễ vụ dịch bệnh than tại Hà Giang 2019,2020



Biểu đồ 3.13. Diễn biến theo thời gian vụ dịch bệnh than tại Hà Giang năm 2019,2020

Trong tháng 8/2019 một vụ dịch than xảy ra tại một khu vực đất trũng là nơi chất thải của gia súc, tại đây một nhóm trẻ em của bản thường ra chơi và tiếp xúc trực tiếp với đất và chất thải gia súc, không khai thác được tiền sử tiếp xúc với gia súc. Ngày 2/8/2019 ghi nhận 4 trường hợp nghi ngờ bệnh than, đến này 29/8/2019 tiếp tục ghi nhận 7 trường hợp nghi ngờ. Ngày 2/9/2019 đã thu thập được 7 mẫu bệnh phẩm trên người và 5 mẫu đất. Kết quả nuôi cấy phân lập được 3 chủng vi khuẩn than trên người, mẫu môi trường nuôi cấy không cho kết quả.

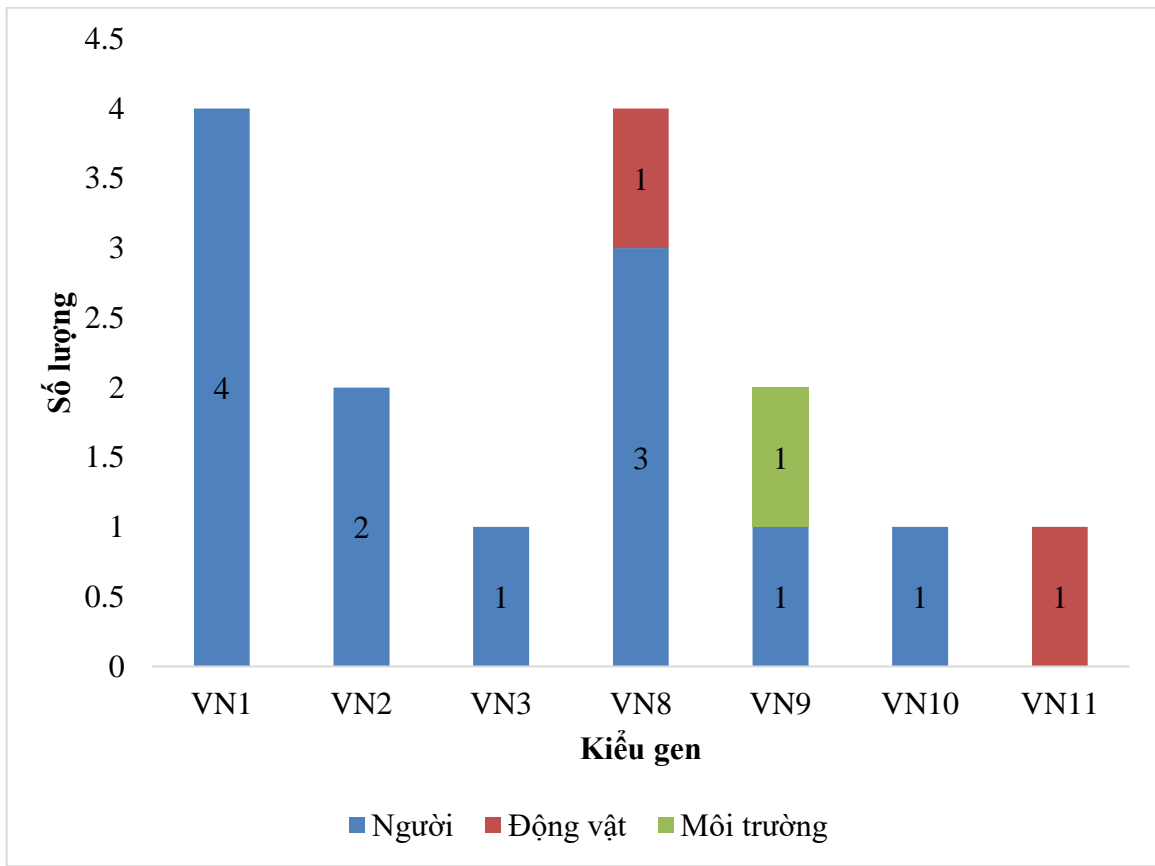
Đến tháng 7/2020 tiếp tục ghi nhận ổ dịch than có 4 trường hợp mắc có tiền sử tiếp xúc với thịt bò chết. Sau đó 4 mẫu bệnh phẩm được thu thập xét nghiệm cho kết quả nuôi cấy phân lập được 4 chủng vi khuẩn.

3.3.3. Các mô hình không gian và phát sinh loài, xác định nguồn lây nhiễm của *B. anthracis* trong vụ dịch bệnh than ở tỉnh Sơn La, Hà Giang năm 2019-2022

Bảng 3.14. Phân bố các chủng *B.anthraxis* phân lập được tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La theo nguồn mẫu bệnh phẩm (n=15)

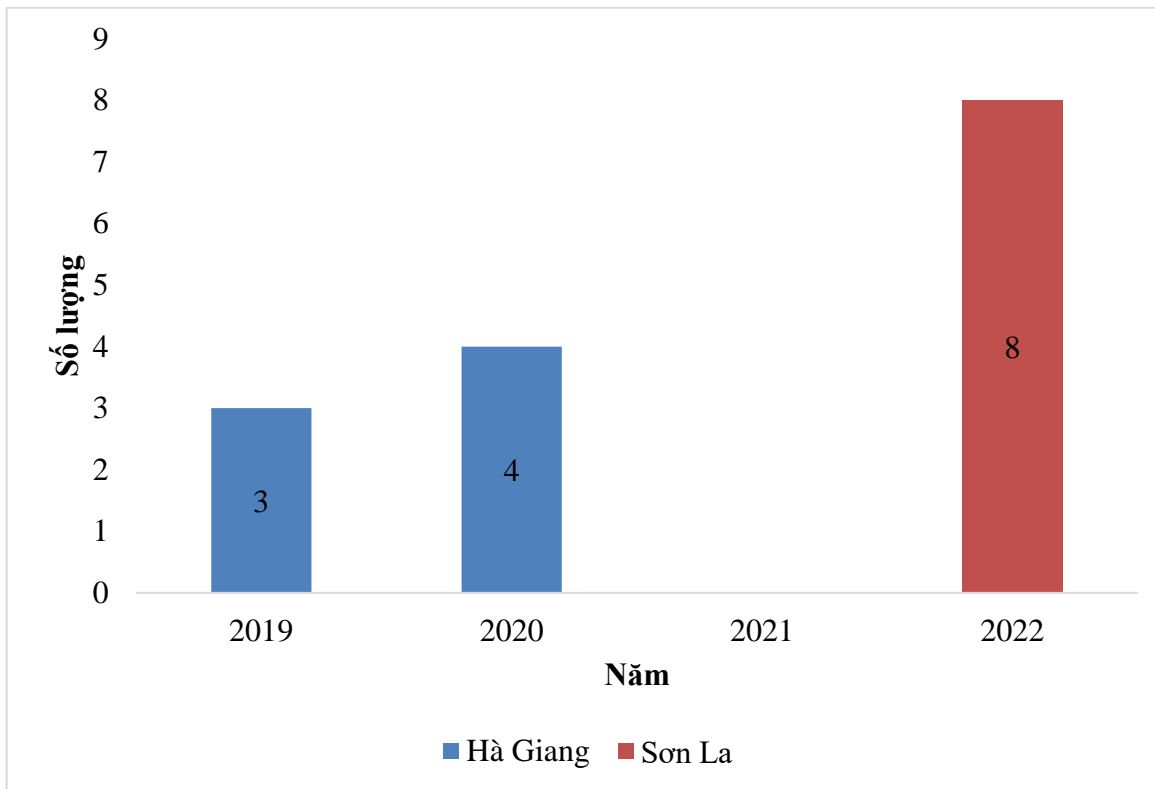
TT	Mã mẫu	Ngày thu thập mẫu	Loại mẫu
1	VN-HGA-2019-2	02/9/2019	Người
2	VN-HGA-2019-3	02/9/2019	Người
3	VN-HGA-2019-4	02/9/2019	Người
4	VN-HGA-2020-6	20/7/2020	Người
5	VN-HGA-2020-7	20/7/2020	Người
6	VN-HGA-2020-8	20/7/2020	Người
7	VN-HGA-2020-92	20/7/2020	Người
8	VN-SLA-2022-15	07/4/2022	Người
9	VN-SLA-2022-12	08/4/2022	Người
10	VN-SLA-2022-13	08/4/2022	Người
11	VN-SLA-2022-16	19/4/2022	Người
12	VN-SLA-2022-11	13/4/2022	Da trâu
13	VN-SLA-2022-17	13/4/2022	Giò từ sừng trâu
14	VN-SLA-2022-10	21/4/2022	Đất
15	VN-SLA-2022-14	08/4/2022	Người

Từ các mẫu bệnh phẩm thu thập được trên người, da trâu, giò từ sừng trâu, đất từ năm 2019-2022, đã phân lập được 15 chủng *B.anthraxis*. Trong đó 12 chủng được phân lập từ mẫu trên người, 2 chủng được phân lập trên mẫu động vật và 1 chủng phân lập từ mẫu môi trường.



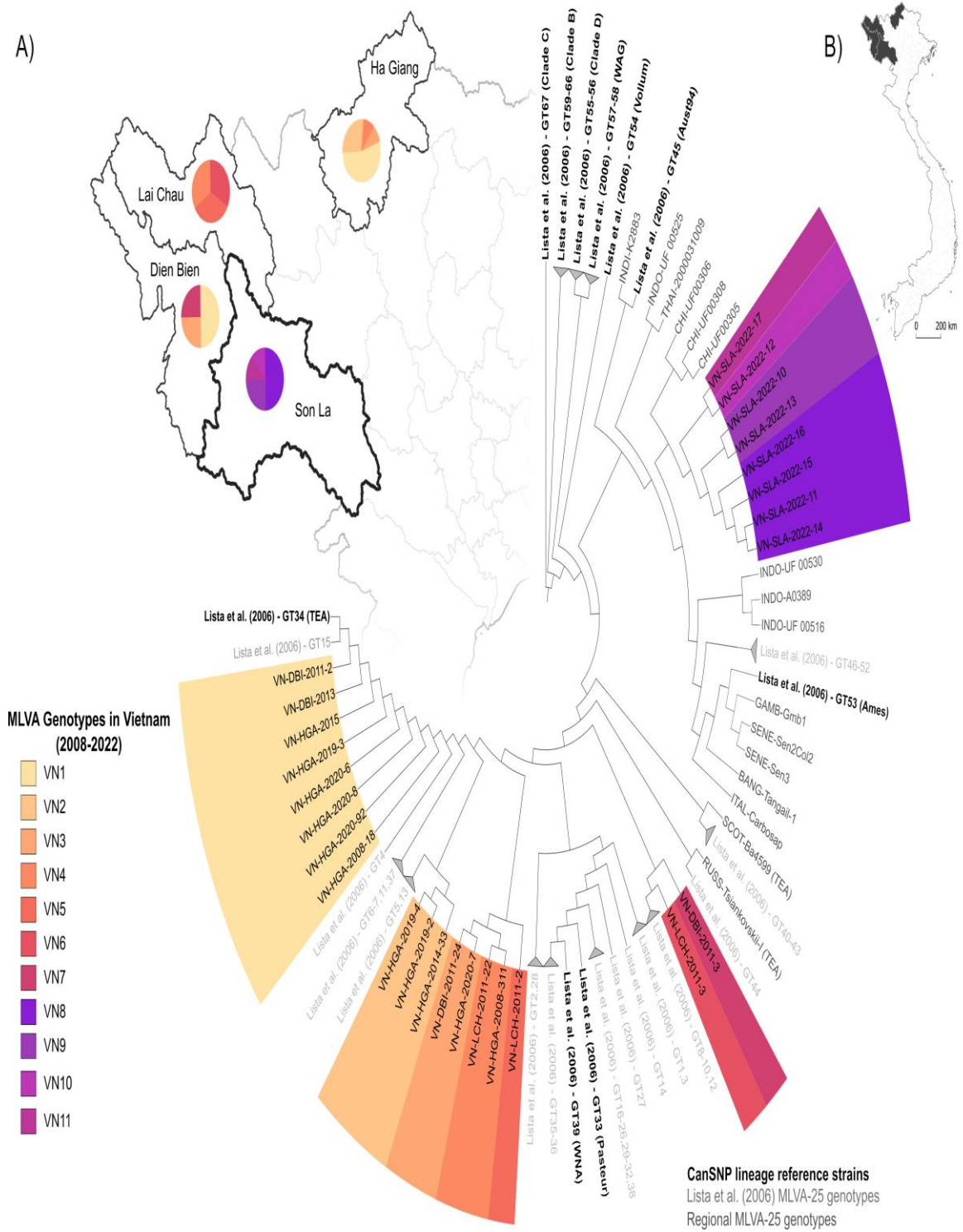
Biểu đồ 3.14. Phân bố kiểu gen tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La theo nguồn gốc mẫu phân lập (n=15)

Phần lớn các kiểu gen có nguồn gốc từ mẫu bệnh phẩm trên người. Các mẫu trên động vật cho các kiểu gen VN8, VN11. Mẫu bệnh phẩm môi trường có kiểu gen VN9. Tại Hà Giang ghi nhận các kiểu gen VN1, VN2, VN3. Trong vụ dịch bệnh than tại Sơn La năm 2022, kiểu gen VN8 có đồng thời trên người và động vật, 3 người có kiểu gen VN8 tham gia giết mổ trâu vào ngày 31/3/2022 và được lấy mẫu vào các ngày 7/4; 8/4; 19/4/2022, mẫu thịt trâu được lấy vào ngày 13/4/2022. Kiểu gen VN9 có đồng thời trên người và môi trường, người tham gia giết mổ trâu và được lấy mẫu vào ngày 8/4/2023, mẫu môi trường đất được thu thập vào ngày 21/4/2023.



Biểu đồ 3.15. Phân bố các chủng B.anthraxis tại các tỉnh Hà Giang, Sơn La phân lập được theo thời gian (n=15)

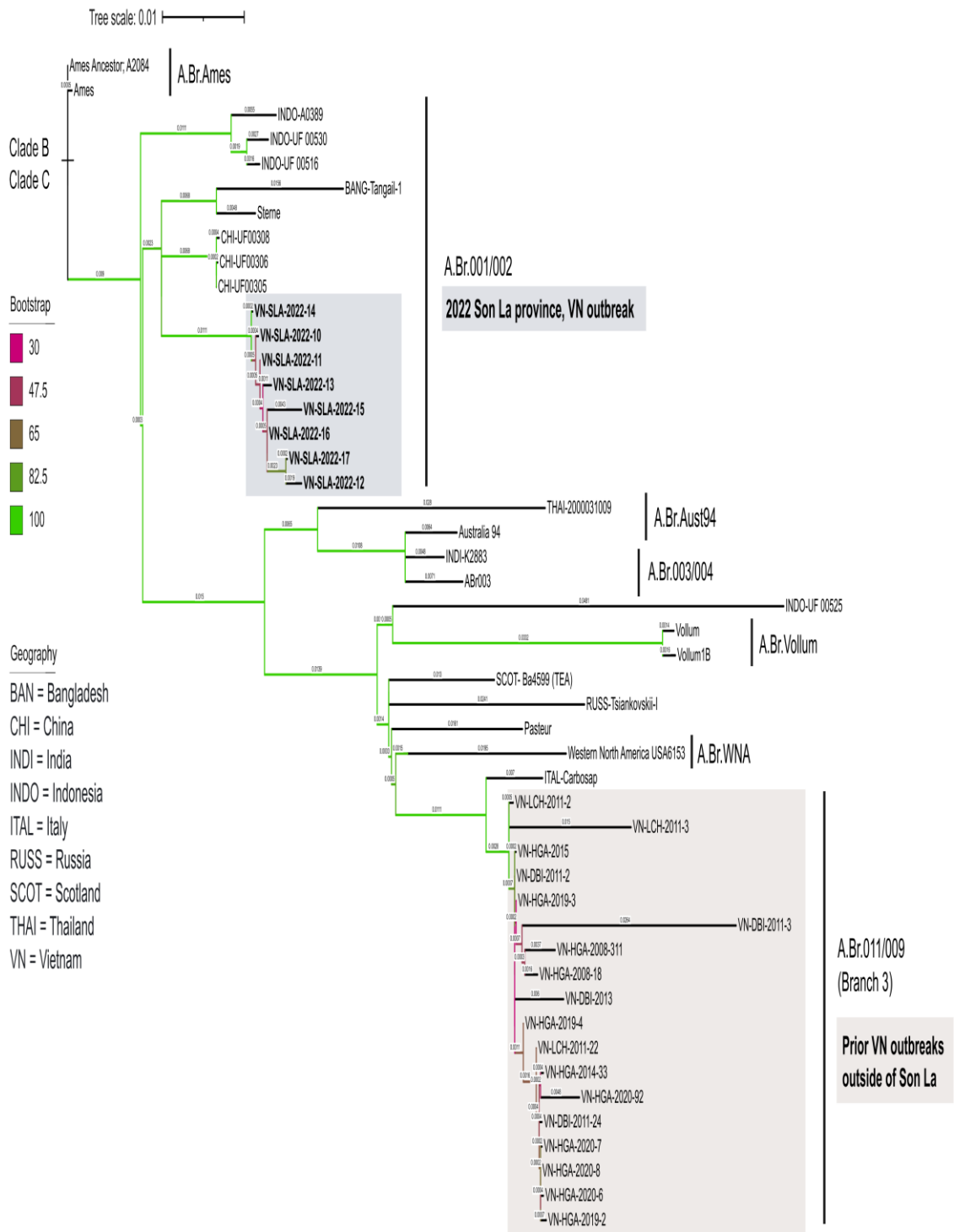
Biểu đồ phân bố các chủng *B.anthraxis* phân lập được tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2019-2022 cho thấy, tại tỉnh Hà Giang phân lập được 07 chủng vào các năm 2019, 2020. Tại tỉnh Sơn La phân lập được 08 chủng chỉ trong năm 2022.



Hình 3.3. Cây phát sinh loài các chủng *B.anthraxis* tại Sơn La, Hà Giang có so sánh với các khu vực khác dựa trên phân tích Multiple Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA-25)

A) Biểu đồ hình tròn biểu thị thành phần kiểu gen MLVA-25 ở hai tỉnh: Hà Giang, Sơn La và so sánh với các tỉnh Điện Biên, Lai Châu. Các tỉnh này chiếm một phần nhỏ của miền Bắc Việt Nam. Tỉnh Sơn La được biểu thị bằng màu tím, đường viền đậm. B) Các tham chiếu dòng CanSNP được in đậm. Các kiểu gen khu vực MLVA-25 bổ sung được in đậm màu xám. Cây này được tạo ra ở GrapeTree và iTOL bằng cách sử dụng kiểu gen MLVA-25 được mô tả trước đây và kiểu gen tham chiếu khu vực tại các khu vực khác được quy định như sau: BANG = Bangladesh, CHI = Trung Quốc, INDI = Ấn Độ, INDO = Indonesia, ITAL = Ý, RUSS = Nga, SCOT = Scotland, THAI = Thái Lan, VN = Việt Nam.

Mô tả cây kiểu gen gắn liền với phân tích kiểu gen MLVA-25 dựa trên 15 chủng *B.anthraxis* tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La (năm 2019-2022) và sử dụng các chủng bổ sung tại các tỉnh khác của Việt Nam từ 2008-2018 (11 chủng) cho thấy sự đa dạng di truyền địa phương của các chủng *B. anthracis*. Có 11 kiểu gen *B. anthracis* MLVA được tìm thấy ở Việt Nam, từ VN1 đến VN11. Trong số 11 kiểu gen này, có 4 kiểu gen chỉ được tìm thấy tại ổ dịch ở tỉnh Sơn La (SLA) năm 2022 gồm VN8, VN9, VN10, VN11 và chưa được ghi nhận ở tỉnh nào khác tại Việt Nam. Tại Hà Giang (HGA) giai đoạn 2019-2022 ghi nhận các kiểu gen VN1, VN2, VN3; các kiểu gen VN1, VN3 ghi nhận đồng thời tại Hà Giang, Điện Biên (DBI) và Lai Châu (LCH); kiểu gen VN4 ghi nhận tại Hà Giang và Lai Châu giai đoạn năm 2008, 2011; kiểu gen VN5, VN6, VN7 ghi nhận tại Điện Biên và Lai Châu. Trong số 8 chủng thu hồi được từ vụ dịch Sơn La năm 2022, có 4 chủng thuộc cùng một kiểu gen VN8. Điều này bao gồm ba mẫu lâm sàng ở người (VN-SLA-2022-14, VN-SLA-2022-15, VN-SLA-2022-16) và da trâu (VN-SLA-2022-11). Phân lập chủng VN-SLA-2022-16 là trường hợp khởi phát mụn ở người có triệu chứng hơn hai tuần sau khi giết mổ. Đát từ khu giết mổ (VN-SLA-2022-10) và một mẫu lâm sàng khác ở người (VN-SLA-2022-13) được xác định là VN9. Mẫu người cuối cùng (VN-SLA-2022-12) thuộc kiểu gen VN10. Những bệnh nhân này đã có mặt vào ngày mổ trâu. Những con giò sừng trâu (VN-SLA-2022-17) được xác định là VN11. Các mẫu liên quan đến trâu, da thu thập được, giò từ sừng và đát từ khu giết mổ đều có kiểu gen khác nhau, với sự khác biệt hai locus Bams03 và Bams13.



Hình 3.4. Cây phát sinh loài các chủng *B.anthraxis* tại Sơn La, Hà Giang và các khu vực khác dựa trên phân tích Whole genome Single Nucleotide Polymorphism (wgSNP)

Sơ đồ khả năng tối đa dựa trên phân tích wgSNP của các chủng *B. anthracis* từ đợt bùng phát ở Sơn La năm 2022 (đậm, xám), các đợt bùng phát ở Việt Nam (VN) trước đây, các tham chiếu khu vực và các chủng nhánh cuối. Cây có nguồn gốc từ chủng Tổ tiên Ames (Số gia nhập: GCF000008445.1) và chủ yếu mô tả nhánh A, với các nhánh chính khác (B, C) được tham chiếu ở bên trái. Các số trên dòng biểu thị khoảng cách di truyền. Màu nhánh đại diện cho các giá trị phân tích lặp lại, với giá trị tối thiểu được đặt ở 30 (đỏ tươi) và đặt tối đa ở 100 (xanh nhạt). Cây này được tạo bằng PhaME sử dụng RAxML với giá trị bootstrap (phân tích lặp lại) là 100 và được hiển thị trong iTOL và Inkscape (Boston, MA, USA) (Letunic và Bork, 2021; Stamatakis, 2014). Tên viết tắt của các quốc gia được quy ước: BANG = Bangladesh, CHI = Trung Quốc, INDI = Ấn Độ, INDO = Indonesia, ITAL = Ý, RUSS = Nga, SCOT = Scotland, THAI = Thái Lan, VN = Việt Nam.

Tám chủng *B. anthracis* thu thập được từ đợt bùng phát năm 2022 tại Sơn La thuộc phân nhánh A.Br.001/002 của nhánh A. Cây wgSNP cho thấy các chủng thu thập từ đợt bùng phát năm 2022 có liên quan chặt chẽ với các chủng được báo cáo ở Trung Quốc (UF00305, UF00306, UF00308) và Bangladesh (Tangail-1). Các chủng từ Indonesia (UF00516, UF00525, UF00530) giống với các chủng từ vụ dịch Sơn La hơn về mặt di truyền so với các chủng phân lập khác ở Việt Nam. Chúng tôi nhận thấy 12 các chủng bổ sung được thu thập từ Hà Giang và các tỉnh lân cận ở Việt Nam có gen giống với các chủng được xác định trước đó ở Ý, Nga, tây bắc Mỹ. Giống như báo cáo trước đó, tất cả các chủng này đều thuộc dòng phụ A.Br.011/009 của nhánh A.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022

Từ kết quả của nghiên cứu cho thấy tỷ lệ các trường hợp lâm sàng được chẩn đoán cao hơn xét nghiệm, kết quả này phản ánh thực trạng giám sát bệnh than tại Việt Nam trong những năm qua, bệnh than được đưa vào giám sát là bệnh truyền nhiễm nhóm B theo luật phòng chống bệnh truyền nhiễm năm 2007 trong đó giao trách nhiệm giám sát cho cấp tỉnh [147]. Đến năm 2017 Bộ Y tế đã ban hành hướng dẫn giám sát phòng chống bệnh than, giai đoạn đầu hoạt động giám sát lấy mẫu xét nghiệm chưa được thực hiện nhiều, những năm sau hoạt động lấy mẫu xét nghiệm được thực hiện tốt hơn. Bên cạnh đó các trường hợp mắc bệnh than chủ yếu xảy ra tại các khu vực khó khăn khoảng cách từ các vị trí có ổ dịch đến trung tâm huyện hoặc tỉnh còn xa, hoạt động lấy mẫu xét nghiệm thường được thực hiện chậm dẫn đến bệnh nhân đã khỏi bệnh không lấy được mẫu hoặc lấy mẫu nhưng xét nghiệm không cho được kết quả dương tính. Kết quả này cũng tương đồng với các ổ dịch than tại các khu vực khó khăn khác trên thế giới. Một vụ dịch nghi ngờ bệnh than tại huyện Kasese vào tháng 5 năm 2007 cho thấy tất cả các trường hợp nghi ngờ bệnh than đều không được lấy mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm, tuy nhiên nơi này đã từng có dịch than vào năm 2005 và những trường hợp nghi ngờ có đặc điểm dịch tễ tham gia việc giết mổ và ăn thịt dê chết không rõ nguyên nhân cùng với biểu hiện lâm sàng là các nốt phỏng rộp sau đó loét ra với sưng tấy vùng da xung quanh các vị trí khác nhau của cơ thể. Tại các khu vực khó khăn nhiều trường hợp không lấy mẫu xét nghiệm vào thời gian điều tra vì các trường hợp thường được điều trị trước đó và đã khỏi bệnh [25]. Năm

2010, tại Bangladesh đã có 273 trường hợp mắc bệnh than lây qua da với 39 trường hợp được khẳng định bằng các xét nghiệm và 234 ca nghi ngờ, đa số trường hợp bệnh có tổn thương ở chi trên (81%), tiếp theo là chi dưới (17%), mặt, ngực, lưng, cổ, bụng và da đầu với tỷ lệ dưới 5%; Các cuộc điều tra dịch tễ học trên 1.665 người theo sau ba đợt dịch bệnh than tại một số huyện của Bangladesh cho kết quả 4% người tham gia cuộc điều tra được xác định là trường hợp bệnh than nghi ngờ với các triệu chứng của lây qua da. Trong các cuộc khảo sát này, 25 trường hợp nghi ngờ bệnh than lây qua đường tiêu hoá đã được xác định, trong đó có 10 người đồng thời có triệu chứng của lây qua đường da [38].

Tại Hà Giang giai đoạn từ 2010-2022 cho thấy chu kỳ bệnh than khoảng 3-5 năm lại có một ổ dịch xảy ra tại những địa điểm đã từng có ổ dịch than trong quá khứ, tương tự như giai đoạn từ 1999-2020 tại địa phương này cũng xảy ra các ổ dịch khoảng 3-5 năm vào các năm 1999, 2004, 2007-2008 tuy nhiên tỷ lệ mắc giai đoạn sau thấp hơn so với giai đoạn trước kia. Theo nghiên cứu của tác giả Lương Minh Tân và cộng sự tại Hà Giang đã chỉ ra rằng sau thời gian gia súc được tiêm vắc xin, tỷ lệ mắc bệnh than giảm nhiều so với giai đoạn trước tuy nhiên vẫn xảy ra các ổ dịch khoảng 3-5 năm một lần, kết quả này cũng khẳng định được những dịch bệnh đã có vắc xin dự phòng sẽ giúp chu kỳ dịch kéo dài hơn [83].

Các trường hợp bệnh than xảy ra ở tất cả các tháng trong năm, trong đó tập trung nhiều vào các tháng từ tháng 7 đến tháng 9. Tại các tỉnh miền Bắc Việt Nam các tháng 7-9 là thời gian mùa mưa và sau mùa mưa có hiện tượng đất bị xói mòn đi lớp trên cùng, điều này có thể dẫn đến việc xuất hiện các nha bào của vi khuẩn *B. anthracis*, bên cạnh đó do ảnh hưởng của mưa làm cho các loài cây cỏ bị dính đất đã nhiễm vi khuẩn. Vào thời gian này trâu bò

và gia súc khác ăn các sản phẩm thức ăn bị nhiễm bẩn thông qua việc ăn trực tiếp, qua việc chăn thả hoặc do con người cắt cỏ mang về. Nghiên cứu này cùng kết quả với nghiên cứu của Trần Như Dương và cộng sự về đặc điểm bệnh than tại Việt Nam giai đoạn 1998-2011 khi các ổ dịch than xảy ra chủ yếu vào sau mùa mưa [8]. Kết quả này cũng tương tự nghiên cứu tại Trung Quốc từ 2005-2013 các trường hợp chủ yếu ghi nhận vào tháng 7-8 của năm, tỷ lệ mắc bệnh than ở người hàng tháng có tương quan thuận với nhiệt độ trung bình, độ ẩm tương đối và lượng mưa tích lũy hàng tháng với độ trễ từ 0-2 tháng [41]. Tương tự nghiên cứu tại Mông Cổ khi phân tích các trường hợp bệnh than trên động vật và người cho thấy, thời gian mắc dịch nhiều vào thời gian mùa hè từ tháng 5 đến tháng 8 hàng năm do ảnh hưởng bởi nhiệt độ không khí trung bình gây ra hiện tượng làm tan băng ở lớp băng vĩnh cửu [139]. Tại Zambia, từ năm 1999-2007 đã có 2.108 trường hợp mắc bệnh than trên người với tỷ lệ tử vong là 4,63%, đa số các trường hợp bệnh (84,9%) tập trung ở khu vực đất trũng, ngập lụt trong mùa mưa ở tỉnh phía Tây của quốc gia này [90]. Theo lý thuyết làm tan lớp băng vĩnh cửu có thể gây ra ổ dịch than vẫn cần phải thận trọng khi kết luận tuy nhiên như nghiên cứu tại Siberia về lịch sử các ổ dịch than cho thấy sự nóng lên của khí hậu ở Bắc Cực có thể làm tăng nguy cơ mắc bệnh từ động vật sang người do mở rộng môi trường sống của tác nhân, cải thiện cơ hội sống sót của vi khuẩn trong mùa đông và suy thoái lớp băng vĩnh cửu. Theo dõi nhiệt độ đất tại các trạm kiểm soát nhiệt độ lạnh ở Siberia từ năm 1970 cho thấy mối tương quan giữa nhiệt độ không khí và độ sâu của lớp băng vĩnh cửu tan băng trong mùa hè. Giữa những năm 1900 và 1980, nhiệt độ của lớp băng vĩnh cửu bề mặt tăng 2-4°C; và dự kiến sẽ tăng thêm 3°C. Các đợt bùng phát bệnh than thường xuyên đã gây ra cái chết của 1,5 triệu con nai ở miền Bắc nước Nga từ năm 1897 đến năm 1925. Bệnh than ở người hoặc gia súc đã được báo cáo tại 29.000 khu

định cư ở miền Bắc nước Nga, bao gồm hơn 200 khu định cư Yakutia, nằm gần khu chôn cất gia súc đã chết vì bệnh than. Các xu hướng tích cực có ý nghĩa thống kê về nhiệt độ trung bình hàng năm đã được thiết lập ở 8 trong số 17 quận hành chính của Yakutia có đủ dữ liệu khí tượng. Hiện tại, người ta không biết liệu lớp băng vĩnh cửu âm lên có khả thi dẫn đến việc giải phóng các sinh vật bệnh than hay không [107]. Như vậy hiện tượng ổ dịch than xảy ra vào thời điểm trong năm thường bị ảnh hưởng bởi hiện tượng mưa hoặc nhiệt độ cao làm trôi đi lớp đất hoặc lớp băng bề mặt, làm lộ ra nha bào than từ đó nhiễm sang cỏ hoặc thức ăn cho gia súc, gây bệnh cho gia súc và lây sang người.

Những vụ dịch than được báo cáo đều có liên quan đến việc tiếp xúc với gia súc bị nhiễm bệnh hoặc đất tại những khu vực đã có ổ dịch trước đó. Động vật khi nhiễm bệnh than có thể ở dạng cấp tính, bán cấp tính và mạn tính, trong trường hợp bệnh chuyển nặng ở động vật có thể chết trong vòng 48-72 giờ, vì thế bệnh than là một bệnh khá đặc thù lưu hành tại một số địa phương qua nhiều năm, việc lây bệnh qua các địa phương khác phụ thuộc vào việc di chuyển gia súc nhiễm bệnh ở dạng mạn tính hoặc buôn bán thịt động vật nhiễm bệnh đã chết. Ngày nay với sự dễ dàng đi lại, hoạt động buôn bán, trao đổi động vật hoang dã và gia súc của con người được cho là nguyên nhân chính cho sự lan truyền của bệnh than trên toàn thế giới [131]. Đây là lý do bệnh than thường tập trung tại một số địa phương nhất định qua nhiều năm do có tác nhân đã có sẵn trước đó trong môi trường, việc hạn chế buôn bán gia súc từ địa bàn bị bệnh ra các địa phương khác sẽ giúp làm giảm sự lan truyền của bệnh [15, 18, 137].

Nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mắc bệnh tại nam giới (75,8%) cao gấp 3,1 lần so với nữ, kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu tại Việt Nam giai đoạn trước

và các nghiên cứu tại Zambia và tại Trung Quốc giai đoạn 2017-2019 [140, 141]. Tại nước ta việc chăn thả, giết mổ gia súc chủ yếu do nam giới phụ trách, điển hình là vụ dịch than tại Sơn La có đến 95% nam giới tham gia vào việc giết mổ, phụ nữ chỉ tham gia công việc nấu nướng và không phải tiếp xúc trực tiếp với thịt gia súc chết ở giai đoạn giết mổ. Một nghiên cứu về ổ dịch bệnh than tại Zimbabwe cho thấy yếu tố nguy cơ của việc trực tiếp tiếp xúc và hỗ trợ quá trình giết thịt động vật có nguy cơ mắc bệnh cao gấp 5,4 lần những người không có tiếp xúc [53], điều đó đã giải thích được sự chênh lệch tỷ lệ mắc bệnh theo giới tính.

Về nhóm tuổi bệnh than có tỷ lệ mắc cao hơn ở các nhóm dưới 5 tuổi (13,1%), 26-30 tuổi (19,2%) và 31-35 tuổi (12,1%), kết quả này khá tương đồng với những nghiên cứu khác về nhóm tuổi mắc như nghiên cứu tại Trung Quốc về các ổ dịch bệnh than giai đoạn từ 2017-2019 cho thấy lứa tuổi mắc nhiều từ 20-59 tuổi [140], tương tự như nghiên cứu tại Trung Quốc giai đoạn từ 2005-2013 cho thấy tập trung cao nhất các trường hợp mắc bệnh từ 30-49 tuổi [41]. Tuy nhiên sự khác biệt trong nghiên cứu này là nhóm dưới 5 tuổi chiếm tỷ lệ khá cao, giải thích cho vấn đề này là một vụ dịch tại Hà Giang do những trẻ dưới 5 tuổi tiếp xúc với đất tại khu vực đất trũng bị nhiễm chất thải của gia súc, tuy nhiên chưa khai thác được đầy đủ tiền sử tiếp xúc với gia súc của những trường hợp này. Đây có thể là một phát hiện của nghiên cứu này khi so sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới cho thấy lứa tuổi mắc bệnh chiếm tỷ lệ cao ở nhóm tuổi trưởng thành.

Phần lớn các trường hợp (64,6%) có tiền sử tiếp xúc với động vật, trong đó chiếm tỷ lệ cao là tiếp xúc với trâu và bò, kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu tại Thổ Nhĩ Kỳ năm 2009 về một ổ dịch có 58 trường hợp bệnh và chiếm 62% có tiền sử tiếp xúc với vi khuẩn trong quá trình giết mổ động vật

[24]. Bệnh than là một bệnh lây truyền từ động vật sang người đã được biết từ lâu nên tiền sử tiếp xúc với gia súc trước khi bị bệnh là một yếu tố nguy cơ gây bệnh đã được giải thích tại nhiều nghiên cứu [53]. Tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi vẫn còn một tỷ lệ chiếm đến 24,2% các trường hợp chưa khai thác được tiền sử tiếp xúc, điều này có thể lý giải được liên quan đến hạn chế của nghiên cứu. Các trường hợp bị bệnh than là đồng bào dân tộc nên việc khai thác tiền sử tiếp xúc gặp nhiều khó khăn về khác biệt ngôn ngữ hoặc người dân không muốn trả lời. Bên cạnh có các trường hợp bệnh điều tra hồi cứu nên khó khăn trong việc nhớ lại các tiền sử tiếp xúc.

Từ năm 2019 khi thực hiện nghiên cứu về bệnh than tại 6 tỉnh miền núi phía bắc Việt Nam, công tác giám sát bệnh than được thực hiện tốt hơn, điều đó dẫn đến việc thực hiện lấy mẫu và làm xét nghiệm được thực hiện nhiều hơn, hầu hết các trường hợp nghi ngờ lâm sàng đều được lấy mẫu gửi về Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương làm xét nghiệm, vì thế phần lớn các trường hợp bệnh than giai đoạn từ 2019 trở lại đây đều được chẩn đoán bằng xét nghiệm.

Phân loại trường hợp bệnh theo thể bệnh và kết quả điều trị cho thấy tỷ lệ mắc thể da chiếm gần tuyệt đối số ca mắc, kết quả này cũng tương đồng với ghi nhận tại các nghiên cứu khác với bệnh than lây truyền qua da chiếm đến trên 95% tổng số trường hợp mắc bệnh than trên người [5, 131, 132]. Vết đen trên da tại vết thương phơi nhiễm với tác nhân gây bệnh là dấu hiệu điển hình của bệnh than, thường đi kèm với sưng nề lan tỏa khá xa từ vết thương. Tuy chiếm tỷ lệ mắc nhỏ nhưng tỷ lệ tử vong do thể phổi hoặc thể tiêu hoá là rất cao (cả hai trường hợp mắc đều tử vong), kết quả của nghiên cứu này có thể cao hơn các nghiên cứu khác, tuy nhiên tỷ lệ tử vong do thể bệnh hô hấp hoặc tiêu hoá đã được ghi nhận là tử vong rất cao.

Trong lịch sử gần đây, bệnh than đã được sử dụng như một tác nhân của chiến tranh sinh học ở cả Hoa Kỳ và nước ngoài, một báo cáo vào năm 1979 về một vụ vô tình phát tán nha bào bệnh than từ một cơ sở vũ khí sinh học của Liên Xô ở Sverdlovsk, Nga đã lây nhiễm cho 77 người với chẩn đoán xác định mắc bệnh than, trong số những người bị nhiễm bệnh có đến 66 (85,7%) người đã chết trong vòng 1 đến 4 ngày sau khi xuất hiện các triệu chứng bệnh than thể hô hấp; vào tháng 9 năm 2001, một nhân viên chính phủ của Viện Nghiên cứu Bệnh Truyền nhiễm của Quân đội Hoa Kỳ đã cố tình phát tán các nha bào bệnh than thông qua Dịch vụ Bưu chính Hoa Kỳ dẫn đến 11 người đã tiếp xúc với thư bị nhiễm bệnh sau đó được chẩn đoán mắc bệnh than qua đường hô hấp và 5 người (45,5%) đã chết vì bệnh than thể hô hấp, sau đó có thêm 11 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh than qua da tuy nhiên tất cả đều sống sót [39].

Phân tích ổ dịch than tại huyện Thuận Châu tỉnh Sơn La là một ổ dịch điển hình có nguyên nhân do tiếp xúc với thịt trâu chết. Từ trường hợp đầu tiên nhiễm bệnh, chỉ ba ngày sau một loạt trường hợp tiếp theo cũng bị nhiễm do cùng tiếp xúc với một nguồn lây là trâu chết, điều này cũng phù hợp về thời gian ủ bệnh khi phơi nhiễm với nguồn lây bệnh than từ 2 đến 3 ngày sau phơi nhiễm sẽ khởi phát bệnh. Kết quả này cũng phù hợp với các ổ dịch than khác trên thế giới và nghiên cứu về thời gian ủ bệnh trên người khi nhiễm bệnh than [15] giai đoạn ủ bệnh có thể kéo dài từ vài giờ cho tới 3 tuần, trung bình là 2-6 ngày [38, 126]. Về thời gian phát hiện ổ dịch chỉ 3 ngày sau khi trường hợp bệnh đầu tiên có phơi nhiễm và vào cùng ngày với ngày nhập viện của trường hợp bệnh đầu tiên, kết quả này khá sớm so với ổ dịch tại Zimbabwe năm 2022 phải đến 11 ngày mới phát hiện ra ổ dịch [54]. Kết quả này có thể giải thích do Sơn La là một địa phương đang được thực hiện các biện pháp phòng chống dịch than trên người rất tích cực tới tận các tuyến cơ

sở và đây cũng là một trong sáu tỉnh tham gia vào nghiên cứu về phòng chống bệnh than tại Việt Nam. Lứa tuổi mắc bệnh tại vụ dịch là những trường hợp người trưởng thành, đủ sức khỏe tham gia vào việc giết mổ động vật và tiếp xúc trực tiếp với động vật chết trong quá trình giết mổ, chiếm tới 90% các trường hợp là nam giới, kết quả này cũng phù hợp với công việc giết mổ trực tiếp gia súc với sự tham gia chủ yếu của nam giới, nữ giới chỉ tham gia vào công việc nấu chín thức ăn sau khi đã được chế biến [140]. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu về ổ dịch bệnh than tại Ấn Độ năm 2005 khi những trường hợp tham gia hỗ trợ việc cắt thịt bị ô nhiễm hoặc tham gia việc xử lý xác động vật có nguy cơ mắc bệnh than cao gấp nhiều lần so với trường hợp không phơi nhiễm với (OR = 14,5, 95% CI 1,4 - 85,7) [93].

Về triệu chứng lâm sàng các trường hợp than trong ổ dịch tại Sơn La cho thấy gần như toàn bộ vị trí tổn thương là ở tay nơi tiếp xúc trực tiếp với thực phẩm, phát hiện trong nghiên cứu này rất phù hợp với nghiên cứu về một ổ dịch than tại Zimbabwe khi toàn bộ các trường hợp bệnh có vị trí tổn thương trên các ngón tay nơi tham gia vào việc xử lý thịt bị nhiễm bệnh và có nguy cơ đứt tay hoặc vết thương hở làm tăng khả năng nhiễm trùng ở bộ phận đó của cơ thể [53]. Trong vụ dịch than tại Sơn La có một trường hợp tích trữ thịt nhiễm khuẩn trong tủ lạnh và một tuần sau mới đưa ra chế biến và bị nhiễm bệnh. Về đặc điểm sinh học của vi khuẩn than có kháng nguyên bảo vệ PA, đây là một phân tử có khả năng chịu được nhiệt độ cao và chỉ bị bất hoạt khi tiếp xúc với nhiệt độ cao hơn, vì thế khi được bảo quản ở nhiệt độ trong tủ lạnh là môi trường thuận lợi và không thể bất hoạt được vi khuẩn *B.anthraxis* [118]. Điều này cũng giải thích được một số ổ dịch than tại khu vực lạnh có băng quanh năm, những ổ dịch than thường xảy ra sau khi có hiện tượng tan lớp băng trên cùng như tại Mông Cổ và Trung Quốc [139]. Kết quả chẩn đoán ổ dịch tại huyện Thuận Châu tỉnh Sơn La đã được kết luận đầy đủ đây là một

ổ dịch than trên người, động vật khi xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm trên người và động vật đều cho kết quả dương tính với vi khuẩn *B.anthraxis*.

Trái ngược với ổ dịch tại Sơn La, ổ dịch than trên người tại Hà Giang là điển hình cho một vụ dịch bệnh than trên và chưa tìm được yếu tố tiếp xúc trên gia súc, hiện tại mới điều tra được tiền sử tiếp xúc với đất ngoài môi trường. Đặc điểm tại nơi xảy ra ổ dịch là một vùng đất trũng nơi có chất thải của gia súc thải xuống khi có hiện tượng mưa tạo điều kiện cho các tác nhân gây bệnh di chuyển từ chất thải của chuồng nuôi gia súc xuống những vùng đất thấp hơn. Kết quả vụ dịch tại Hà Giang tương tự như một vụ dịch tại Bangladesh được thống kê từ 2010-2014 cho thấy các ổ dịch bệnh than xảy ra tại những vùng đất trũng và thường xảy ra sau khi có mưa lớn khoảng 2 tuần, trong nghiên cứu này tác giả cho thấy mưa lớn được mô tả là lượng mưa lớn trong một khoảng thời gian ngắn và hầu hết các trường hợp tham gia nghiên cứu xảy ra vào mùa mưa (tháng 7-10). Sự thay đổi lượng mưa lớn trong khoảng thời gian ngắn tại một khu vực của một địa bàn mặc dù không phải là hiện tượng được quan sát thường xuyên, nhưng có thể được nhìn thấy trong mùa gió mùa ở Bangladesh. Lượng mưa lớn rửa sạch lớp đất mặt để lộ các nha bào trực khuẩn than bên dưới có thể tích tụ ở một số điểm nhất định trên mặt đất thông qua nước chảy tràn và gây nhiễm bệnh cho vùng đất trũng phía dưới sau đó con người tiếp xúc với tác nhân lây nhiễm tại những vùng đất trũng [110]. Tại Zambia bệnh than cũng được xác định là bệnh lưu hành tại các khu vực đất trũng hay bị ngập lụt và lượng mưa có mối tương quan chặt chẽ với việc xuất hiện dịch bệnh than trên người, cụ thể là tỷ lệ nhiễm bệnh than vào mùa khô cao hơn mùa mưa [64, 90]. Giải thích cho mối liên hệ này, vào mùa khô người dân Zambia tập trung sinh sống ở khu vực đất trũng nhiều hơn (nơi có thể đã có động vật chết vì bệnh than trước đó), mật độ dân cư tăng lên, đồng thời gia súc cũng được nuôi tập trung ở khu vực này làm tăng

sự phơi nhiễm của gia súc và con người với nha bào than tởn tại trong đất ở vùng trũng. Ngược lại, vào mùa mưa người dân và gia súc di cư sang khu vực cao hơn và cũng phơi nhiễm với vi khuẩn ít hơn [90]. Đối với căn nguyên gây ra ổ dịch than tại Hà Giang do chưa khai thác được hết tiền sử tiếp xúc với gia súc, tuy nhiên thông tin điều tra được là tiếp xúc với đất ngoài môi trường, và nguồn lây là nơi đất trũng nơi trẻ em thường xuyên vui chơi hàng ngày, điều này cũng giải thích được lý do ổ dịch tại Hà Giang xảy ra trên đối tượng chủ yếu là trẻ em.

Số lượng gia súc trung bình tại hai tỉnh Sơn La và Hà Giang đều hơn 300.000 con mỗi năm, hàng năm vẫn có những trường hợp gia súc chết tại hai địa phương trên, tuy nhiên nhìn vào số liệu trường hợp bệnh than trên gia súc là rất thấp đặc biệt tại tỉnh Sơn La trong vòng 13 năm chỉ ghi nhận một trường hợp trâu nhiễm bệnh than vào năm 2022. Số trường hợp bệnh than được báo cáo ở người cao hơn đáng kể so với số trường hợp được báo cáo ở gia súc, điều này đặt ra hai vấn đề. Thứ nhất, tập quán chia sẻ thịt có thể phổ biến trong khu vực nghiên cứu, nơi một con vật bị bệnh có thể được xử lý và chia sẻ bởi nhiều người trong khu vực thôn bản, dẫn đến nhiều trường hợp mắc bệnh ở người từ một con vật bị nhiễm bệnh và điều này đã được chứng minh qua vụ dịch bệnh than tại Sơn La năm 2022 khi một con trâu bị bệnh than đã lây cho 10 người trong các thôn bản khác nhau [56]. Thứ hai, bệnh than trên gia súc có thể không được báo cáo đầy đủ ở tỉnh Hà Giang và Sơn La do thiếu nhận thức về bệnh than, đôi khi có trường hợp gia súc chết vì bệnh than nhưng người dân không báo chính quyền và thú y vì lo ngại sẽ phải tiêu huỷ gia súc đó, vì gia súc là một tài sản lớn đối với người dân và đây có thể là rào cản đối với việc giám sát bệnh than trên động vật [148]. Hai vấn đề này đặc biệt liên quan đến các gia súc như trâu, bò ở Việt Nam, nơi mà các loài động vật này là tài sản quan trọng, có giá trị của hộ gia đình, rất quan trọng trong

các hoạt động canh tác trồng trọt và có thể bị mất nếu bệnh than được báo cáo [56]. Nghiên cứu về gia súc chăn nuôi ở đây là trâu, bò, dê vì chúng chiếm đại đa số đàn vật nuôi trong hai tỉnh. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chia động vật thành hai nhóm (trâu/bò và dê), vì dê chiếm một tỷ lệ lớn trong tổng đàn và không được đưa vào chương trình tiêm phòng bệnh than trong tỉnh. Hoạt động tiêm vắc xin phòng bệnh than trên trâu bò được thực hiện từ trước những năm 2010, tuy nhiên theo số liệu điều tra từ chi cục thú y tỉnh và phỏng vấn người dân tại địa phương, hoạt động tiêm phòng chống bệnh than cho gia súc chỉ được thực hiện để dự phòng khi có trường hợp bệnh than đã xảy ra tại địa phương, điều này dẫn đến việc bao phủ vắc xin phòng bệnh than trên trâu bò là không cao. Vì thế trong giai đoạn từ 2010-2022 số lượng trâu bò bị nhiễm bệnh than cao hơn số lượng dê bị nhiễm bệnh than tại tỉnh Hà Giang.

Hoạt động lấy mẫu đất tại địa bàn nghiên cứu được thực hiện từ những năm 2016, địa điểm lấy mẫu tại các hộ gia đình từng có bệnh than trong quá khứ (tại công, chỗ nước thải, chuồng nuôi gia súc), tại các lò mổ gia súc, chợ buôn bán thực phẩm nhằm mục đích tìm ra được vi khuẩn *B.anthraxis* tại môi trường. Những năm trước khi hoạt động xét nghiệm các mẫu động vật và môi trường chưa được thực hiện nhiều, số liệu về tác nhân tại Việt Nam còn nhiều hạn chế, thời gian gần đây công tác xét nghiệm đã được thực hiện được đầy đủ hơn các mẫu động vật và môi trường. Trước năm 2020, việc nuôi cấy mẫu đất xác định vi khuẩn *B. cereus* chưa được thực hiện do thiếu phương tiện chẩn đoán, các mẫu bệnh phẩm được lưu giữ và thực hiện phân tích sau đó bằng máy MALDI TOF xác định được vi khuẩn *Bacillus spp.* trong đó chủ yếu là *B. cereus*. Phương pháp xét nghiệm PCR là bước tiếp theo để phát hiện sự có mặt của các gen *cap*, *pag* hoặc cả *cap/pag*. Kết quả cho thấy các mẫu đất thu thập tại Hà Giang, Sơn La ở các khu vực có ổ dịch có tồn tại vi khuẩn *B. cereus* mang gen độc lực của vi khuẩn *B. anthracis*. Điều này cũng đã được

tìm thấy ở nghiên cứu tại Châu Phi cận Sahara khi được báo cáo về trình tự bộ gen hoàn chỉnh của một dòng *Bacillus cereus* phân lập được xác định trong một mẫu đất từ Namibia và kết quả phân lập này có liên quan chặt chẽ với dòng *B. anthracis* [62]. Chủng *B. cereus* mang gen độc lực của vi khuẩn *B. anthracis* đã được CDC Hoa Kỳ đưa vào danh mục nhóm các vi khuẩn nguy hiểm và có tên là *B. cereus biovar anthracis* [149]. Từ kết quả trên cho thấy tại môi trường đất tại các tỉnh Hà Giang, Sơn La đang chứa tác nhân gây bệnh than có thể gây bệnh cho động vật và người, điều này cũng giải thích được ổ dịch than các năm trước tại tỉnh Hà Giang xảy ra trên nhóm trẻ tiếp xúc với đất nơi phơi nhiễm với chất thải của gia súc. Một nghiên cứu về phân bố phạm vi địa lý của vi khuẩn *B. anthracis* dựa trên việc tổng hợp một bộ dữ liệu toàn cầu về các đợt bùng phát bệnh than ở người, gia súc và động vật hoang dã đã ước tính rằng 1,83 tỷ người (khoảng tin cậy 95% (CI): 0,59-4,16 tỷ) sống trong các khu vực có nguy cơ mắc bệnh than, nhưng phần lớn dân số đó ít phải đối mặt với phơi nhiễm nghề nghiệp. Thông tin đầy đủ hơn, tổng cộng có 63,8 triệu người nghèo trên toàn cầu (95% CI: 17,5-168,6 triệu) và 1,1 tỷ gia súc (95% CI: 0,4-2,3 tỷ) sống trong các khu vực dễ bị tổn thương [36]. Chính vì thế công tác truyền thông về phòng chống bệnh than không chỉ tuyên truyền về việc không tiếp xúc trực tiếp với thực phẩm, xác động vật chết mà còn phải nhấn mạnh đến các biện pháp xử lý phân gia súc tốt và tránh tiếp xúc với đất tại những nơi cạnh chuồng nuôi gia súc.

4.2. Một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022

Nghiên cứu bệnh chứng được thực hiện nhằm xác định một số yếu tố nguy cơ của bệnh than trên người tại hai tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2019-2022. Trong nghiên cứu này, chúng tôi không đưa các biến số nhân

khẩu học vào phân tích như: dân tộc, nghề nghiệp, vì tính đặc thù của địa bàn nghiên cứu là khu vực miền núi và trong quá trình thu thập số liệu cho thấy có thành phần 100% là người dân tộc và 100% đối tượng nghiên cứu làm nghề nông nghiệp. Kết quả nghiên cứu cho thấy số lượng mắc bệnh ở nam giới cao hơn so với nữ. Ở Việt Nam, việc chăn thả và giết mổ gia súc chủ yếu do nam giới phụ trách, điều đó đã giải thích được lý do có sự chênh lệch số lượng mắc bệnh theo giới tính. Một giải thích về tiếp xúc với gia súc trong quá trình giết mổ và ăn thịt được thể hiện trong nghiên cứu cho thấy nguy cơ nhiễm bệnh đối với người ăn thịt động vật nhiễm bệnh đã qua chế biến là thấp. Nghiên cứu tại Ấn Độ năm 2007 cho thấy không có mối liên quan giữa việc ăn thịt bò với nguy cơ mắc bệnh than, có thể là do việc chế biến (luộc) đã giúp loại bỏ tác nhân trước khi ăn [106]. Mặc dù nghiên cứu tại Kazakhstan (2004) và Zimbabwe (2010) chỉ ra mối liên quan giữa việc ăn thịt động vật đã chế biến với nguy cơ mắc bệnh than, nhưng các đối tượng trong hai nghiên cứu này bị mắc bệnh lây qua da mà không phải đường tiêu hoá, nên mối liên quan trên có thể do sự trùng hợp khi người tham gia giết mổ, xẻ thịt và sơ chế thịt (nguy cơ cao nhiễm bệnh thể da trên tay) đồng thời là những người báo cáo có ăn thịt gia súc trong nghiên cứu này [53, 132]. Như vậy, ăn thịt động vật nhiễm bệnh có thể là một yếu tố gây nhiễu/tương tác trong quá trình phân tích, đặc biệt khi các trường hợp bệnh chủ yếu mắc bệnh than lây qua da. Kết quả cũng phù hợp với nghiên cứu tại Việt Nam giai đoạn trước và tại một số quốc gia khác như Zambia và Trung Quốc giai đoạn 2017-2019 [140, 155].

Nhóm dưới 20 tuổi có số lượng mắc bệnh thấp hơn nhóm trên 20 tuổi, nghiên cứu này cũng phù hợp với số liệu những năm trước tại địa phương [8] và nghiên cứu tại Kazakhstan và Paraguay cho thấy lứa tuổi mắc bệnh chủ yếu từ 19-67 [21]. Tuy nhiên một nghiên cứu bệnh chứng đã được thực hiện để xác định tầm quan trọng của các yếu tố nhân khẩu học, sinh học và / hoặc

hành vi liên quan đến sự bùng phát bệnh than trên da ở người ở các khu vực điểm nóng ở Bắc Tanzania cho thấy độ tuổi của những người tham gia là 1-80 tuổi với độ tuổi trung bình là 32 tuổi. Ở nhóm trẻ hơn (1-20 tuổi), tỷ lệ mắc bệnh ở nhóm phơi nhiễm cao hơn 25 lần so với nhóm không phơi nhiễm (OR = 25, 95% CI = 1,5-410). Ngược lại, tỷ lệ mắc bệnh ở nhóm lớn tuổi (≥ 20 tuổi) ở nhóm phơi nhiễm thấp hơn 3 lần so với nhóm không phơi nhiễm (OR = 3,2, 95% CI = 1,28-8,00). Đặc điểm nhân khẩu học, ngủ trên da động vật, tiếp xúc với xác động vật bị nhiễm bệnh qua việc lột da và mổ thịt, và không được truyền thông về bệnh có liên quan đến việc tiếp xúc với bệnh than. Do đó, cách tiếp cận Một sức khỏe là mô hình hiệu quả để ngăn ngừa và kiểm soát sự bùng phát bệnh than ở các khu vực điểm nóng của Bắc Tanzania [91].

Nghiên cứu chỉ ra rằng những trường hợp thuộc địa phương có trường hợp bệnh than trên người hoặc có gia súc chết do bệnh than có nguy cơ mắc bệnh cao hơn trường hợp sống tại địa phương khác, kết quả này cũng giống với nghiên cứu tại Kuwirirana ward, Gokwe North, Zimbabwe (OR = 6,5; 95%CI: 1,3-32) [53]. Những địa phương có bệnh than hoặc gia súc chết do bệnh than, vi khuẩn than (*Bacillus anthracis*) có thể hình thành một loại tế bào chuyên biệt được gọi là nha bào tồn tại lâu dài trong đất, đây là hạt lây nhiễm bệnh than. Nha bào phần lớn không hoạt động về mặt trao đổi chất và có thể chống lại nhiều loại áp lực được tìm thấy trong tự nhiên. Mặc dù ở trạng thái ngủ đông, nha bào có thể cảm nhận được sự hiện diện của chất dinh dưỡng và nhanh chóng quay trở lại quá trình sinh trưởng sinh dưỡng và gây bệnh cho vật chủ mới [46]. Tương tự như một nghiên cứu tại Trung Quốc trong 10 năm từ 2005-2013 cho thấy các trường hợp mắc bệnh than ở người được phân bố ở 299 quận của 19 tỉnh với tỷ lệ mắc bệnh trung bình hàng năm là 0,39 trên 100.000 người mỗi năm (khoảng: 0,01-51,98). Chiếm tỷ lệ cao nhất với 82% của tất cả các trường hợp nằm ở sáu tỉnh/khu tự trị phía tây và

đông bắc Trung Quốc, bao gồm Tứ Xuyên, Tân Cương, Quý Châu, Cam Túc, Thanh Hải và Nội Mông và đây là những tỉnh thường xuyên có ổ dịch bệnh than qua các năm cũng như đã từng có ổ dịch bệnh than trên người và gia súc trong quá khứ [41]. Khi nghiên cứu về đặc tính lưu hành của vi khuẩn than cho thấy, bệnh than được coi là bệnh lưu hành ở Bangladesh, nơi các trường hợp mắc bệnh ở động vật và người được báo cáo gần như hàng năm kể từ năm 2009. Các sản phẩm phụ (da làm ví, giày...) bị ô nhiễm từ động vật bị nghi ngờ có vai trò truyền bệnh sang người, nhưng thông tin thu thập được biết về chuỗi cung ứng của các sản phẩm có khả năng bị ô nhiễm này là rất ít. Trong khoảng thời gian từ tháng 4 năm 2013 đến tháng 5 năm 2016, nghiên cứu định tính đã tiến hành tại 17 ngôi làng nằm ở 5 quận của Bangladesh, nơi đã từng xảy ra các đợt bùng phát nghi ngờ bệnh than. Nghiên cứu khám phá cách thức các sản phẩm phụ từ các trường hợp nghi nhiễm động vật được con người thu thập, loại bỏ, xử lý, phân phối và sử dụng. Các tác giả đã tiến hành các cuộc phỏng vấn mở, thảo luận nhóm và quan sát phi cấu trúc về việc con người tiếp xúc với các sản phẩm phụ từ động vật. Việc giết mổ gia súc nhai lại bị bệnh nặng trước khi chúng chết là phổ biến. Những người được hỏi báo cáo rằng động vật sắp chết thường bị giết thịt, và các chất thải được vứt bỏ ở sông, ruộng, bụi tre gần đó hoặc trên đất thuộc sở hữu tư nhân. Bất kể tình trạng sức khỏe như thế nào trước khi chết, rất ít xác chết được chôn cất và không có xác chết nào bị thiêu hủy. Theo báo cáo, da sống được sử dụng để làm ví, thắt lưng, giày, bóng và quần áo. Xương bị loại bỏ thường được nghiền thành dạng hạt và bột để sản xuất bột xương và phân bón. Do đó, bệnh than là bệnh lưu hành trong khu vực nghiên cứu, vật nuôi khởi phát bệnh cấp tính hoặc chết mà không rõ nguyên nhân tử vong có thể là một trường hợp bệnh than và sau đó gây nguy cơ sức khỏe cho những người tham gia thu gom và xử lý thân thịt, cũng như người dùng cuối của các sản phẩm này. Các thực hành an ninh sinh học được cải thiện và các biện pháp xử lý thân thịt an toàn

có thể làm giảm nguy cơ phơi nhiễm cho con người, nhưng nguồn lực và các hạn chế khác khiến việc triển khai trở thành một thách thức. Do đó, nhắm mục tiêu vào các quần thể động vật có nguy cơ để tiêm phòng có thể là chiến lược hiệu quả nhất để giảm bùng phát bệnh than, bảo vệ chuỗi cung ứng và giảm nguy cơ phơi nhiễm với *B. anthracis* [63]. Từ những nghiên cứu trên đã giải thích được lý do những nơi đã từng có bệnh than trong quá khứ sẽ có nguy cơ mắc bệnh than cao hơn khu vực khác.

Trường hợp có tiền sử tiếp xúc trực tiếp với gia súc ốm, chết có nguy cơ mắc bệnh cao hơn trường hợp không tiếp xúc. Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu tại Zimbabwe khi phân tích tiền sử ăn thịt nhiễm bệnh, thuộc hộ gia đình có gia súc chết hay hỗ trợ lột da xác chết gia súc đều cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nguy cơ mắc bệnh than khi có tiền sử tiếp xúc [53]. Tương tự như tại Trung Quốc, một đợt bùng phát bệnh than qua da xảy ra ở tỉnh Giang Tô, một vùng bệnh than không lưu hành ở miền đông Trung Quốc, từ tháng 7 đến tháng 8 năm 2012. Điều tra dịch tễ học và phòng thí nghiệm đã được thực hiện để truy tìm nguồn lây nhiễm và xác định các yếu tố nguy cơ của đợt bùng phát. Vào ngày 25 tháng 7 năm 2012, 17 người đã tiếp xúc với một con bò bị bệnh, được nhập khẩu từ phía đông bắc Trung Quốc vài ngày trước đó. Trong số 17 người phơi nhiễm, 8 người xuất hiện các triệu chứng trong khoảng thời gian từ 1 đến 8 ngày và được chẩn đoán là các trường hợp mắc bệnh than qua da. Ba gen chính của *B. anthracis* được phát hiện từ cả mẫu thịt người và bò, cho thấy đợt bùng phát có liên quan đến con bò bị nhiễm bệnh này. Một nghiên cứu đoàn hệ hồi cứu cho thấy rằng việc tiếp xúc với máu và sự hiện diện của tổn thương da đã góp phần vào trường hợp nhiễm *B. anthracis* [59]. Kết quả nghiên cứu tại Trung Quốc, Zimbabwe và nghiên cứu của chúng tôi đã cho thấy thời gian trong vòng một tuần tiếp xúc với gia súc sẽ là một yếu tố nguy cơ cho việc bị mắc bệnh than.

Kết quả nghiên cứu chỉ ra những trường hợp sinh hoạt gần chuồng nuôi gia súc có nguy cơ mắc bệnh cao hơn trường hợp khác, kết quả này được giải thích bằng một vụ dịch tại Hà Giang năm 2019 về những trẻ tiếp xúc đất tại vùng đất trũng ngay cạnh chỗ thả chuồng nuôi gia súc và mắc bệnh than. Đây là một khác biệt của nghiên cứu của chúng tôi so với những nghiên cứu khác, cũng có thể là một hạn chế của nghiên cứu vì trong quá trình điều tra dịch tễ những trường hợp bệnh này đều là trẻ em và là người đồng bào dân tộc Mông nên rất khó khăn trong việc hỏi về tiền sử tiếp xúc ngay cả khi hỏi tiền sử thông qua bố mẹ và người chăm sóc trẻ cũng không khai thác được. Để trả lời cho câu hỏi về nguồn lây của ổ dịch tại Hà Giang năm 2019 cần có thêm những nghiên cứu trong tương lai về di truyền học để tìm ra được nguồn gốc ổ dịch.

Các ổ dịch than trên thế giới như tại Trung Quốc, Zimbalwe, Mông Cổ phát hiện ra nguồn lây nhiễm và nguy cơ lây nhiễm chủ yếu từ động vật bị bệnh [41, 53]. Việc xử lý phân gia súc như chôn, khử trùng đúng cách sẽ hạn chế sự hình thành nha bào và làm giảm nguy cơ lây lan vi khuẩn than từ đó giảm nguy cơ mắc bệnh. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu tại Georgia từ 2008-2015 cho thấy việc xử lý tốt sản phẩm của động vật, khử trùng chỗ chất thải sẽ làm giảm sự lây lan và mắc bệnh than [69]. Một nghiên cứu về sự đa dạng vi khuẩn sinh nha bào trong phân gia súc, tiến hành lấy chất thải từ lò mổ và trong các công trình khí sinh học phân tích 97 mẫu phân, 20 mẫu chất thải lò mổ và 60 mẫu thu thập ở các giai đoạn khác nhau trong quy trình khí sinh học cho thấy trực khuẩn *Clostridium botulinum/Clostridium spp.* và *Clostridium sordellii* được tìm thấy cả trước và sau khi thanh trùng, nhưng không tìm thấy sau khi tiêu hóa tuy nhiên với dòng vi khuẩn *Bacillus spp.* gây bệnh than không đổi trong suốt quá trình [20]. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy nếu như thực phẩm cho gia súc bị nhiễm vi khuẩn than thì trong quá trình

tiêu hoá vẫn không bị ảnh hưởng đến sự tồn tại của vi khuẩn, từ đó phân của gia súc sẽ là một nguồn lây nhiễm vi khuẩn than tiềm ẩn, vì vậy việc không xử lý phân gia súc sẽ là một yếu tố dẫn đến đào thải vi khuẩn than từ gia súc ra môi trường và từ đó là nguồn lây nhiễm cho gia súc khác hoặc cho người.

Kết quả nghiên cứu khá đặc biệt khi chỉ ra những trường hợp từng nghe về bệnh than có tỷ lệ mắc bệnh cao hơn 4,02 lần so với nhóm chưa nghe về bệnh. Kết quả này có thể được giải thích bằng hai yếu tố sau: do những nơi có ổ dịch than sẽ thường xuyên được truyền thông về bệnh và bản thân người dân tại khu vực đó cũng biết về bệnh, những địa phương (tại tuyến xã) chưa có ổ dịch trong quá khứ không được chú trọng truyền thông và bản thân người dân không hiểu được sự nguy hiểm của bệnh; còn một cách giải thích khác cho kết quả nghiên cứu là, tại địa bàn 6 tỉnh nghiên cứu về bệnh than thường xuyên được truyền thông các thông tin về bệnh than, vì thế những người dân sống trong khu vực này đã từng được ít nhất một lần nghe về bệnh than, có thể là trước khi hoặc sau khi họ bị bệnh (nếu là bệnh nhân). Tuy nhiên kết quả về những người đã từng nghe về bệnh nhiệt thán lại không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh và nhóm chứng, khi tìm hiểu về vấn đề này nhóm nghiên cứu đã trực tiếp hỏi những người dân tại địa bàn nghiên cứu và thấy rằng, người dân tại đây chỉ biết những bệnh gây ra cho gia súc như bệnh: nốt đen trên da, viêm da... vì thế ngay khi cả gia súc đó bị bệnh nhiệt thán nhưng người ta cũng không có khái niệm về bệnh trên và không trả lời được câu hỏi liên quan đến việc đã nghe về bệnh nhiệt thán hay chưa.

Nhận thức và hành vi của người dân về bệnh than đóng vai trò quan trọng trong nguy cơ nhiễm bệnh than trên người, bởi vì nếu không biết về bệnh, cách thức lây truyền và phương pháp dự phòng thì người đó có khả năng tiếp xúc với gia súc bị bệnh mà không sử dụng các biện pháp dự phòng,

ăn thịt gia súc mà không biết nguy cơ mắc bệnh và khi bị bệnh lại không tìm đến cơ sở y tế để được điều trị kịp thời. Một nghiên cứu tại Ấn Độ năm 2015 cho thấy tỷ lệ người chăn nuôi biết về bệnh than lây truyền từ động vật sang người là rất thấp (4,6%) [61]. Tại Zambia, mặc dù tỷ lệ người đã từng nghe về bệnh than là rất cao (88%) và tỷ lệ cao người dân biết rằng con người có thể nhiễm bệnh than do ăn thịt động vật bị nhiễm bệnh (86%), nhưng chỉ có 26,3% số người được hỏi không tin rằng mình có thể bị nhiễm bệnh khi ăn thịt bò bị ốm/chết. Về thực hành, chỉ có 34,5% người được hỏi cho biết đã báo cáo về trường hợp gia súc chết cho cán bộ thú y địa phương; 13,5% thực hiện đốt hoặc chôn gia súc chết; và có tới 68,3% đã từng giết mổ gia súc chết và 36% chia sẻ thịt gia súc chết với những người khác trong cộng đồng [119]. Như vậy, mặc dù biết về bệnh và khả năng mắc bệnh từ việc ăn thịt động vật nhiễm bệnh nhưng niềm tin về nguy cơ nhiễm bệnh của bản thân là rất thấp. Với niềm tin rằng sẽ khó bị nhiễm bệnh, người dân sẽ tiếp tục các hành vi nguy cơ từ việc ăn thịt động vật ốm/chết. Tương tự, một nghiên cứu tại Bhutan cho thấy rằng người dân vẫn tiêu thụ thịt gia súc chết đột ngột vì họ cho rằng gia súc chết vì các nguyên nhân tự nhiên chứ không phải bị bệnh [65].

Thức ăn cho gia súc được làm sạch sẽ là một yếu tố bảo vệ làm giảm tỷ lệ mắc bệnh than trên gia súc, nghiên cứu cũng phù hợp với một đánh giá tại Bangladesh với 607 trường hợp mắc bệnh ở người trong năm 2010. Bằng cách đăng ký 15 hộ chăn nuôi gia súc mắc bệnh và 15 đối chứng trong khu vực không gian từ tháng 7 đến tháng 9 năm 2010, tác giả đã tiến hành kiểm soát trường hợp bệnh, nghiên cứu dữ liệu được phân tích bằng phân tích cặp đối sánh và hồi quy logistic có điều kiện đa biến cho thấy rằng, cho động vật ăn cỏ đã nhỏ và chưa rửa có nguy cơ mắc bệnh than cao gấp 41,2 lần với khoảng tin cậy (95%CI: 3,7-458,8, p=0,003) [30].

Những người trực tiếp tham gia vào công việc chăn thả gia súc là một yếu tố nguy cơ làm tăng khả năng mắc bệnh than, kết quả này cũng tương đồng với một nghiên cứu về lập bản đồ để xác định các khu vực nguy cơ có bệnh than tại Châu Phi cho thấy rằng các khu vực có nguy cơ mắc bệnh than cao có liên quan tích cực với các yếu tố làm tăng khả năng tiếp xúc với các nha bào *B.anthraxis* hơn là các yếu tố liên quan đến sự tồn tại của mầm bệnh: gần các vùng nước nội địa, nơi tập trung động vật hoang dã và gia súc, và hàm lượng carbon hữu cơ thấp, có thể cho thấy khả năng gia tăng động vật gặm cỏ gần bề mặt đất và ăn phải nha bào, tại thời gian này những người chăn thả gia súc sẽ tăng nguy cơ tiếp xúc với bào tử *B.anthraxis* hơn, điều đó dẫn đến tăng nguy cơ mắc bệnh [17].

Trong nghiên cứu của chúng tôi không cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ mắc bệnh than trên người đối với nhóm được tiêm vắc xin trên gia súc hay không được tiêm, điều này có thể được giải thích do hoạt động tiêm vắc xin phòng bệnh nhiệt thán trên gia súc tại các tỉnh trên địa bàn nghiên cứu không được thực hiện thường xuyên mà chỉ thực hiện khi ở địa phương đó xảy ra ổ dịch than trên người hoặc gia súc. Tuy nhiên hoạt động tiêm vắc xin phòng bệnh than cho gia súc đã được chứng minh là giảm đáng kể tỷ lệ mắc bệnh than trên gia súc ($p < 0,001$) thông qua một nghiên cứu về yếu tố nguy cơ gây bệnh than tại Georgia giai đoạn 2013-2015 đã chỉ ra tiêm chủng là một yếu tố quan trọng trong việc giảm nguy cơ mắc bệnh than ở vật nuôi. Mặc dù phát hiện này có thể được dự đoán ở các nước phát triển, nhưng nó có tầm quan trọng lớn đối với các nhà hoạch định chính sách, dịch vụ thú y và chủ vật nuôi ở Georgia khi quốc gia này phát triển Chương trình Thú y Quốc gia và phải chứng minh các chiến lược quốc gia để ngăn ngừa và kiểm soát các bệnh ưu tiên. Trong năm 2007, đã có sự chuyển giao trách nhiệm tiêm phòng cho vật nuôi cho chủ vật nuôi, do đó dẫn đến việc giảm số lượng vắc xin được tiêm

phòng và gia tăng các trường hợp bệnh trên vật nuôi. Vì thế việc tăng cường tiêm vắc xin phòng chống bệnh than trên gia súc là một yếu tố quan trọng trong việc phòng chống bệnh than, việc tiêm phòng không chỉ thực hiện ở những nơi xảy ra ổ dịch than mà phải thực hiện hàng năm ngay cả khi năm đó không có ổ dịch than tại địa bàn [105]. Hiệu quả của vắc xin cũng được chứng minh qua một phân tích dựa trên số liệu báo cáo ca bệnh than trên người tại Azerbaijan (một quốc gia trước đây thuộc Liên Xô) từ năm 1984-2010 cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh than thể da là 3,06 ca trên 100.000 dân (95% CI: 1,25 - 3,93) trong thời kỳ thuộc Liên Xô; tăng lên 6,38 ca trên 100.000 dân (95% CI: 4,53-7,47) giai đoạn sau khi Liên Xô tan rã; và giảm xuống còn 0,37 ca trên 100.000 dân sau khi chính phủ Azerbaijan triển khai chương trình tiêm vắc xin cho gia súc [74]. Đây là một bằng chứng thuyết phục về hiệu quả của vắc xin phòng bệnh trên gia súc có thể làm giảm tỷ lệ mắc bệnh than trên người.

Những người tham gia mổ lấy thịt gia súc ốm, chết có nguy cơ mắc bệnh than cao gấp 3,28 lần những người không tham gia vào hoạt động giết mổ, nghiên cứu của chúng tôi tương đồng yếu tố nguy cơ về giết mổ gia súc với một số nghiên cứu tại các quốc gia khác nhau cũng đưa ra bằng chứng về yếu tố nguy cơ đối với việc nhiễm bệnh than trên người bao gồm tham gia giết mổ động vật bị nhiễm bệnh (RR=21,9; 95%CI: 14,5 - 32,9) [38, 75, 126]; người bệnh sống trong hộ gia đình có gia súc bị chết (OR= 9,7, 95% CI: 2,9 - 33,0), sống trong làng có gia súc chết (OR = 6,5; 95% CI: 1,3 - 32,0), bị cắt vào tay/vết thương trong quá trình lột da động vật (OR = 19,5; 95% CI: 2,4 - 159) [53]. Nghiên cứu thuần tập lịch sử khác tại Ấn Độ năm 2007 cũng cho kết quả tương tự với khả năng mắc bệnh ở người tham gia giết mổ, chia thịt bò mà không dùng dụng cụ bảo hộ (găng tay) là gấp 19 lần (95%CI: 11,0-30,0) so với người không tham gia hoạt động này [106].

Khi phân tích hồi quy logistic đơn biến cho kết quả có tám yếu tố nguy cơ liên quan đến việc mắc bệnh than, tuy nhiên sau khi sử dụng phương pháp Bayesian Model Average dựa vào các tài liệu tổng quan để đưa tất cả các yếu tố liên quan đến khả năng mắc bệnh than vào các mô hình thống kê khác nhau để chọn ra những mô hình tối ưu nhất kết luận những yếu tố nguy cơ gây bệnh chỉ còn có bốn yếu tố trong ba mô hình tối ưu đã được chứng minh là một trong những tác nhân dẫn đến nguy cơ mắc bệnh là bệnh than xung quanh nơi sống trong quá khứ (thôn, bản), mổ lấy thịt gia súc ốm, chết, tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết trong vòng một tuần trước khi mắc bệnh và xử lý phân gia súc (chôn). Tuy nhiên, sau khi phân tích mô hình số một có xác suất hậu định cao nhất (79,5%), và trong mô hình này có hai yếu tố có xác suất liên quan đến nguy cơ mắc bệnh than là: tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết trong vòng 1 tuần trước khi mắc bệnh (aOR=27,8; 95%CI=7,7-137) và trực tiếp mổ thịt gia súc ốm, chết (aOR=5,3; 95%CI=1,4-25,7). Với kết quả của mô hình này đã giải thích được 52,3% sự khác biệt về nguy cơ mắc bệnh than.

Hạn chế của nghiên cứu: Đây là nghiên cứu có sử dụng thông tin hồi cứu khi điều tra trường hợp bệnh và chúng vì thế không tránh khỏi các sai số trong quá trình thu thập số liệu, đặc biệt là các sai số nhớ lại khi những bệnh nhân được hỏi những thông tin về tiền sử tiếp xúc tại những thời điểm trước đó. Để hạn chế các sai số nhóm nghiên cứu thực hiện kết hợp hỏi những bệnh nhân và kết hợp với những sự kiện, các báo cáo của địa phương, kết hợp ngoài số liệu của y tế còn sử dụng thêm số liệu báo cáo của thú y để đưa ra các điểm mốc về thời gian và so sánh thông tin cho chính xác. Đối với nhóm chứng được lựa chọn ngay tại thời điểm các trường hợp bệnh được phát hiện đảm bảo sự chắc chắn các trường hợp chứng không mắc bệnh than trong khoảng 12 tháng trước đó, trong quá trình phỏng vấn sử dụng các câu hỏi dễ hiểu, kết hợp quan sát thực tế tại

khu vực sinh sống của đối tượng nghiên cứu. Hạn chế tiếp theo của nghiên cứu bệnh chứng là không sử dụng toàn bộ các trường hợp bệnh là trường hợp xác định phòng thí nghiệm mà phải kết hợp cả trường hợp xác định và lâm sàng. Để khắc phục hạn chế này nhóm nghiên cứu phải chẩn đoán các trường hợp lâm sàng một cách đầy đủ thông tin về biểu hiện lâm sàng và tiền sử tiếp xúc của đối tượng.

4.3. Một số đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn *Bacillus anthracis* phân lập được ở bệnh nhân tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022

Sơn La và Hà Giang là hai tỉnh ở khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam, đây là hai tỉnh có lịch sử dịch bệnh than trên người và động vật từ nhiều năm trước. Tuy nhiên, số liệu mới chỉ dừng lại ở dạng báo cáo trường hợp bệnh và chẩn đoán xét nghiệm dương tính với bệnh. Những bằng chứng về di truyền học mới được sử dụng và đưa vào phân tích từ những năm 2010 trở lại đây. Tại Hà Giang số liệu về chủng và kiểu gen của *B. anthracis* được ghi nhận khá đều từ năm 2010-2020, tuy nhiên tại Sơn La đợt dịch năm 2022 là đợt bùng phát đầu tiên ở tỉnh có dữ liệu về bộ gen từ các chủng *B. anthracis*. Trong bối cảnh so sánh di truyền với các địa phương khác tại Việt Nam như tại Hà Giang trước kia ghi nhận phân loài *B. anthracis* A.Br.011/009, đợt bùng phát này tại tỉnh Sơn La là trường hợp đầu tiên ghi nhận phân loài *B. anthracis* A.Br.001/002. Dòng phụ này đã được tìm thấy ở các quốc gia lân cận gồm Thái Lan, Ấn Độ, Indonesia và Úc theo nghiên cứu về cấu trúc quần thể di truyền toàn cầu về *Bacillus anthracis* [128]. Trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng 26 chủng *B. anthracis* để phân tích trong đó có 6 chủng theo nghiên cứu của tác giả Hoàng Thị Thu Hà [56], 15 chủng thuộc 2 tỉnh Sơn La và Hà Giang giai đoạn 2019-2022, các chủng còn lại thuộc các tỉnh khác giai đoạn 2008-2018. Nghiên cứu mối quan hệ phát sinh loài của *B. anthracis* ở

miền Bắc Việt Nam đã được sử dụng để xác định các mối quan hệ khu vực của các chủng từ Sơn La và Hà Giang. Về mặt khu vực, dòng A.Br.001/002 cũng có lịch sử hình thành ở Trung Quốc và cây wgSNP cho thấy mối quan hệ chặt chẽ giữa các chủng bùng phát ở Sơn La và các chủng ở Trung Quốc, tuy nhiên chưa thấy được mối quan hệ khi so sánh với các chủng trước đây ở Việt Nam [56]. Tại các đợt bùng phát dịch than tại Hà Giang trước kia đã được nuôi cấy và phân lập được các chủng thuộc phân dòng A.Br.011/009. Các dòng này đã được tìm thấy trong nghiên cứu tại Ý, khi giải trình tự một chủng và so sánh nó với 19 bộ gen của *B. anthracis* được so sánh trình tự bộ gen bằng cách sử dụng SNP và phân tích toàn bộ dựa trên SNP bộ gen. Kết quả chứng minh rằng chủng bùng phát thuộc nhóm xuyên Á-Âu (TEA) A.Br.011/009, là nhóm chiếm ưu thế ở miền Trung-Nam Ý. Tóm lại, mối liên hệ cao về bộ gen của các chủng TEA ở Ý cho thấy sự tiến hóa của chúng từ một tổ tiên chung, và sự lây lan rộng rãi các dòng này có thể được giải thích do hoạt động buôn bán hiện nay rất dễ dàng di chuyển giữa các địa bàn khác nhau không chỉ giữa các huyện, tỉnh mà giữa các quốc gia với nhau [145]. Để giải thích vấn đề tại sao giai đoạn trước các chủng phân lập được không phát hiện điểm gần gũi về di truyền với các chủng tại Trung Quốc mà lại giống với các chủng TEA có thể được trả lời bằng một số luận điểm sau. Một là số liệu di truyền về *B. anthracis* giai đoạn trước kia tại Việt Nam chưa có nhiều, có thể đã tồn tại những chủng có kiểu gen gần với các chủng thuộc Trung Quốc nhưng chưa được phân lập. Hai là với sự thông thương trên toàn cầu thì việc buôn bán gia súc, sản phẩm của gia súc không chỉ dừng lại ở các nước biên giới với nhau.

Tại địa phương, trong đợt bùng phát dịch bệnh ở Sơn La năm 2022, nghiên cứu này đã xác định nhiều kiểu gen của *B. anthracis* từ các chủng thu hồi từ trường hợp bệnh ở người, trâu bị giết thịt và đất liên quan đến khu vực

giết mổ. Trong số tám chủng được thu thập trong đợt bùng phát này, bốn kiểu gen MLVA-25 đã được quan sát thấy, với biến thể xảy ra ở hai locus là Bams03 và Bams13. Bams03 và Bams13 đều được coi là có tính đa hình cao trong phân tích số lần lặp lại song song của các locus MLVA-25 như trong nghiên cứu về cơ sở dữ liệu lặp lại song song về bộ gen vi khuẩn: ứng dụng vào kiểu gen của *Yersinia pestis* và *Bacillus anthracis*, về báo cáo này trình bày một cơ sở dữ liệu về các lần lặp lại song song từ bộ gen vi khuẩn có sẵn, tạo điều kiện thuận lợi cho việc xác định và lựa chọn các lần lặp lại song song. Tác giả đã minh họa việc sử dụng cơ sở dữ liệu này bằng cách mô tả đặc tính của hai mầm bệnh quan trọng ở người là *Yersinia pestis* và *Bacillus anthracis*. Kết quả cho thấy *Bacillus anthracis* chứa 30 cấu trúc tương đương trong đó đơn vị được lặp lại ít nhất 10 lần, một nửa số lần lặp lại song song này cho thấy tính đa hình giữa các chủng được thử nghiệm [79]. Locus Bams13 cũng góp phần tạo ra sự biến đổi trong các đợt bùng phát bệnh than ở Namibia [28] và có liên quan đến gen *bclA* trong bộ gen của *B. anthracis* [80, 82]. Gen *bclA* chịu trách nhiệm về các thành phần của nha bào (exosporium) tương tác với môi trường tự nhiên và hệ thống miễn dịch của vật chủ bị nhiễm bệnh [124]. Mặc dù hiểu biết còn hạn chế về động lực chính xác của các tương tác này, nhưng chúng rất quan trọng để xem xét vì chúng có thể điều khiển tính chất đa hình của các chủng. Với kết quả thu được trong vụ dịch tại Sơn La năm 2022, mẫu bệnh phẩm thu thập trên 1 gia súc, bệnh nhân và đất tại khu giết mổ kết quả cho ra 4 kiểu gen khác nhau đã cho thấy mức độ đa dạng di truyền trong đợt bùng phát ở Sơn La là hiếm thấy trong tài liệu và cho thấy đợt bùng phát này có thể phức tạp hơn so với xác định ban đầu của cuộc điều tra dịch tễ học.

Các nghiên cứu dịch tễ học phân tử mở rộng ở Kazakhstan, Tây Texas, Hoa Kỳ (Mỹ) và ở Vườn Quốc gia Etosha (ENP), Namibia, cung cấp cơ sở

cho sự đa dạng dự kiến trong một đợt bùng phát bệnh than tại địa phương [27, 31, 47, 89]. Ở Kazakhstan, nằm ở Trung Á, bệnh than là bệnh lưu hành có nguy cơ lây nhiễm cao nhất ở người liên quan đến việc giết mổ vật nuôi bị nhiễm bệnh hoặc xử lý thịt bị ô nhiễm [76, 132]. Năm 2009, một phân tích hồi cứu về các chủng từ hai đợt bùng phát bệnh than ở các huyện phía tây Kazakhstan là Bayterek và Borili đã báo cáo lần lượt có 8 và 9 chủng *B. anthracis*. Các đợt bùng phát xảy ra trong cùng thời kỳ và ở cùng khu vực nằm gần các tuyến đường chính, thiên về một nguồn lây nhiễm duy nhất. Tuy nhiên, phân tích lặp lại song song số lượng biến đổi đa điểm (MLVA), phân tích đa hình đơn nucleotide (CanSNP) và phân tích trên toàn bộ bộ gen đã chứng minh rằng các đợt bùng phát không có mối liên hệ với nhau. Cả hai đợt bùng phát đều là sự kiện lan tỏa, với nguồn bị nghi ngờ là do hoạt động giết mổ gia súc [115]. Tương tự như vụ dịch ở Sơn La, những vụ dịch này thu thập mẫu bệnh phẩm ở người, mẫu từ gia súc và đất từ một điểm giết mổ. Tuy nhiên, kết quả lại khác hoàn toàn với vụ dịch tại Sơn La và cho thấy rằng trong mỗi địa điểm (tức là đợt bùng phát), tất cả các chủng *B. anthracis* đều có cùng kiểu gen MLVA-31. Các vụ dịch ở Kazakhstan có quy mô tương tự như vụ dịch ở Sơn La và cả hai đều báo cáo ít đa dạng di truyền hơn so với những gì được quan sát thấy ở Sơn La. Vụ dịch tại Tây Texas năm 2019 cho thấy nguy cơ đối với con người chủ yếu liên quan đến việc xử lý xác móng guốc đã chết vì bệnh than; nguy cơ chính đối với động vật ăn cỏ là ăn phải nha bào *B. anthracis*, chúng có thể tồn tại trong đất kiềm thích hợp ở hành lang từ Texas đến Montana. Tại Texas đã chứng kiến sự gia tăng số ca mắc bệnh than ở động vật vào năm 2019 và do đó nguy cơ ở người cao hơn mức thông thường. Việc phòng ngừa ban đầu ở người đạt được thông qua việc kiểm soát bệnh than ở động vật [117]. Các nghiên cứu điều tra các kiểu phát sinh gen của *B. anthracis* đã chứng minh sự đa dạng hạn chế về kiểu gen

MLVA-25 trong các dòng trội trong ít nhất hai đợt bùng phát (2005, 2009-2010). Tuy nhiên, trong những nghiên cứu này, các kiểu gen khác nhau chỉ được quan sát thấy ở các địa điểm khác nhau và không có số liệu về phân tích MLVA-25 cho sự biến đổi được ghi nhận trong các đợt bùng phát [31]. Tại Texas, qua quá trình quan sát hàng năm trên các trang trại chăn nuôi hoặc động vật hoang dã, người ta thấy rằng không có sự khác biệt giữa các chủng phân lập được từ xác động vật, giòi hoặc môi trường. Điều này cho thấy sự bảo tồn một kiểu gen cho mỗi đợt dịch bùng phát [31]. Kết quả này trái ngược với dữ liệu từ tỉnh Sơn La, nơi chúng tôi tìm thấy sự đa dạng MLVA-25 ở nhiều locus trong các mẫu da, giòi và đất từ một địa điểm giết mổ trâu. Mặc dù đợt bùng phát này là đợt bùng phát đầu tiên ở tỉnh Sơn La có được dữ liệu di truyền, nhưng các đợt bùng phát trước đó ở các tỉnh lân cận của Việt Nam có nhiều kiểu gen giữa các năm và trong các đợt bùng phát, như đã được chứng minh và dán nhãn ở cây ghép phát sinh loài của chúng tôi. Điều này có thể gợi ý rằng có một số kiểu gen lưu hành trong môi trường ở khu vực này, dẫn đến sự đa dạng trong các đợt bùng phát dịch. Ở vụ dịch Sơn La, nguyên nhân của sự đa dạng di truyền có thể xuất phát từ nhiều nguồn lây nhiễm hoặc gợi ý trâu mang nhiều kiểu gen (đồng nhiễm). Các nghiên cứu tại Công viên Quốc gia Etosha (ENP), Namibia, đã điều tra khả năng đồng nhiễm là nguyên nhân gây ra biến đổi di truyền trong các đợt bùng phát bệnh than. Mặc dù thực tế bệnh than là một bệnh truyền nhiễm có nguồn gốc từ động vật cổ xưa và đang nổi lên trên toàn thế giới nhưng hệ sinh thái tự nhiên của nó vẫn chưa được hiểu rõ. Đặc biệt, người ta biết rất ít về phản ứng miễn dịch thích nghi của vật chủ động vật ăn cỏ hoang dã chống lại vi khuẩn *Bacillus anthracis*. Trong nghiên cứu tại ENP tác giả đã thu thập 154 mẫu huyết thanh từ ngựa vằn đồng bằng (*Equus quagga*), 21 mẫu từ linh dương Nam Phi (*Antidorcas marsupialis*) và 45 mẫu từ voi châu Phi (*Loxodonta africana*) trong vòng 2-3

năm, lấy mẫu lại các cá nhân khi có thể để so sánh theo mùa và theo chiều dọc. Nghiên cứu đã sử dụng các xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme để đo hiệu giá kháng thể kháng bệnh than và phát triển ba mô hình để xác định hiệu giá kháng thể. Kết quả cho thấy khoảng 52-87% ngựa vằn, 3-52% voi có hiệu giá kháng thể chống bệnh than có thể đo lường được, tùy thuộc vào mô hình được sử dụng. Điều này chỉ ra rằng ngựa vằn ở ENP thường sống sót sau khi nhiễm bệnh than dưới mức gây tử vong, gặp hầu hết *B. anthracis* trong mùa mưa và có thể tăng cường một phần khả năng miễn dịch của chúng. Vì vậy, thay vì chỉ là một căn bệnh gây chết người, bệnh than thường xảy ra dưới dạng nhiễm trùng dưới mức gây chết ở một số vật chủ nhạy cảm. Mặc dù tác giả cho thấy rằng miễn dịch tạo ra sau khi mắc bệnh than bị suy giảm nhanh chóng, nhưng các trường hợp nhiễm *B. anthracis* dưới mức gây tử vong và nhiễm lại nhiều lần sau đó sẽ tạo ra được miễn dịch đầy đủ để chống lại bệnh than. Việc mắc vi khuẩn than dưới mức tử vong cho thấy có thể có hiện tượng đồng nhiễm [43]. Hiện tượng đồng nhiễm đã được quan sát thấy ở Namibia, nơi bệnh than là dịch bệnh lưu hành và không có biện pháp kiểm soát hay phòng ngừa nào được áp dụng đối với bệnh than ở động vật hoang dã. Vì *B. anthracis* có thể tồn tại lâu dài trong đất nên người ta đưa ra giả thuyết rằng ở những vùng lưu hành cao, nơi động vật thường xuyên chết vì bệnh than và làm ô nhiễm môi trường xung quanh, nhiều kiểu gen có thể lưu hành [29]. Trong một nghiên cứu, các mẫu chẩn đoán *B. anthracis* từ các vật chủ riêng lẻ từ ENP và các đợt bùng phát trên khắp Pyrenees, một dãy núi giáp Tây Ban Nha và Pháp, chứa đựng nhiều kiểu gen MLVA-31. Những phát hiện này chỉ ra rằng đồng nhiễm đã xảy ra bên ngoài ENP (mặc dù điều này chưa được nghiên cứu ở Tây Texas) nhưng hiện tượng này rất hiếm và chưa được hiểu rõ [29]. Để hiểu rõ hơn về hiện tượng này, một nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã điều tra sự đa dạng di truyền của

B. anthracis trong 11 xác ngựa vằn xuất hiện tự nhiên từ ENP [47]. Trong một thân thịt, có tới 30 khuẩn lạc *B. anthracis* được phân lập từ một đĩa duy nhất từ một mẫu bệnh phẩm chẩn đoán và được phân tích bằng cách sử dụng phân tập MLVA-25 kết hợp với phương pháp định loại SNR-4 [47]. Ngoài ra, nghiên cứu còn điều tra tốc độ tiến hóa của 29 chỉ thị MLVA-25 trong số đó đã được sử dụng trong nghiên cứu ở Sơn La này, bằng cách thu thập các kiểu gen qua 60 thế hệ. Bằng cách nghiên cứu hiện tượng này ở ENP, một khu vực rộng lớn thường xuyên xảy ra các đợt dịch bệnh trên quy mô lớn, sẽ có nhiều khả năng nhiều kiểu gen cùng tồn tại trong vật chủ. Tuy nhiên, tần suất đồng nhiễm ở ngựa vằn trong nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã hỗ trợ thêm cho những phát hiện quan sát thấy rằng đồng nhiễm dường như không phổ biến. Điều này trái ngược với đợt bùng phát ở Sơn La năm 2022 ở Việt Nam, nơi phát hiện nhiều kiểu gen *B. anthracis* mặc dù có diện tích địa lý nhỏ hơn so với các đợt bùng phát ở ENP và Tây Texas, cả hai khu vực đều trải rộng hàng nghìn km². Ngoài ra, mặc dù tỉnh Sơn La có lịch sử ghi nhận về trường hợp mắc bệnh than, tỷ lệ mắc bệnh được báo cáo thấp hơn nhiều so với ở Namibia hoặc Tây Texas. Điều này cho thấy rằng sự đa dạng di truyền quan sát được ở Sơn La có nhiều khả năng liên quan đến nhiều nguồn lây nhiễm hơn là một nguồn duy nhất là trâu bị đồng nhiễm. Hơn nữa, thông qua phân tích kiểu gen các chủng thu thập được tại ổ dịch tại Sơn La cho thấy các chủng vi khuẩn ở người có kiểu gen của *B. anthracis* cho thấy có sự liên hệ về kiểu gen với trâu, đất và một trường hợp không tìm thấy mối liên hệ với các nguồn từ động vật và môi trường.

Bên cạnh những phát hiện phát sinh loài này, sau khi có những điều tra về mặt dịch tễ học, tại ổ dịch trên gia súc tại Sơn La chúng tôi còn thấy các báo cáo về dịch bệnh than từ nguồn khác của địa phương trong cùng thời điểm có nêu rõ nhiều trường hợp động vật bị nghi ngờ bệnh than (dựa trên các

dấu hiệu lâm sàng) trong các cộng đồng xung quanh các thôn bản được báo cáo về đợt bùng phát dịch này, tuy nhiên trong quá trình điều tra dịch tễ ban đầu chưa được xác định được các thông tin này. Từ báo cáo cho thấy sau trường hợp bệnh nhiệt thán trên gia súc đầu tiên, tại địa bàn huyện đã tiến hành xét nghiệm trên diện rộng, qua rà soát đã phát hiện được thêm hai con trâu bị nghi nhiễm bệnh than vào thời điểm dịch bệnh bùng phát và những trường hợp này đã bị bỏ qua trong quá trình giám sát [1]. Điều này cho thấy rằng hoạt động giám sát sinh học ở tỉnh Sơn La còn thiếu và bệnh than vẫn chưa được báo cáo đầy đủ trong khu vực. Chúng ta cũng thấy được rằng sự phối hợp liên ngành giữa ngành y tế và thú y trong quá trình giám sát, điều tra và phòng chống dịch bệnh than còn hạn chế, sau khi có trường hợp bệnh chỉ điểm đầu tiên, sự phối hợp mới được thực hiện tốt hơn để rà soát tìm thêm được những trường hợp bị bỏ sót. Để đối phó với đợt bùng phát này, các nhân viên thú y ở xã Nong Lay, nguồn gốc của đợt bùng phát này, đã tiêm phòng cho hơn 75% (900/1.179) đàn trâu, bò và chỉ để lại những gia súc chưa đến tuổi tiêm hoặc sắp đến thời gian sinh sản sẽ được tiêm vào thời gian sau. Phản ứng này có thể hạn chế số ca mắc bệnh vào năm 2022 và có thể cả năm tiếp theo, các nghiên cứu đã phát hiện ra rằng các chiến dịch tiêm phòng chủ động cho động vật là tốt hơn và rất quan trọng trong việc giảm số ca mắc bệnh than hàng năm [123]. Các nghiên cứu về mô hình dịch tễ học và phát sinh chủng loại của các đợt bùng phát ở Việt Nam giúp nâng cao hiểu biết về *B. anthracis* ở khu vực này và có thể cung cấp thông tin cho các nhà quản lý y tế công cộng về các biện pháp phòng ngừa và kiểm soát trong tương lai. Bệnh than, bao gồm cả số liệu di truyền học của *B. anthracis* ở khu vực này chưa được hiểu rõ về mức độ đa dạng di truyền ở Sơn La và các tỉnh lân cận, cho thấy bệnh than có thể phổ biến hơn so với suy nghĩ trước đây. Các nghiên cứu bổ sung về dịch tễ học và dịch tễ học phân tử của bệnh than ở khí hậu nhiệt đới

miền núi, chẳng hạn như Việt Nam, có thể thể hiện các mô hình không gian và thời gian khác nhau so với những gì được quan sát thấy ở các vùng khô cạn như ENP và Texas.

Cũng là một tỉnh thuộc khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam, khác biệt với ổ dịch tại Sơn La, tại tỉnh Hà Giang các chủng thuộc phân dòng A.Br.011/009 đã được tìm thấy từ những năm 2008 đến nay. Trong vụ dịch năm 2019 đã cho thấy rằng, vụ dịch năm 2019 không khai thác được tiền sử tiếp xúc với gia súc mà chỉ khai thác được tiền sử tiếp xúc với đất khu vực chất thải chuồng nuôi gia súc, đã thu thập được hai kiểu gen trong vụ dịch này tuy nhiên nguồn lây không rõ ràng nên có thể giải thích được sự đa dạng về kiểu gen. Mặc dù các nha bào của *B. anthracis* thường xuất hiện trong đất nhưng các báo cáo về sự lây truyền từ đất sang người vẫn còn khan hiếm. Trong vụ dịch tại Sơn La năm 2022, có một trường hợp lâm sàng trên người và mẫu đất tại nơi giết mổ gia súc có cùng một kiểu gen VN9, tuy nhiên hai thời điểm lấy mẫu trên người và mẫu đất khác nhau và cỡ mẫu trên một trường hợp nên chưa thể kết luận được là người bệnh bị nhiễm trực tiếp từ đất hay tác nhân từ người bệnh thải ra môi trường. Theo đánh giá về nguy cơ lây nhiễm trực tiếp bệnh than từ đất nhiễm nha bào sang người, về lý thuyết, các ổ bệnh than có thể tiềm ẩn nguy cơ lây nhiễm cho động vật và con người nếu có đủ số lượng nha bào độc hại trong đất sau một thời gian dài. Tuy nhiên, trong thực tế, việc lây truyền thường là do tiếp xúc với các sản phẩm động vật và các trường hợp lây truyền qua đất được báo cáo là rất hiếm. Trong lịch sử chiến tranh, ngay cả trong các chiến hào của Thế chiến thứ nhất, các trường hợp mắc bệnh than do vết thương nhiễm đất hầu như không có. Công bố này theo quan điểm và kinh nghiệm những nghiên cứu đã được công bố của khu vực Tây bán cầu và của các nước Cộng hòa thuộc Liên Xô cũ đều đã được trình bày trong các nghiên cứu [51]. Tại Hà Giang trong vụ dịch tại khu vực

đất quanh chất thải cũng đã được lấy mẫu đất để làm xét nghiệm, tuy nhiên chưa tìm thấy vi khuẩn *B. anthracis* trong đó, giả thiết có thể các trường hợp bệnh này trong quá trình chơi tại khu vực chất thải có tiếp xúc với gia súc nhưng trong quá trình điều tra dịch tễ chưa khai thác được. Để giải thích cho câu hỏi có lây trực tiếp vi khuẩn than từ đất sang người, nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục thu thập mẫu đất tại khu vực ổ dịch để làm các xét nghiệm so sánh tiếp theo. Trong vụ dịch năm 2020 tại tỉnh Hà Giang, bốn trường hợp bệnh có tiền sử tham gia giết mổ và ăn thịt gia súc chết sau đó có các biểu hiện lâm sàng nghi ngờ bệnh than và được thu thập mẫu bệnh phẩm làm xét nghiệm, kết quả phân lập được chủng và giải trình tự được hai kiểu gen trên bốn mẫu lâm sàng. Do không phân lập được kiểu gen trên mẫu gia súc và mẫu môi trường tại thời điểm này nên sự đa dạng về di truyền này cũng là một hiện tượng đồng nhiễm trên động vật hoặc lây nhiễm từ các nguồn khác nhau, điều này cũng đã được đề cập đến trong các nghiên cứu tại Texas và Namibia bên trên, vì thế cần các nghiên cứu tiếp theo để giải thích được vấn đề này. Trong vụ dịch than tại Sơn La năm 2022 có một kiểu gen VN8 được phân lập trên cả người tham gia giết mổ và gia súc chết (hai thời điểm lấy mẫu gần nhau ngày 8/4 và 13/4/2023) và trong cùng một vụ giết mổ gia súc, điều này có thể thấy được có liên quan trong việc lây truyền bệnh than từ gia súc mắc bệnh sang người.

Sau khi tại một khu vực thôn bản tại tỉnh Hà Giang thường xuyên xảy ra các vụ dịch bệnh than qua nhiều năm liền, các nhà chính sách tại địa phương đã có kế hoạch để di chuyển hộ gia đình có ổ dịch trong nhiều năm. Tuy nhiên từ kết quả nghiên cứu về dịch tễ học, cùng số liệu di truyền thu thập được có thể thấy rằng việc di chuyển hộ gia đình ra địa bàn thôn bản khác là không hiệu quả bằng việc thực hiện chính sách tiêm vắc xin cho toàn bộ đàn gia súc hàng năm và tuyên truyền cho người dân không buôn bán và sử dụng các sản phẩm thịt gia súc chết không rõ nguyên nhân.

Từ kết quả phân tích sinh học phân tử kiểu gen các chủng *B.anthraxis* phân lập được tại Sơn La, Hà Giang và một số tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam có thể thấy rằng, các tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam vẫn là nơi có lưu hành thường xuyên bệnh than, các tác nhân gây bệnh than vẫn còn tồn tại nhiều năm trong môi trường tại các địa bàn này. Việc giám sát bệnh than trên người và động vật còn hạn chế dẫn đến bỏ sót các trường hợp bệnh trên người và trên gia súc hàng năm.

Hạn chế của nghiên cứu: Các trường hợp bệnh than hầu hết được báo cáo ở các vùng nông thôn phía Bắc Việt Nam, đây là các tỉnh miền núi có địa hình khó khăn trong việc đi lại điều tra, lấy mẫu và báo cáo khiến cho việc điều tra dịch tễ học và lấy mẫu rộng rãi là không thể thực hiện được đầy đủ và thường xuyên. Bệnh than ở những khu vực này vẫn chưa được báo cáo, nghiên cứu và hiểu biết chưa đầy đủ cả về dịch tễ học và di truyền học. Mặc dù lịch sử bệnh than đã có từ rất lâu ở Việt Nam và toàn bộ khu vực Đông Nam Á, tuy nhiên dữ liệu di truyền hiện có còn hạn chế. Bộ gen của *B.anthraxis* được đánh giá là đơn hình cao làm cho sự khác biệt về di truyền giữa các chủng khó khăn vì thế trong nghiên cứu này, phương pháp phân tích số lần lặp lại song song nhiều biến locus MLVA-25 (dựa trên 25 điểm đánh dấu) đủ đa dạng để phân biệt các chủng trong ổ dịch. Do đó, các phân tích chuyên sâu hơn bằng các phương pháp sinh học phân tử sử dụng nhiều bộ gen hơn hoặc toàn bộ bộ gen, chẳng hạn như SNP toàn bộ bộ gen (wgSNP) hoặc trình tự đa vị trí bộ gen lõi (cgMLST), không thể giải quyết thêm các phát hiện khác biệt về di truyền giữa các chủng vi khuẩn khác nhau. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu mà tính đa dạng thấp MLVA trong một ổ dịch hoặc khu vực, các sơ đồ phân loại bổ sung này có thể hữu ích để giải quyết thêm các kiểu phát sinh gen cục bộ trong kiểu gen MLVA-25.

KẾT LUẬN

1. Thực trạng bệnh than trên người, động vật và tác nhân gây bệnh ở môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010-2022

Bệnh than là bệnh lưu hành địa phương tại một số huyện của 02 tỉnh Hà Giang và Sơn La. Các ổ dịch bệnh than nhiều năm chủ yếu lưu hành tại một số huyện miền núi Mèo Vạc, Đồng Văn của Hà Giang và Thuận Châu, Quỳnh Nhai của Sơn La do sự tồn tại của mầm bệnh tại môi trường.

Bệnh xuất hiện ở hầu hết các tháng trong năm, tập trung nhiều từ tháng 7 đến tháng 9. Tuổi mắc bệnh chiếm tỷ lệ cao ở nhóm dưới 5 tuổi, 26 - 30 tuổi và nhóm 31 - 35 tuổi (lần lượt là 13,1%, 19,2%, 12,1%). Bệnh gặp nhiều ở nam giới hơn nữ giới (75,8% và 24,2%). Biểu hiện lâm sàng chủ yếu là thể da (98%). Tỷ lệ chết/mắc thấp (2,02%), chỉ có 02 trường hợp mắc thể hô hấp và tiêu hoá đều tử vong.

Có một tỷ lệ thấp gia súc mắc bệnh than được phát hiện tại các ổ dịch trên người (15 mẫu dương tính giai đoạn năm 2010-2022). Động vật mắc bệnh than chủ yếu là trâu, bò và dê.

Có sự tồn tại của vi khuẩn *B. cereus* mang gen độc lực của vi khuẩn *B. anthracis* trong môi trường đất nơi giết mổ gia súc hoặc chuồng nuôi gia súc tại các khu vực ổ dịch bệnh than ở người (11 mẫu đất (4,6%) dương tính với cả 2 gen *cap/pag*).

2. Một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022

Kết quả cuối cùng của phân tích đa biến cho thấy, có 02 yếu tố nguy cơ độc lập thực sự liên quan đến mắc bệnh than bao gồm:

- Có tiền sử tiếp xúc với gia súc ốm, chết trong vòng 1 tuần trước khi mắc bệnh (aOR=27,8; 95%CI=7,7-137).
- Trực tiếp giết mổ gia súc ốm, chết trước khi mắc bệnh (aOR=5,3; 95%CI=1,4-25,7).

3. Đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn *Bacillus anthracis* phân lập được ở bệnh nhân tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022

Có sự đa dạng di truyền của các chủng vi khuẩn *B. anthracis* phát hiện được tại địa điểm nghiên cứu (gồm 15 chủng, 7 kiểu gen tại Hà Giang và Sơn La 2019-2022).

Tám chủng *B.anthraxis* tại Sơn La năm 2022 thuộc 04 kiểu gen VN8, VN9, VN10, VN11, đây là những kiểu gen mới chưa từng được phát hiện trước đây tại Việt Nam. Các chủng thu thập từ đợt dịch than năm 2022 tại Sơn La có liên quan chặt chẽ với các chủng được báo cáo ở Trung Quốc, Bangladesh và Indonesia. Các chủng này thuộc nhóm A, dòng phụ A.Br.001/002.

Bảy chủng *B.anthraxis* tại Hà Giang năm 2019, 2020 thuộc 03 kiểu gen VN1, VN2, VN3, có đặc điểm di truyền tương tự như các chủng phân lập được ở các địa phương khác của Việt Nam trong nhiều năm qua và giống với các chủng ở Ý, tây bắc Mỹ và Nga. Các chủng này cũng thuộc nhóm A, dòng phụ A.Br.011/009.

KHUYẾN NGHỊ

1. Đối với ngành y tế

Tăng cường công tác giám sát và phòng chống dịch bệnh than ở người, đặc biệt tại các địa phương có lưu hành bệnh than để phát hiện sớm và xử lý triệt để ổ dịch, giảm số ca mắc mới.

Thường xuyên tập huấn, hỗ trợ cho nhân viên y tế tại các địa phương có dịch bệnh lưu hành để nâng cao kiến thức cho cán bộ trong giám sát, xử lý ổ dịch cũng như chẩn đoán, điều trị bệnh than ở người.

Tiếp tục thực hiện những nghiên cứu với qui mô lớn hơn, đánh giá toàn diện hơn các yếu tố nguy cơ và nguồn gốc tác nhân các vụ dịch than (đặc điểm về yếu tố lây nhiễm từ môi trường).

2. Đối với ngành thú y

Tăng cường công tác giám sát và phòng chống dịch bệnh than (nhiệt thán) trên đàn gia súc, đặc biệt tại các khu vực lưu hành bệnh than ở động vật để phát hiện và dự phòng sớm bệnh lây bệnh từ động vật sang người.

Đẩy mạnh tiêm vắc xin phòng chống bệnh than cho đàn gia súc tại những địa phương đã, đang và có nguy cơ xảy ra ổ dịch than.

Phối hợp chặt chẽ liên ngành y tế và thú y trong công tác giám sát và phòng chống bệnh truyền nhiễm lây truyền từ động vật sang người trong đó có bệnh than trong khuôn khổ “Một sức khoẻ”.

3. Đối với các địa phương có dịch bệnh lưu hành

Tăng cường truyền thông cho người dân đặc biệt tại những địa phương lưu hành bệnh than về đặc điểm của bệnh cũng như các biện pháp phòng chống để người dân hiểu, nhận thức được mức nguy hiểm của bệnh và chủ động trong công tác phòng chống bệnh than cho mỗi cá nhân cũng như cho cộng đồng.

Hướng dẫn, vận động người dân thay đổi một số thói quen sinh hoạt, hành vi nguy cơ mắc bệnh than đặc biệt là việc hạn chế tiếp xúc với động vật khi không cần thiết và tuyệt đối không buôn bán; vận chuyển; giết mổ; ăn thịt động vật ốm, chết nói chung và động vật ốm chết nghi mắc bệnh than nói riêng.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ
CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Phạm Văn Khang, Trần Như Dương, Phạm Quang Thái và cộng sự (2023). Thực trạng bệnh than trên người, động vật và môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2010 - 2022. *Tạp chí Y học dự phòng*, 33(1): 48 - 57.
2. Pham Van Khang, Dang Duc Anh, Hoang Thi Thu Ha, et al (2023). Some risk factors of human anthrax disease: A case - control study in Ha Giang and Son La provinces, Vietnam, 2019 - 2022. *Vietnam journal of preventive medicine*, 33 (3): 7 - 13.
3. Morgan C. Metrailler, Thi Thu Ha Hoang, Treenate Jiranantasak, Tan Luong, Quang Thai Pham, Van Khang Pham, et al (2023). Spatial and phylogenetic patterns reveal hidden infection sources of *Bacillus anthracis* in an anthrax outbreak in Son La province, Vietnam. *Infection, Genetics and Evolution*, 114 (2023): 1 - 12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Báo điện tử Sơn La (2022), *Sơn La khoanh vùng, dập dịch nhiệt than trên gia súc*, truy cập ngày 26/04/2022, tại trang web <https://vov.gov.vn/son-la-khoanh-vung-dap-dich-nhiet-than-tren-gia-suc-dtnew-380256>.
2. Abram S. Benenson (1997), *Sổ tay kiểm soát các bệnh truyền nhiễm*, Nhà xuất bản Y học, Nhà xuất bản Y học.
3. Bộ Y tế (2015), Thông tư 54 Hướng dẫn chế độ thông tin báo cáo và khai báo bệnh, dịch bệnh truyền nhiễm, Bộ Y tế, chủ biên, Bộ Y tế.
4. Bộ y tế (2017), Ban hành bộ tiêu chí ứng dụng công nghệ thông tin tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, Bộ y tế, chủ biên.
5. Bộ Y tế (2017), HƯỚNG DẪN GIÁM SÁT VÀ PHÒNG, CHỐNG BỆNH THAN TRÊN NGƯỜI, Bộ Y tế, chủ biên.
6. Bộ Y tế (2018), Hướng dẫn giám sát dựa vào sự kiện, Bộ Y tế, chủ biên, Bộ Y tế.
7. Cục Y tế Dự phòng (2016), *Bệnh Than*, truy cập ngày, tại trang web <http://vncdc.gov.vn/vi/danh-muc-benh-truyen-nhiem/1097/benh-than>.
8. Trần Như Dương và Phạm Thị Cẩm Hà (2012), "Một số đặc điểm dịch tễ học bệnh than ở người, miền Bắc Việt Nam, 2006-2011.", *Tạp chí Y học dự phòng*. XXII, 2012(2 (128)), tr. 14 – 23.
9. Trần Như Dương, Nguyễn Trần Hiền, Phạm Thị Cẩm Hà, và cộng sự, (2015), "Tình hình bệnh truyền nhiễm tại miền Bắc Việt Nam, giai đoạn 2000-2014", *Tạp chí Y học dự phòng*. XXV(8(168)), tr. 21-30.
10. Nguyễn Trần Hiền và Hoàng Thị Thu Hà (2016), *Sách Bệnh than: dịch tễ, lâm sàng và chẩn đoán phòng thí nghiệm* Nhà xuất bản Y học, Nhà xuất bản Y học.

Tiếng Anh

11. A. Brandes Ammann and H. Brandl (2007), "[Anthrax in the canton of Zurich between 1878 and 2005]", *Schweiz Arch Tierheilkd.* 149(7), tr. 295-300.
12. A. Abbara, T. Brooks, G. P. Taylor, et al, (2014), "Lessons for control of heroin-associated anthrax in Europe from 2009-2010 outbreak case studies, London, UK", *Emerg Infect Dis.* 20(7), tr. 1115-22.
13. E. Afgan, D. Baker, B. Batut, et al, (2018), "The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update", *Nucleic Acids Res.* 46(W1), tr. W537-w544.
14. A. M. Aikembayev, L. Lukhnova, G. Temiraliyeva, et al, (2010), "Historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan", *Emerg Infect Dis.* 16(5), tr. 789-96.
15. M. E. Alam, M. M. Kamal, M. Rahman, et al, (2022), "Review of anthrax: A disease of farm animals", *J Adv Vet Anim Res.* 9(2), tr. 323-334.
16. K. A. Alexander, B. L. Lewis, M. Marathe, et al, (2012), "Modeling of wildlife-associated zoonoses: applications and caveats", *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12(12), tr. 1005-18.
17. O. R. Aminu, T. L. Forde, D. Ekwem, et al, (2022), "Participatory mapping identifies risk areas and environmental predictors of endemic anthrax in rural Africa", *Sci Rep.* 12(1), tr. 10514.
18. B. Amiri, E. Ghaderi, P. Mohamadi, et al, (2021), "Geographical distribution of Anthrax using Geographic Information System (GIS) during 2010-2015 in Iran", *Med J Islam Repub Iran.* 35, tr. 36.
19. S Andrew (2010), FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Babraham Bioinformatics, chủ biên.

20. E. Bagge, M. Persson and K. E. Johansson (2010), "Diversity of spore-forming bacteria in cattle manure, slaughterhouse waste and samples from biogas plants", *J Appl Microbiol.* 109(5), tr. 1549-65.
21. M. E. Bales, A. L. Dannenberg, P. S. Brachman, et al, (2002), "Epidemiologic response to anthrax outbreaks: field investigations, 1950-2001", *Emerg Infect Dis.* 8(10), tr. 1163-74.
22. A. Bankevich, S. Nurk, D. Antipov, et al, (2012), "SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing", *J Comput Biol.* 19(5), tr. 455-77.
23. A. S. Barro, M. Fegan, B. Moloney, et al, (2016), "Redefining the Australian Anthrax Belt: Modeling the Ecological Niche and Predicting the Geographic Distribution of *Bacillus anthracis*", *PLoS Negl Trop Dis.* 10(6), tr. e0004689.
24. N. Baykam, O. Ergonul, A. Ulu, et al, (2009), "Characteristics of cutaneous anthrax in Turkey", *J Infect Dev Ctries.* 3(8), tr. 599-603.
25. W. Bazeyo, L. Lukwago, J. Wamala, et al, (2009), "Suspected outbreak of cutaneous anthrax in Kasese district, the investigation and response, April to May 2007", *East Afr J Public Health.* 6(3), tr. 235-9.
26. T. Berger, M. Kassirer and A. A. Aran (2014), "Injectional anthrax - new presentation of an old disease", *Euro Surveill.* 19(32).
27. W. Beyer, S. Bellan, G. Eberle, et al, (2012), "Distribution and molecular evolution of *Bacillus anthracis* genotypes in Namibia", *PLoS Negl Trop Dis.* 6(3), tr. e1534.
28. W. Beyer and P. C. Turnbull (2009), "Anthrax in animals", *Mol Aspects Med.* 30(6), tr. 481-9.

29. W. Beyer and P. C. Turnbull (2013), "Co-infection of an animal with more than one genotype can occur in anthrax", *Lett Appl Microbiol.* 57(4), tr. 380-4.
30. P. K. Biswas, M. Z. Islam, S. K. Shil, et al, (2012), "Risk factors associated with anthrax in cattle on smallholdings", *Epidemiol Infect.* 140(10), tr. 1888-95.
31. J. K. Blackburn, M. Van Ert, J. C. Mullins, et al, (2014), "The necrophagous fly anthrax transmission pathway: empirical and genetic evidence from wildlife epizootics", *Vector Borne Zoonotic Dis.* 14(8), tr. 576-83.
32. Jason K. Blackburn, Holly H. Ganz, José Miguel Ponciano, et al, (2019), "Modeling R0 for Pathogens with Environmental Transmission: Animal Movements, Pathogen Populations, and Local Infectious Zones", *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 16(6), tr. 954.
33. A. M. Bolger, M. Lohse and B. Usadel (2014), "Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data", *Bioinformatics.* 30(15), tr. 2114-20.
34. M. M. Brett, J. Hood, J. S. Brazier, et al, (2005), "Soft tissue infections caused by spore-forming bacteria in injecting drug users in the United Kingdom", *Epidemiol Infect.* 133(4), tr. 575-82.
35. C. J. Carlson, W. M. Getz, K. L. Kausrud, et al, (2018), "Spores and soil from six sides: interdisciplinarity and the environmental biology of anthrax (*Bacillus anthracis*)", *Biol Rev Camb Philos Soc.* 93(4), tr. 1813-1831.

36. C. J. Carlson, I. T. Kracalik, N. Ross, et al, (2019), "The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife", *Nat Microbiol.* 4(8), tr. 1337-1343.
37. T. Carter (2004), "The dissemination of anthrax from imported wool: Kidderminster 1900-14", *Occup Environ Med.* 61(2), tr. 103-7.
38. A. Chakraborty, S. U. Khan, M. A. Hasnat, et al, (2012), "Anthrax outbreaks in Bangladesh, 2009-2010", *Am J Trop Med Hyg.* 86(4), tr. 703-10.
39. J. Chambers, S. N. S. Yarrarapu and J. K. Mathai (2022), "Anthrax Infection", *StatPearls*, StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC., Treasure Island (FL).
40. L. Chambon and J. Dutrenit (1955), "[Note on a human epidemic of anthrax with two cases of anthrax meningitis]", *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* 48(4), tr. 544-52.
41. W. J. Chen, S. J. Lai, Y. Yang, et al, (2016), "Mapping the Distribution of Anthrax in Mainland China, 2005-2013", *PLoS Negl Trop Dis.* 10(4), tr. e0004637.
42. A. Chiaverini, M. Y. Abdel-Glil, J. Linde, et al, (2020), "Whole Genome Sequencing for Studying *Bacillus anthracis* from an Outbreak in the Abruzzo Region of Italy", *Microorganisms.* 8(1).
43. C. A. Cizauskas, S. E. Bellan, W. C. Turner, et al, (2014), "Frequent and seasonally variable sublethal anthrax infections are accompanied by short-lived immunity in an endemic system", *J Anim Ecol.* 83(5), tr. 1078-90.
44. A. L. Delcher, A. Phillippy, J. Carlton, et al, (2002), "Fast algorithms for large-scale genome alignment and comparison", *Nucleic Acids Res.* 30(11), tr. 2478-83.

45. M. Driciru, I. B. Rwego, S. A. Ndimuligo, et al, (2020), "Environmental determinants influencing anthrax distribution in Queen Elizabeth Protected Area, Western Uganda", *PLoS One*. 15(8), tr. e0237223.
46. A. Driks (2009), "The Bacillus anthracis spore", *Mol Aspects Med*. 30(6), tr. 368-73.
47. W. R. Easterday, J. M. Ponciano, J. P. Gomez, et al, (2020), "Coalescence modeling of intrainfection Bacillus anthracis populations allows estimation of infection parameters in wild populations", *Proc Natl Acad Sci U S A*. 117(8), tr. 4273-4280.
48. T. Epp, C. Waldner and C. K. Argue (2010), "Case-control study investigating an anthrax outbreak in Saskatchewan, Canada--Summer 2006", *Can Vet J*. 51(9), tr. 973-8.
49. A. Fasanella, P. Di Taranto, G. Garofolo, et al, (2013), "Ground Anthrax Bacillus Refined Isolation (GABRI) method for analyzing environmental samples with low levels of Bacillus anthracis contamination", *BMC Microbiol*. 13, tr. 167.
50. A. Fasanella, S. Scasciamacchia, G. Garofolo, et al, (2010), "Evaluation of the house fly *Musca domestica* as a mechanical vector for an anthrax", *PLoS One*. 5(8), tr. e12219.
51. E. J. Finke, W. Beyer, U. Loderstädt, et al, (2020), "Review: The risk of contracting anthrax from spore-contaminated soil - A military medical perspective", *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 10(2), tr. 29-63.
52. D. H. Gameda, A. G. Sime, K. W. Hajito, et al, (2016), "Health Care Providers' Knowledge and Practice Gap towards Joint Zoonotic Disease Surveillance System: Challenges and Opportunities, Gomma District, Southwest Ethiopia", *Biomed Res Int*. 2016, tr. 3942672.

53. N. T. Gombe, B. M. Nkomo, A. Chadambuka, et al, (2010), "Risk factors for contracting anthrax in Kuwirirana ward, Gokwe North, Zimbabwe", *Afr Health Sci.* 10(2), tr. 159-64.
54. T. Hamutyinei Dhliwayo, P. Chonzi, C. Madembo, et al, (2022), "Anthrax outbreak investigation in Tengwe, Mashonaland West Province, Zimbabwe, 2022", *PLoS One.* 17(12), tr. e0278537.
55. M. Hanczaruk, U. Reischl, T. Holzmann, et al, (2014), "Injectional anthrax in heroin users, Europe, 2000-2012", *Emerg Infect Dis.* 20(2), tr. 322-3.
56. T. T. H. Hoang, D. A. Dang, T. H. Pham, et al, (2020), "Epidemiological and comparative genomic analysis of *Bacillus anthracis* isolated from northern Vietnam", *PLoS One.* 15(2), tr. e0228116.
57. T. Holzmann, D. Frangoulidis, M. Simon, et al, (2012), "Fatal anthrax infection in a heroin user from southern Germany, June 2012", *Euro Surveill.* 17(26).
58. V. D. Hope, N. Palmateer, L. Wiessing, et al, (2012), "A decade of spore-forming bacterial infections among European injecting drug users: pronounced regional variation", *Am J Public Health.* 102(1), tr. 122-5.
59. J. L. Hu, L. L. Cui, C. J. Bao, et al, (2016), "Source and risk factors of a cutaneous anthrax outbreak, Jiangsu, Eastern China, 2012", *Epidemiol Infect.* 144(12), tr. 2672-8.
60. M. Hugh-Jones and J. Blackburn (2009), "The ecology of *Bacillus anthracis*", *Mol Aspects Med.* 30(6), tr. 356-67.

61. J. S. Hundal, S. S. Sodhi, A. Gupta, et al, (2016), "Awareness, knowledge, and risks of zoonotic diseases among livestock farmers in Punjab", *Vet World*. 9(2), tr. 186-91.
62. L. M. Ireng, B. Bearzatto, J. Ambroise, et al, (2020), "Complete Genome Sequence of an Environmental *Bacillus cereus* Isolate Belonging to the *Bacillus anthracis* Clade", *Microbiol Resour Announc*. 9(47).
63. M. S. Islam, S. M. M. Hasan, J. S. Salzer, et al, (2021), "Human exposures to by-products from animals suspected to have died of anthrax in Bangladesh: An exploratory study", *Transbound Emerg Dis*. 68(4), tr. 2514-2520.
64. M. S. Islam, M. J. Hossain, A. Mikolon, et al, (2013), "Risk practices for animal and human anthrax in Bangladesh: an exploratory study", *Infect Ecol Epidemiol*. 3.
65. Dorjee J, Wangdi K, Dakpa D, et al, (2017), "Anthrax in East-Central Bhutan: knowledge, perceptions and practices of rural communities", *Bhutan Journal of Animal Science*. 1(1), tr. 42-46.
66. M. R. Johari (2002), "Anthrax - Biological Threat in the 21(st) Century", *Malays J Med Sci*. 9(1), tr. 1-2.
67. K. John, R. Kazwala and G. S. Mfinanga (2008), "Knowledge of causes, clinical features and diagnosis of common zoonoses among medical practitioners in Tanzania", *BMC Infect Dis*. 8, tr. 162.
68. S. M. Kamal, A. K. Rashid, M. A. Bakar, et al, (2011), "Anthrax: an update", *Asian Pac J Trop Biomed*. 1(6), tr. 496-501.
69. A. Kasradze, D. Echeverria, K. Zakhshvili, et al, (2018), "Rates and risk factors for human cutaneous anthrax in the country of Georgia: National surveillance data, 2008-2015", *PLoS One*. 13(2), tr. e0192031.

70. A. F. Kaufmann and A. L. Dannenberg (2002), "Age as a risk factor for cutaneous human anthrax: evidence from Haiti, 1973-1974", *Emerg Infect Dis.* 8(8), tr. 874-5.
71. P. Keim, L. B. Price, A. M. Klevytska, et al, (2000), "Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*", *J Bacteriol.* 182(10), tr. 2928-36.
72. D. Knox, G. Murray, M. Millar, et al, (2011), "Subcutaneous anthrax in three intravenous drug users: a new clinical diagnosis", *J Bone Joint Surg Br.* 93(3), tr. 414-7.
73. R. Kock, N. Haider, L. E. Mboera, et al, (2019), "A One-Health lens for anthrax", *Lancet Planet Health.* 3(7), tr. e285-e286.
74. I. Kracalik, R. Abdullayev, K. Asadov, et al, (2014), "Changing patterns of human anthrax in Azerbaijan during the post-Soviet and preemptive livestock vaccination eras", *PLoS Negl Trop Dis.* 8(7), tr. e2985.
75. I. Kracalik, L. Malaria, P. Imnadze, et al, (2015), "Human Anthrax Transmission at the Urban-Rural Interface, Georgia", *Am J Trop Med Hyg.* 93(6), tr. 1156-1159.
76. I. T. Kracalik, J. K. Blackburn, L. Lukhnova, et al, (2012), "Analysing the spatial patterns of livestock anthrax in Kazakhstan in relation to environmental factors: a comparison of local (Gi*) and morphology cluster statistics", *Geospat Health.* 7(1), tr. 111-26.
77. I. T. Kracalik, L. Malaria, N. Tsertsvadze, et al, (2013), "Evidence of local persistence of human anthrax in the country of Georgia associated with environmental and anthropogenic factors", *PLoS Negl Trop Dis.* 7(9), tr. e2388.
78. Thomas W Lavender and Brendan McCarron (2013), "Acute infections in intravenous drug users", *Clinical Medicine.* 13(5), tr. 511-513.
79. P. Le Flèche, Y. Hauck, L. Onteniente, et al, (2001), "A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*", *BMC Microbiol.* 1, tr. 2.

80. T. A. Leski, C. C. Caswell, M. Pawlowski, et al, (2009), "Identification and classification of bcl genes and proteins of Bacillus cereus group organisms and their application in Bacillus anthracis detection and fingerprinting", *Appl Environ Microbiol.* 75(22), tr. 7163-72.
81. Y. Li, W. Yin, M. Hugh-Jones, et al, (2017), "Epidemiology of Human Anthrax in China, 1955-2014", *Emerg Infect Dis.* 23(1), tr. 14-21.
82. F. Lista, G. Faggioni, S. Valjevac, et al, (2006), "Genotyping of Bacillus anthracis strains based on automated capillary 25-loci multiple locus variable-number tandem repeats analysis", *BMC Microbiol.* 6, tr. 33.
83. T. Luong, T. T. Nguyen, V. B. Trinh, et al, (2023), "Informing One Health Anthrax Surveillance and Vaccination Strategy from Spatial Analysis of Anthrax in Humans and Livestock in Ha Giang Province, Vietnam (1999-2020)", *Am J Trop Med Hyg.*
84. M. Mehlman (2019), "Bioethics of military performance enhancement", *J R Army Med Corps.* 165(4), tr. 226-231.
85. M. C. Metrailler, T. T. H. Hoang, T. Jiranantasak, et al, (2023), "Spatial and phylogenetic patterns reveal hidden infection sources of Bacillus anthracis in an anthrax outbreak in Son La province, Vietnam", *Infect Genet Evol.* 114, tr. 105496.
86. A. Mikheenko, A. Prjibelski, V. Saveliev, et al, (2018), "Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG", *Bioinformatics.* 34(13), tr. i142-i150.
87. M. N. Mongoh, N. W. Dyer, C. L. Stoltenow, et al, (2008), "Risk factors associated with anthrax outbreak in animals in North Dakota, 2005: a retrospective case-control study", *Public Health Rep.* 123(3), tr. 352-9.

88. J. Muller, I. Mohammad, S. Warner, et al, (2020), "Genetic Diversity of Australian *Bacillus anthracis* Isolates Revealed by Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis", *Microorganisms*. 8(6).
89. J. C. Mullins, M. Van Ert, T. Hadfield, et al, (2015), "Spatio-temporal patterns of an anthrax outbreak in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*, and associated genetic diversity of *Bacillus anthracis*", *BMC Ecol*. 15, tr. 23.
90. H. M. Munang'andu, F. Banda, V. M. Siamudaala, et al, (2012), "The effect of seasonal variation on anthrax epidemiology in the upper Zambezi floodplain of western Zambia", *J Vet Sci*. 13(3), tr. 293-8.
91. E. R. Mwakapeje, S. Høgset, A. Softic, et al, (2018), "Risk factors for human cutaneous anthrax outbreaks in the hotspot districts of Northern Tanzania: an unmatched case-control study", *R Soc Open Sci*. 5(9), tr. 180479.
92. A. Navdarashvili, T. J. Doker, M. Geleishvili, et al, (2016), "Human anthrax outbreak associated with livestock exposure: Georgia, 2012", *Epidemiol Infect*. 144(1), tr. 76-87.
93. P. Nayak, S. V. Sodha, K. F. Laserson, et al, (2019), "A cutaneous Anthrax outbreak in Koraput District of Odisha-India 2015", *BMC Public Health*. 19(Suppl 3), tr. 470.
94. V. O. Omballa, R. N. Musyoka, A. Y. Vittor, et al, (2016), "Serologic Evidence of the Geographic Distribution of Bacterial Zoonotic Agents in Kenya, 2007", *Am J Trop Med Hyg*. 94(1), tr. 43-51.
95. N. E. Palmateer, V. D. Hope, K. Roy, et al, (2013), "Infections with spore-forming bacteria in persons who inject drugs, 2000-2009", *Emerg Infect Dis*. 19(1), tr. 29-34.

96. N. E. Palmateer, C. N. Ramsay, L. Browning, et al, (2012), "Anthrax infection among heroin users in Scotland during 2009-2010: a case-control study by linkage to a national drug treatment database", *Clin Infect Dis.* 55(5), tr. 706-10.
97. Norah E. Palmateer, Colin N. Ramsay, Lynda Browning, et al, (2012), "Anthrax Infection Among Heroin Users in Scotland During 2009–2010: A Case-Control Study by Linkage to a National Drug Treatment Database", *Clinical Infectious Diseases.* 55(5), tr. 706-710.
98. B. J. Parcell, A. D. Wilmshurst, A. J. France, et al, (2011), "Injection anthrax causing compartment syndrome and necrotising fasciitis", *J Clin Pathol.* 64(1), tr. 95-6.
99. N. D. Pattengale, M. Alipour, O. R. Bininda-Emonds, et al, (2010), "How many bootstrap replicates are necessary?", *J Comput Biol.* 17(3), tr. 337-54.
100. T. Pearson, R. T. Okinaka, J. T. Foster, et al, (2009), "Phylogenetic understanding of clonal populations in an era of whole genome sequencing", *Infect Genet Evol.* 9(5), tr. 1010-9.
101. A. G. Powell, J. E. Crozier, H. Hodgson, et al, (2011), "A case of septicaemic anthrax in an intravenous drug user", *BMC Infect Dis.* 11, tr. 21.
102. Center for Disease Control and Prevention *Guide to Understanding Anthrax*, truy cập ngày, tại trang web <https://www.cdc.gov/anthrax/basics/>.
103. Centers for Disease Control and Prevention (2019), *Who Is At Risk / Anthrax* truy cập ngày accessed 10 March 2019, tại trang web <https://www.cdc.gov/anthrax/risk/index.html>.

104. E. P. Price, M. L. Seymour, D. S. Sarovich, et al, (2012), "Molecular epidemiologic investigation of an anthrax outbreak among heroin users, Europe", *Emerg Infect Dis.* 18(8), tr. 1307-13.
105. S. Rao, R. Traxler, T. Napetavaridze, et al, (2019), "Risk factors associated with the occurrence of anthrax outbreaks in livestock in the country of Georgia: A case-control investigation 2013-2015", *PLoS One.* 14(5), tr. e0215228.
106. T. K. Ray, Y. J. Hutin and M. V. Murhekar (2009), "Cutaneous anthrax, West Bengal, India, 2007", *Emerg Infect Dis.* 15(3), tr. 497-9.
107. B. A. Revich and M. A. Podolnaya (2011), "Thawing of permafrost may disturb historic cattle burial grounds in East Siberia", *Glob Health Action.* 4.
108. B. Revich, N. Tokarevich and A. J. Parkinson (2012), "Climate change and zoonotic infections in the Russian Arctic", *Int J Circumpolar Health.* 71, tr. 18792.
109. F. I. Rume, C. R. Ahsan, P. K. Biswas, et al, (2016), "Unexpected genomic relationships between *Bacillus anthracis* strains from Bangladesh and Central Europe", *Infect Genet Evol.* 45, tr. 66-74.
110. F. I. Rume, M. R. Karim, C. R. Ahsan, et al, (2020), "Risk factors for bovine anthrax in Bangladesh, 2010-2014: a case-control study", *Epidemiol Infect.* 148, tr. e67.
111. L. Russell, M. Pedersen, A. V. Jensen, et al, (2013), "Two anthrax cases with soft tissue infection, severe oedema and sepsis in Danish heroin users", *BMC Infect Dis.* 13, tr. 408.
112. M. Schwartz (2009), "Dr. Jekyll and Mr. Hyde: a short history of anthrax", *Mol Aspects Med.* 30(6), tr. 347-55.

113. S. Seyed-Mohamadi, S. Moradi Bidhendi, K. Tadayon, et al, (2015), "Genetic Characterization of Bacillus anthracis 17 JB strain", *Iran J Microbiol.* 7(3), tr. 168-72.
114. M. Shakya, S. A. Ahmed, K. W. Davenport, et al, (2020), "Standardized phylogenetic and molecular evolutionary analysis applied to species across the microbial tree of life", *Sci Rep.* 10(1), tr. 1723.
115. A. Shevtsov, G. Vergnaud, A. Amirgazin, et al, (2020), "Retrospective Analysis of the Relationship between Two Anthrax Outbreaks in Kazakhstan Based on Genomic Data", *Microbiol Resour Announc.* 9(50).
116. V. M. Siamudaala, J. M. Bwalya, H. M. Munang'andu, et al, (2006), "Ecology and epidemiology of anthrax in cattle and humans in Zambia", *Jpn J Vet Res.* 54(1), tr. 15-23.
117. T. Sidwa, J. S. Salzer, R. Traxler, et al, (2020), "Control and Prevention of Anthrax, Texas, USA, 2019", *Emerg Infect Dis.* 26(12), tr. 2815-2824.
118. S. Singh, A. Singh, M. A. Aziz, et al, (2004), "Thermal inactivation of protective antigen of Bacillus anthracis and its prevention by polyol osmolytes", *Biochem Biophys Res Commun.* 322(3), tr. 1029-37.
119. D. C. Sitali, C. Mumba, E. Skjerve, et al, (2017), "Awareness and attitudes towards anthrax and meat consumption practices among affected communities in Zambia: A mixed methods approach", *PLoS Negl Trop Dis.* 11(5), tr. e0005580.
120. I. Steiner, I. Račić, S. Spičić, et al, (2013), "Genotyping of Bacillus anthracis isolated from Croatia and Bosnia and Herzegovina", *Zoonoses Public Health.* 60(3), tr. 202-8.
121. M. N. Swartz (2001), "Recognition and management of anthrax--an update", *N Engl J Med.* 345(22), tr. 1621-6.

122. D. A. Sweeney, C. W. Hicks, X. Cui, et al, (2011), "Anthrax infection", *Am J Respir Crit Care Med.* 184(12), tr. 1333-41.
123. L. M. Tan, D. N. Hung, D. T. My, et al, (2022), "Spatial analysis of human and livestock anthrax in Dien Bien province, Vietnam (2010-2019) and the significance of anthrax vaccination in livestock", *PLoS Negl Trop Dis.* 16(12), tr. e0010942.
124. S. Thierry, C. Tourterel, P. Le Flèche, et al, (2014), "Genotyping of French *Bacillus anthracis* strains based on 31-loci multi locus VNTR analysis: epidemiology, marker evaluation, and update of the internet genotype database", *PLoS One.* 9(6), tr. e95131.
125. V. Timofeev, I. Bahtejeva, R. Mironova, et al, (2019), "Insights from *Bacillus anthracis* strains isolated from permafrost in the tundra zone of Russia", *PLoS One.* 14(5), tr. e0209140.
126. Z. Ting-Lu, C. Liang-Liang, L. Li, et al, (2012), "Investigation of an outbreak of cutaneous anthrax in Banlu village, Lianyungang, China, 2012", *Western Pac Surveill Response J.* 3(4), tr. 12-5.
127. Hoang TTH, Dang DA, Pham TH, et al, (2020), "Epidemiological and comparative genomic analysis of *Bacillus anthracis* isolated from northern Vietnam", *PLoS ONE* 15(2): e0228116.
128. M. N. Van Ert, W. R. Easterday, L. Y. Huynh, et al, (2007), "Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*", *PLoS One.* 2(5), tr. e461.
129. G. Vergnaud, Y. Hauck, D. Christiany, et al, (2018), "Genotypic Expansion Within the Population Structure of Classical *Brucella* Species Revealed by MLVA16 Typing of 1404 *Brucella* Isolates From Different Animal and Geographic Origins, 1974-2006", *Front Microbiol.* 9, tr. 1545.

130. B. J. Walker, T. Abeel, T. Shea, et al, (2014), "Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement", *PLoS One*. 9(11), tr. e112963.
131. "WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee" (2008), *Anthrax in Humans and Animals*, World Health Organization Copyright © World Health Organization 2008., Geneva.
132. C. W. Woods, K. Ospanov, A. Myrzabekov, et al, (2004), "Risk factors for human anthrax among contacts of anthrax-infected livestock in Kazakhstan", *Am J Trop Med Hyg*. 71(1), tr. 48-52.
133. World Organisation for Animal Health World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2008), "Anthrax in humans and animals: Fourth Edition".
134. Alyse G. Wurcel, Elisabeth A. Merchant, Roger P. Clark, et al, (2015), "Emerging and Underrecognized Complications of Illicit Drug Use", *Clinical Infectious Diseases*. 61(12), tr. 1840-1849.
135. A. Yang, J. C. Mullins, M. Van Ert, et al, (2020), "Predicting the Geographic Distribution of the Bacillus anthracis A1.a/Western North American Sub-Lineage for the Continental United States: New Outbreaks, New Genotypes, and New Climate Data", *Am J Trop Med Hyg*. 102(2), tr. 392-402.
136. E. Zhang, H. Zhang, J. He, et al, (2020), "Genetic diversity of Bacillus anthracis Ames lineage strains in China", *BMC Infect Dis*. 20(1), tr. 140.
137. H. Zhang, E. Zhang, M. Guo, et al, (2022), "Epidemiological Characteristics of Human Anthrax - China, 2018-2021", *China CDC Wkly*. 4(35), tr. 783-787.

138. D. Zincke, M. H. Norris, O. Cruz, et al, (2020), "TaqMan Assays for Simultaneous Detection of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* biovar anthracis", *Pathogens*. 9(12).
139. T. Zorigt, S. Ito, N. Isoda, et al, (2021), "Risk factors and spatio-temporal patterns of livestock anthrax in Khuvsgul Province, Mongolia", *PLoS One*. 16(11), tr. e0260299.
140. E. M. Zhang, H. J. Zhang, J. R. He, et al, (2022), "[Analysis of epidemic characteristics of anthrax in China from 2017 to 2019 and molecular typing of *Bacillus anthracis*]", *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 56(4), tr. 422-426.
141. WHO Regional office for Africa (2011), *Anthrax outbreak (situation as of September 4, 2011)*, truy cập ngày, tại trang web <http://www.afro.who.int/en/clusters-a-programmes/dpc/epidemic-a-pandemic-alert-and-response/outbreak-news/3294-zambia-anthrax-outbreak-situation-as-of-september-4-2011.html>.
142. H. Brangsch, A. Golovko, N. Pinchuk, et al, (2022), "Molecular Typing of Ukrainian *Bacillus anthracis* Strains by Combining Whole-Genome Sequencing Techniques", *Microorganisms*. 10, tr. 461.
143. Colin J. Carlson, Ian T. Kracalik, Noam Ross, et al, (2019), "The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife", *Nature Microbiology*. 4(8), tr. 1337-1343.
144. CDC (2020), *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 6th Edition*, truy cập ngày-2020, tại trang web <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.
145. Alexandra Chiaverini, Mostafa Y. Abdel-Glil, Jörg Linde, et al, (2020), "Whole Genome Sequencing for Studying *Bacillus anthracis* from an Outbreak in the Abruzzo Region of Italy", *Microorganisms*. 8(1), tr. 87.

146. Hoàng Thị Thu Hà, Satoshi Ionue, Akiko Okutani, et al, (2012), "PCR chẩn đoán nhanh, chính xác vi khuẩn *Bacillus Anthracis* trực tiếp từ bệnh phẩm lâm sàng và môi trường", *Tạp chí Y học dự phòng*. 8(135), tr. 155-163.
147. Quốc hội nước cộng hoà xã hội chủ nghĩa Việt Nam (2007), Luật Phòng, chống bệnh truyền nhiễm 2007, chủ biên.
148. Food and Agricultural Organization of the United Nations (2016), *Asses- sing the Implementation of Circular 16 in Viet Nam: One Health Guidelines for Coordinated Prevention and Control of Zoonotic Disease*, truy cập ngày, tại trang web <https://www.fao.org/publications/card/en/c/66c874c6-43d6-4483-897e-693198e9324a/>.
149. CDC/USDA Federal Select Agent Program (2021), *Select Agents and Toxins List*, truy cập ngày, tại trang web <https://www.selectagents.gov/sat/list.htm>.
150. N Saitou and M Nei (1987), "The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees", *Molecular Biology and Evolution*. 4(4), tr. 406-425.
151. Alexandros Stamatakis (2014), "RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies", *Bioinformatics*. 30(9), tr. 1312-1313.
152. Todd J. Treangen, Brian D. Ondov, Sergey Koren, et al, (2014), "Rapid Core-Genome Alignment and Visualization for Thousands of Intraspecific Microbial Genomes", *bioRxiv*, tr. 007351.
153. Agriculture Victoria (2023), *Anthrax in animals*, truy cập ngày 01/8/2023, tại trang web <https://agriculture.vic.gov.au/biosecurity/animal-diseases/important-animal-diseases/anthrax-in-animals#:~:text=Anthrax%20is%20an%20infectious%20bacterial,livestock%2C%20particularly%20cattle%20and%20sheep>.

154. Who (2003), *Manual of laboratory of Anthrax*, tại trang web https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/97503/9789241547536_eng.pdf.
155. WHO Regional office for Africa. Zambia (2011), *Anthrax outbreak (situation as of September 4, 2011)*, truy cập ngày, tại trang web <http://www.afro.who.int/en/clusters-a-programmes/dpc/epidemic-a-pandemic-alert-and-response/outbreak-news/3294-zambia-anthrax-outbreak-situation-as-of-september-4-2011.html>.

PHỤ LỤC 1: THU THẬP, BẢO QUẢN, VẬN CHUYỂN MẪU

THƯỜNG QUI THU THẬP MẪU BỆNH PHẨM THAN TẠI TRUNG TÂM Y TẾ XÃ/HUYỆN/TỈNH

1. Mục đích

- Thực hiện thao tác lấy mẫu đảm bảo yêu cầu an toàn cho người lấy, mẫu bệnh phẩm môi trường
- Lấy mẫu để chẩn đoán tác nhân gây bệnh, đánh giá mức độ lây nhiễm của bệnh.

2. Áp dụng

- Cho các cán bộ, nhân viên y tế tham gia nghiên cứu, chẩn đoán vi khuẩn than

3. Yêu cầu

3.1. Đối với các cán bộ y tế

- Có kiến thức về bệnh than và vi khuẩn gây bệnh than như: các đặc điểm vi sinh học, khả năng gây bệnh, đường lây truyền, kỹ thuật chẩn đoán và các nguy cơ lây nhiễm bệnh trong phòng thí nghiệm
- Đã được đào tạo kiến thức và thực hành về lấy mẫu bệnh phẩm trên người, động vật và môi trường (có chứng chỉ của Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương hoặc tương đương)
- Có kiến thức về ATSH hoặc được đào tạo, cấp chứng chỉ về ATSH (chứng chỉ của Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương hoặc tương đương)
- Sức khỏe tốt và được kiểm tra sức khỏe định kỳ (có hồ sơ lưu trữ tại cơ quan)

3.2. Các trang thiết bị cần thiết

- Bộ dụng cụ lấy mẫu bao gồm
 - + Kẹp, dao, kéo, thìa vô trùng
 - + Bơm tiêm 5ml để lấy mẫu máu

- + Hộp đựng đồ sắc nhọn
- + Bông, cùn sát trùng
- + Tấm bông vô trùng (loại rời hoặc loại có trong ống nghiệm)
- + Lọ đựng phân, đờm, dịch tiêu hóa, đất (100gr)
- + Ống nghiệm (5ml hoặc 10ml), ống nghiệm có tấm bông vô trùng
- + Giá để ống nghiệm
- + Hộp cất mẫu, có túi bọc ngoài.
- + Băng dính, nhãn dán, bút viết không xóa.
- + Túi nilon có khóa kích thước 40x30cm hoặc 20x20 cm
- + Dung dịch sát khuẩn: Cloramin B 5% hoặc NaClO 0,5%
- + Nước cất vô trùng
- + Ống nghiệm đựng môi trường vận chuyển mẫu: Môi trường Cary-Blair
- PPE
- Các mẫu điền thông tin bệnh phẩm WI BP-0109.1

4. Tài liệu tham khảo:

- Kỹ thuật xét nghiệm Y sinh học. Nhà xuất bản giáo dục. 1991. Hà Nội
- Tài liệu chẩn đoán vi khuẩn than - WHO
- Tài liệu chẩn đoán vi khuẩn than - CDC
- Quy định an toàn sinh học của NIHE, 2007
- Cẩm nang về an toàn sinh học trong phòng thí nghiệm của WHO. Tái bản lần 3. 2004.

5. Nội dung

5.1. Lấy bệnh phẩm lâm sàng

a. Bệnh phẩm trên người

Lưu ý: nên lấy bệnh phẩm trước khi điều trị

(1) Mặc áo phòng thí nghiệm (áo dài tay), đeo găng tay (găng tay đeo trùm phần cổ tay áo), khẩu trang dùng một lần hoặc mặt nạ che toàn bộ phần mặt

Thẻ da

(2) Chuẩn bị ống nghiệm vô trùng, dán nhãn ghi mã số bệnh phẩm.

(3) Dùng tấm bông vô trùng chấm vào vùng da có tổn thương dạng bọt nước. Xoay nhẹ tấm bông vài vòng cho thấm đủ lượng dịch mủ. Sau đó cho tấm bông vào ống nghiệm đã chuẩn bị. Lấy 2 tấm bông.

* Lưu ý: tránh lây lan dịch của tổn thương ra các vùng xung quanh vị trí tổn thương. Trường hợp tổn thương dạng bọt nước chưa vỡ, nên tìm các vị trí tổn thương khác không nên chọc vỡ bọt nước để lấy mẫu.

- Trường hợp nốt bọt nước (hoặc gọi là nốt phỏng) đã có vảy: dùng kẹp khẽ nhấc vùng da có vảy lên, sau đó dùng tấm bông ấn sâu vào phần viền của vết thương hoặc lấy kéo cắt một phần của vảy da. Cho tấm bông, vảy da vào các ống nghiệm đã chuẩn bị sẵn. Sát trùng vùng da cho bệnh nhân, băng lại nếu cần thiết.

Thẻ tiêu hóa

(2) Chuẩn bị ống nghiệm vô trùng, ống nghiệm đựng môi trường Cary-Blair, hoặc lọ đựng mẫu. Dán nhãn ghi mã số bệnh phẩm.

(3) Lấy phân (khoảng bằng hạt đỗ), chất nôn cho vào lọ. Nếu bệnh nhân không đi ngoài được thì dùng tấm bông lấy mẫu phân trực tràng. Chấm tấm bông vào ống nghiệm đã chuẩn bị.

- Nếu trên tử thi có thể lấy mẫu tổ chức: ruột, gan, lách... cắt mảnh khoảng 10gr cho vào ống nghiệm vô trùng.

- Nếu lấy máu: dùng bơm tiêm 5ml lấy 2-3ml máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm đã chuẩn bị sẵn hoặc bơm thẳng vào bình canh thang não tim. Trong trường hợp cần làm tiêu bản nhuộm soi hay tách chiết ADN có thể lấy 2 lần hoặc chia làm 02 ống nghiệm.

Thẻ phổi

(2) Chuẩn bị ống nghiệm vô trùng, dán nhãn ghi mã số bệnh phẩm.

(3) Dùng 02 tấm bông lấy đờm hoặc bơm tiêm lấy 1-2ml dịch não tủy cho vào ống nghiệm.

- Bệnh phẩm máu lấy tương tự thể tiêu hóa (thường lấy ở giai đoạn muộn của bệnh)

(4) Đậy ống nghiệm chặt, để vào giá hoặc xếp vào túi đựng bệnh phẩm (túi 2 lớp)

(5) Ghi chép thông tin của bệnh phẩm theo mẫu. Hướng dẫn khử nhiễm khu vực xung quanh bằng thuốc sát khuẩn như cloramin B 5%.

(6) Cởi bỏ áo phòng thí nghiệm, rửa tay xà phòng hoặc bằng cồn 70⁰/dung dịch sát khuẩn.

b. Bệnh phẩm ở động vật

(1) Mặc áo phòng thí nghiệm (áo dài tay), đeo găng tay (găng tay đeo trùm phần cổ tay áo), khẩu trang dùng một lần hoặc mặt nạ che toàn bộ phần mặt.

Thê da

(2) Làm tương tự như lấy bệnh phẩm ở người. Ngoài ra có thể lấy thêm lông, tóc, móng cho vào lọ vô trùng.

Thê tiêu hóa (chủ yếu)

(2) Lấy mẫu chất nôn, nước bọt, dịch ruột: làm tương tự như lấy bệnh phẩm ở người.

- Đối với động vật đã chết (mới chết): lấy phủ tạng, xương

(3) Ghi chép thông tin của bệnh phẩm theo mẫu. Hướng dẫn khử nhiễm khu vực xung quanh bằng thuốc sát khuẩn như cloramin B 5%

(4) Cởi bỏ áo phòng thí nghiệm, rửa tay xà phòng hoặc bằng cồn 70⁰/dung dịch sát khuẩn.

c. Bệnh phẩm môi trường

Chọn lựa mẫu ở khu vực có những ca nghi ngờ mắc bệnh (cả người và động vật) hoặc nơi có chất thải.

(1) Mặc áo phòng thí nghiệm (áo dài tay), đeo găng tay (găng tay đeo trùm phần cổ tay áo), khẩu trang dùng một lần hoặc mặt nạ che toàn bộ phần mặt, đi ủng.

(2) Chuẩn bị ống nghiệm, lọ, chai vô trùng. Dán nhãn, ghi mã số bệnh phẩm.

Dạng bột

(3) Dùng 02 tấm bông vô trùng (đã tẩm ướt bằng nước cất vô trùng) chấm nhẹ nhàng vào túi/bì thư chứa chất bột. Cho tấm bông vào từng ống nghiệm riêng rẽ.

(4) Xoáy nắp ống nghiệm, để vào giá hoặc xếp vào túi đựng bệnh phẩm (túi 2 lớp)

Dạng đất

(3) Dùng mũi dao lấy khoảng 50gr đất (tại khu vực nuôi/chôn động vật hoặc có nước thải), cho vào lọ đã chuẩn bị sẵn.

(4) Đậy nắp lọ, xếp vào túi đựng bệnh phẩm (túi 2 lớp)

(5) Ghi chép thông tin của bệnh phẩm theo mẫu. Hướng dẫn khử nhiễm khu vực xung quanh bằng thuốc sát khuẩn như cloramin B 5%.

(6) Cởi bỏ áo phòng thí nghiệm, tháo găng tay, khẩu trang, rửa tay xà phòng hoặc bằng cồn 70⁰/dung dịch sát khuẩn.

THƯỜNG QUI BẢO QUẢN MẪU BỆNH PHẨM THAN TẠI TRUNG TÂM Y TẾ XÃ/HUYỆN/TỈNH

1. Mục đích

- Đảm bảo quá trình lưu giữ mẫu an toàn, không lây lan ra cộng đồng.
- Đảm bảo tính bảo mật của mẫu bệnh phẩm
- Đảm bảo chất lượng của mẫu để tiến hành nghiên cứu

2. Áp dụng

- Cho các cán bộ, nhân viên y tế tham gia nghiên cứu, chẩn đoán vi khuẩn than

3. Yêu cầu

3.1. Đối với các cán bộ y tế

- Có kiến thức về bệnh than và vi khuẩn gây bệnh than như: các đặc điểm vi sinh học, khả năng gây bệnh, đường lây truyền, kỹ thuật chẩn đoán và các nguy cơ lây nhiễm bệnh trong phòng thí nghiệm
 - Đã được đào tạo kiến thức và thực hành về bảo quản mẫu bệnh phẩm
 - Có kiến thức về ATSH hoặc được đào tạo, cấp chứng chỉ về ATSH (chứng chỉ của Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương hoặc tương đương)
 - Sức khỏe tốt và được kiểm tra sức khỏe định kỳ (có hồ sơ lưu trữ tại cơ quan)

3.2. Đối với phòng bảo quản mẫu

a. Tại tuyến xã/huyện cần có

- Tủ lạnh thường (có ngăn làm đá)
- Thùng xốp hoặc túi vận chuyển (2 lớp)
- Đá hoặc bình tích lạnh
- Sổ sách ghi chép

b. Tại tuyến tỉnh/thành phố cần có

- Tủ lạnh thường, tủ lạnh -20⁰C hoặc -30⁰C
- Sổ sách ghi chép, hệ thống máy tính lưu trữ dữ liệu hồ sơ của mẫu
- Cán bộ chịu trách nhiệm giám sát khu vực lưu trữ

4. Tài liệu tham khảo:

- Tài liệu chẩn đoán vi khuẩn than - WHO
- Tài liệu chẩn đoán vi khuẩn than - CDC
- Qui định an toàn sinh học của NIHE, 2007
- Cẩm nang về an toàn sinh học trong phòng thí nghiệm của WHO. Tái bản lần 3. 2004.

5. Nội dung

5.1. Trong quá trình vận chuyển

(1) Bệnh phẩm, mẫu được giữ lạnh trong thùng vận chuyển có bình tích lạnh hoặc đá thường (nếu không có bình tích lạnh). Nhiệt độ trong thùng vận chuyển tùy theo loại mẫu và địa điểm/thời gian vận chuyển

- Từ 15-25⁰C nếu vận chuyển mẫu môi trường, mẫu dịch/tổ chức được bảo quản trong ống có môi trường vận chuyển, thời gian vận chuyển trong ngày

- Từ 2-8⁰C: nếu vận chuyển mẫu tổ chức, máu, dịch và thời gian vận chuyển trong ngày.

- Từ 0⁰C đến âm 20⁰C: nếu vận chuyển mẫu huyết thanh, thời gian vận chuyển trong ngày.

(2) Có hồ sơ mẫu kèm theo.

5.2. Tại phòng thí nghiệm ở tuyến huyện/tỉnh

Nhận mẫu

(1) Có hồ sơ của mẫu bệnh phẩm. Ký nhận mẫu.

(2) Mẫu có thể giữ mẫu ở nhiệt độ 2-8⁰C hoặc -20⁰C để chờ vận chuyển về tuyến trung ương.

(3) Kiểm tra định kỳ các tủ lạnh, tủ âm sâu. Có chứng chỉ xác nhận của phía chuyên môn.

(6) Cập nhật các thông tin về mẫu bằng hệ thống máy tính (SOP.BA-LT-1009).

(7) Việc lấy mẫu, chuyển dịch mẫu phải có thông báo và được sự cho phép của Ban lãnh đạo cơ quan, Ban ATSH (nếu có) hoặc cấp tương đương.

THƯỜNG QUI VẬN CHUYỂN MẪU BỆNH PHẨM THAN TẠI TRUNG TÂM Y TẾ XÃ/HUYỆN/TỈNH

1. Mục đích

- Hướng dẫn đóng gói, vận chuyển mẫu bệnh phẩm than theo thường qui chuẩn Quốc gia.
- Thực hiện đúng qui định vận chuyển tác nhân sinh học nguy hiểm của WHO và NIHE.

2. Áp dụng

- Để vận chuyển các mẫu bệnh phẩm than và các dụng cụ liên quan, trong và ngoài nước.

3. Yêu cầu

3.1. Đối với các cán bộ y tế

- Có kiến thức về bệnh than và vi khuẩn gây bệnh than như: các đặc điểm vi sinh học, khả năng gây bệnh, đường lây truyền và các nguy cơ lây nhiễm bệnh trong phòng thí nghiệm.
- Đã được đào tạo kiến thức và thực hành về an toàn sinh học (có chứng chỉ của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương hoặc tương đương).
- Sức khỏe tốt và được kiểm tra sức khỏe định kỳ (có hồ sơ lưu trữ tại cơ quan).

3.2. Đối với phòng thí nghiệm

- Tài liệu thu thập, quản lý mẫu
- + Thu thập mẫu bệnh phẩm từ người: WS. BPH -BA09
- + Thu thập mẫu bệnh phẩm từ động vật: WS. BPA -BA09
- + Thu thập mẫu bệnh phẩm từ môi trường: WS. BPE - BA09
- + Lưu giữ mẫu: WS-BQM-BA09
- Qui định vận chuyển tác nhân sinh học của NIHE, WHO

4. Các chữ viết tắt

- NIHE: Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương
- WHO: Tổ chức Y tế Thế giới

5. Tài liệu tham khảo

- Quy định an toàn sinh học của NIHE, 2007
- Quy định và hướng dẫn vận chuyển tác nhân nguy hiểm của WHO.

Năm 2007-2008.

6. Nội dung

6.1. Các dụng cụ, vật liệu cần thiết

- Hộp vận chuyển bệnh phẩm 3 lớp kích cỡ tùy thuộc số lượng, loại mẫu cần vận chuyển (theo tiêu chuẩn của NIHE và WHO)
- Giá, khay, hộp kín đựng mẫu
- Giấy thấm
- Dung dịch sát khuẩn: cồn 70⁰ hoặc sodium hypochlorite 10%; 0.5% (NaClO)
- Nhãn (tùy thuộc loại bệnh phẩm), bút viết không xóa.
- Băng dính (nhiều kích thước)

6.2. Tiến hành

6.2.1. Vận chuyển mẫu bệnh phẩm trong nước

a. Vận chuyển mẫu từ nơi thu thập đến phòng thí nghiệm tuyến huyện/tỉnh

Vận chuyển đến phòng thí nghiệm tuyến địa phương: Cho mẫu bệnh phẩm vào trong hộp nhựa cứng có nắp xoáy chặt. Ống nghiệm đựng bệnh phẩm phải được bọc bằng giấy mềm trước khi cho vào hộp vận chuyển.

** Nếu không có môi trường vận chuyển*

- Bệnh phẩm lấy bằng tăm bông: Vận chuyển trực tiếp đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ phòng hoặc 2-8⁰C, nếu thời gian >4h.

- Phân: Vận chuyển mẫu bệnh phẩm đến phòng thí nghiệm trong vòng 4 h, nếu lâu hơn 1h cần vận chuyển ở nhiệt độ 2-8°C.

- Đờm: Vận chuyển trong lọ vô trùng ở nhiệt độ phòng, trong vòng 1h hoặc ở điều kiện 2-8°C nếu thời gian vận chuyển quá 4h.

- Bệnh phẩm máu: Vận chuyển ngay lập tức đến phòng thí nghiệm ở nhiệt độ phòng hoặc ly tâm chất huyết thanh, vận chuyển trực tiếp đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ 0-4°C, trong vòng 24h. Mẫu huyết thanh có thể bảo quản ở -20°C sau đó vận chuyển theo định kỳ về phòng thí nghiệm tuyến trên.

- Mẫu môi trường: vận chuyển đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ 15 - 25°C, trong ngày.

** Nếu có môi trường vận chuyển*

- Bệnh phẩm lấy bằng tăm bông, cắm vào môi trường vận chuyển: Vận chuyển trực tiếp đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ 15-20°C, trong vòng 24 đến 48h.

- Phân cho vào môi trường vận chuyển: Vận chuyển trực tiếp đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ 15-20°C, trong vòng 24 đến 48h.

- Mẫu đờm cho vào môi trường vận chuyển: Vận chuyển trực tiếp đến phòng thí nghiệm ở điều kiện nhiệt độ 15-20°C, trong vòng 24 đến 48h.

Vận chuyển đến phòng thí nghiệm tuyến trung ương: phải đóng gói theo tiêu chuẩn sau:

- Đóng gói bệnh phẩm:

+ Phân loại mẫu theo nhóm nguy cơ để lựa chọn phương tiện vận chuyển phù hợp.

+ Mẫu bệnh phẩm được giữ trong ống nghiệm nhựa, có nắp xoáy kín. Nắp được bọc kín bằng giấy paraffin. Ghi thông tin của mẫu lên ống nghiệm.

+ Lớp 1: Hộp nhựa có nắp xoáy kín, không thấm nước. Ống nghiệm bệnh phẩm được cuộn một lớp giấy thấm tẩm dung dịch sát khuẩn (cồn 70⁰ hoặc dung dịch NaClO 10%) để trong hộp (lưu ý: Nếu mẫu là dung dịch thì lượng dung dịch sát khuẩn tẩm vào giấy thấm phải thấm đủ tương đương thể tích dung dịch của mẫu). Ghi thông tin lên nhãn của lớp 2.

+ Lớp 2: Hộp nhựa cứng, có nắp xoáy kín, không thấm nước. Lớp thứ 2 được bọc bằng giấy bìa cát tông và đặt vào trong lòng hộp này.

+ Lớp 3: Hộp bìa cứng/hoặc thùng nhựa, chứa đựng toàn bộ phần lớp 2. Ghi thông tin bệnh phẩm, **người nhận, người gửi** (và/hoặc **người chịu trách nhiệm**) lên nhãn. Phần chứa của lớp 3 có thể gồm các bình tích lạnh, đá hoặc đá CO₂ tùy theo loại mẫu, thời gian và nhiệt độ khi vận chuyển.

- Gửi bệnh phẩm:

+ Sử dụng phương tiện ô tô: vận chuyển mẫu theo đúng thời gian, bàn giao mẫu (có chữ ký) và viết báo cáo.

+ Gửi theo bưu điện: tuân thủ các thủ tục yêu cầu của đơn vị chuyển hàng. Theo dõi thông tin và kiểm tra khi hàng đã đến nơi.

- Ghi chép, lưu trữ các báo cáo

+ Hồ sơ gửi mẫu

+ Báo cáo Ban lãnh đạo, Ban ATSH hoặc trung tâm y tế dự phòng các tuyến tỉnh nếu có sự cố xảy ra.

b. Vận chuyển mẫu trong khu vực phòng thí nghiệm: Các mẫu bệnh phẩm phải được vận chuyển bằng giá/khay, để trong hộp inox hoặc hộp nhựa có nắp kín.

PHỤ LỤC 2
PHIẾU ĐIỀU TRA TRƯỜNG HỢP BỆNH THAN
[] BỆNH [] CHỨNG

Điều tra viên:

Thời gian tiến hành: ____ giờ ____ phút

Sáng [] Chiều [], ngày ____/____/____

Đối với trường hợp bệnh dưới 18 tuổi: phỏng vấn **người chăm sóc trực tiếp** như bố, mẹ, ông, bà...

Đối với trường hợp bệnh từ 18 tuổi trở lên: phỏng vấn trực tiếp bệnh nhân

GIỚI THIỆU

Chào anh/chị,

Tôi là [*tên của điều tra viên*], hiện đang công tác tại [*tên của cơ quan đang công tác*]. Chúng tôi đang thực hiện một nghiên cứu liên quan đến các trường hợp mắc bệnh than trên người. Mục đích của nghiên cứu là tìm hiểu nguyên nhân tại sao một số người mắc bệnh than, một số khác lại không mắc để đưa ra các khuyến cáo giúp cho việc phòng bệnh tốt hơn cho người dân.

Chúng tôi sẽ hỏi anh/chị một số câu hỏi liên quan đến việc mắc bệnh tại gia đình anh chị và những yếu tố liên quan như triệu chứng bệnh, tiền sử tiếp xúc, hoạt động chăn nuôi gia súc của gia đình anh/chị, tình trạng bệnh của con vật nuôi (nếu có) tại nhà anh chị và cộng đồng cũng như công tác phòng bệnh than tại địa phương. Cuộc trao đổi sẽ kéo dài trong khoảng 45-60 phút. Mọi thông tin do anh/chị cung cấp sẽ được giữ bí mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu khoa học.

Các công việc cần thực hiện:

1. Ký chấp thuận tham gia nghiên cứu
2. Phỏng vấn trường hợp bệnh/ người chăm sóc
3. Phỏng vấn trường hợp đối chứng MS: _____
4. Lấy mẫu:
 - [] Mẫu máu trường hợp bệnh
 - [] Mẫu máu đối chứng
 - [] Mẫu dịch mủ/ vết loét/vẩy da
 - [] Mẫu phân người
 - [] Mẫu động vật (vết loét, chất nôn, thịt, nội tạng, da, lông, xương)
 - [] Mẫu đất (chuồng trại, nơi chăn thả...)
 - [] Mẫu nước thải

A. THÔNG TIN CHUNG VỀ BỆNH NHÂN

Thông tin về người trả lời phỏng vấn

- Họ và tên người trả lời: _____
- Giới tính: Nam Nữ
- Ngày sinh: ____ / ____ / ____
- CMTND/Căn cước công dân: _____
- Dân tộc: _____
- Điện thoại: _____
- Nghề nghiệp chính:
 Học sinh/sinh viên Nông dân Công nhân
 Cán bộ y tế Cán bộ thú y
 Khác, ghi rõ: _____
- Trình độ học vấn
 Không đi học Cấp 1 Cấp 2 Cấp 3
 Trung cấp Cao đẳng/đại học Sau đại học
- Mối quan hệ với bệnh nhân:
 Bệnh nhân Bố/mẹ Ông/bà Anh/chị/em
 Khác, ghi rõ: _____

Các thành viên trong hộ gia đình:

#	Họ và tên	Giới tính	Ngày tháng năm sinh	Vị trí trong hộ gia đình	Trình độ học vấn	Nghề nghiệp
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						

9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
		1 = Nam 2 = Nữ		1 = Chủ hộ 2 = Vợ/chồng chủ hộ 3 = Con trai/Con gái 4 = Con rể/Con dâu 5 = Cháu 6 = Bố/mẹ đẻ 7 = Bố/mẹ chồng (vợ) 8 = Anh/chị/em ruột 9 = Anh/chị/em chồng (vợ) 10 = Khác	0 = Không đi học 1 = Cấp 1 2 = Cấp 2 3 = Cấp 3 4 = Trung cấp 5 = Cao đẳng/ĐH 6 = Sau đại học 99 = Không biết	1 = Học sinh/sinh viên 2 = Nông dân 3 = Công nhân 4 = Cán bộ y tế 5 = Cán bộ thú y 6 = Khác, ghi rõ

Tiền sử bệnh tật của gia đình |

Trong vòng 2 tháng trước, có ai trong gia đình anh chị mắc bất kỳ bệnh nào không?

Có Không Không biết → Nếu “không” hoặc “không biết”, chuyển sang phần thông tin về bệnh nhân

Nếu có, người đó đã mắc bệnh gì?

Tên người mắc	Tên bệnh hoặc triệu chứng	Có điều trị không (Có/Không/KB)	Ngày điều trị	Nơi điều trị	Tình trạng sau điều trị

Thông tin về bệnh nhân: (nếu bệnh nhân là người trả lời phỏng vấn, không cần hỏi câu 10-17)

10. Họ và tên bệnh nhân: _____

11. Giới tính : Nam Nữ

12. Ngày sinh : ____ / ____ / ____

13. CMTND/Căn cước công dân: _____

2.2 Nếu có, người đó đã mắc bệnh gì?

Tên bệnh hoặc triệu chứng	Tên người mắc	Mối quan hệ với bệnh nhân	Có điều trị không? (Có/Không/KB)	Ngày điều trị	Nơi điều trị	Tình trạng sau điều trị

3. Xung quanh gia đình anh/chị có người nào bị bệnh than/người ngờ bị bệnh than không?

Có Không Không biết → Nếu “không” hoặc “không biết”, chuyển sang câu 6

4. Trường hợp bệnh gần nhất cách đây bao lâu? _____ (Năm)

5. Người mắc bệnh là ai?

Hàng xóm gần nhà

Người trong thôn/bản nhưng không gần nhà

Người ở bản khác/xã khác

6. Nguồn nước và mục đích sử dụng

Mục đích sử dụng	Nước mưa	Nước khe	Nước sông/ suối	Nước giếng	Khác, ghi rõ
------------------	----------	----------	-----------------	------------	--------------

Ăn, uống

Tắm giặt, rửa chân tay

Khác, ghi rõ: _____

7. Tập quán canh tác: Du canh du cư Định canh định cư

8. Trồng lúa nước: Có Không

9. Bệnh nhân có tiếp xúc trực tiếp với gia súc nào trong vòng 01 tuần trước khi khởi phát bệnh không?

Có Không Không biết → Nếu “không” hoặc “không biết”, chuyển sang câu 13

10. Nếu có, gia súc đó là của ai?

Gia đình bệnh nhân Hàng xóm Không biết

11. Nếu có, loại gia súc và hình thức tiếp xúc là gì?

Loại gia súc	Gia súc ốm/ chết không?	Hình thức tiếp xúc					
		Chơi đùa	Chăn thả	Chăm sóc	Giết mổ	Ăn thịt	Khác, ghi rõ
Trâu	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						
Bò	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						
Lợn	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						
Dê	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						
Cừu	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						
Ngựa	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						
Khác, ghi rõ _____	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không						

12. Nếu bệnh nhân có tiếp xúc với gia súc bị ốm/chết, đặc điểm của con vật là như thế nào?

12.1. Đặc điểm của con vật ốm/chết?

Loại gia súc	Giới tính của con vật	Tuổi của con vật (tháng)	Đang mang thai/ nuôi con	Nguồn gốc của con vật	Tiêm vắc xin nhiệt thán; thời gian tiêm	Nuôi chung với con vật khác
Trâu						
Bò						
Lợn						
Dê						
Cừu						
Ngựa						
Khác, ghi rõ _____						

Ghi chú:

Giới tính của con vật: 1. Đực; 2. Cái; 99. Không biết

Nguồn gốc của con vật: 1. Sinh ra từ gia súc đang nuôi tại gia đình; 2. Hàng xóm;

3. Thôn/làng/bản kế bên;

4. Xã khác; 5. Huyện khác; 6. Tỉnh khác; 7. Nước ngoài

Câu hỏi khác: 1. Có; 2. Không; 99. Không biết/ Không nhớ

12.2. Triệu chứng bệnh của con vật ốm/chết?

Loại gia súc	Bệnh được chẩn đoán	Người chẩn đoán	Triệu chứng							
			Sốt	Bỏ ăn	Tiêu chảy	Loét da, vị trí loét	Khó thở	Giảm cân	Khác, ghi rõ	Tử vong
Trâu										
Bò										
Lợn										
Dê										
Cừu										
Ngựa										
Khác, ghi rõ: __										

Ghi chú:

Người chẩn đoán: 1. Tự chẩn đoán; 2. Cán bộ thú y xã; 3. Cán bộ thú y huyện/tỉnh; 9. Khác, ghi rõ

Triệu chứng: 1. Có; 2. Không; 99. Không biết

13. Trong vòng 01 tuần trước khi bị bệnh, [bệnh nhân] có chơi đùa/sinh hoạt gần khu vực **chuồng nuôi** gia súc không?

Có

Không

Không biết

14. Trong vòng 01 tuần trước khi bị bệnh, [*bệnh nhân*] có chơi đùa/sinh hoạt gần khu vực **chăn thả** gia súc không?
 Có Không Không biết → Nếu “không” hoặc “không biết”, chuyển sang câu 16

15. Nếu có, [*Bệnh nhân*] ra điểm chăn thả đó lần gần nhất là khi nào? ____/____/____
 (ngày/tháng/năm)

16. [*Bệnh nhân*] có đi đâu trong vòng 01 tuần trước khi bị bệnh không? Có Không
 Nếu có, địa chỉ nơi đến: _____

17. Anh/chị đã từng nghe hoặc chứng kiến về việc bệnh nhiệt thán xảy ra trên gia súc ở địa phương không?
 Có Không → Nếu “không”, chuyển sang phần C

18. Lần gần nhất anh/chị nghe hoặc chứng kiến các trường hợp bệnh nhiệt thán trên gia súc là khi nào?
 Dưới 1 tháng trước
 1-3 tháng trước
 4-6 tháng trước
 Trên 6 tháng trước

C. TRIỆU CHỨNG LÂM SÀNG

1. Ngày phát hiện: ____/____/____
 Ngày nhập viện/khám bệnh: ____/____/____

2. Nơi nhập viện/khám bệnh đầu tiên: _____

3. Triệu chứng:

Triệu chứng	Có	Không	Không rõ	Triệu chứng	Có	Không	Không rõ
Loét màu đen				Sốt (>38°C)			
Ngứa				Nhiễm khuẩn huyết			
Nổi mụn nước				Đau đầu			
Viêm đường hô hấp				Cứng gáy			
Khó thở				Co giật			
Sốc				Thay đổi tinh thần			
Khác 1, ghi rõ: __				Khác 2, ghi rõ: _____			

4. Nơi điều trị: Tại nhà Tại Trạm Y tế Tại TTYT huyện/BV tuyến huyện
 BV tuyến tỉnh BV tuyến TƯ Khác
 Tên cơ sở điều trị:.....
 Địa chỉ: XãHuyện

Tỉnh/Tp

5. Xét nghiệm vi khuẩn Than tại cơ sở điều trị: Có Không Không biết
 Nếu có, Kết quả xét nghiệm: Dương tính Âm tính Không biết

6. Có sử dụng kháng sinh không: Có Không Không biết
 Nếu có, Tên kháng sinh:.....
 Thời gian bắt đầu: ____/____/____ Thời gian kết thúc: ____/____/____

7. Kết quả: Hồi phục/cải thiện Chuyển viện Tử vong Không rõ
 Ngày ra viện/chuyển viện/tử vong: ____/____/____ Nguyên nhân tử vong:.....

8. Di chứng: Có Không Không biết
 Ghi rõ di chứng (nếu có):

D. HOẠT ĐỘNG CHĂN NUÔI GIA SÚC

1. Trong vòng **03 tháng trước** thời điểm khởi phát bệnh, gia đình anh/chị chăn nuôi những loại gia súc nào và tình trạng sức khỏe của chúng **hiện tại** là gì

Loại gia súc	Số lượng	Mục đích chăn nuôi [§]	Hình thức chăn nuôi*	Nơi chăn thả**	Loại chuồng nuôi***	Thời gian chăn thả trong năm	Tình trạng sức khỏe hiện tại (ghi rõ số lượng từng loại)			
							Khỏe mạnh	Ôm và đã khỏi	Vẫn còn ốm	Chết
Trâu										
Bò										
Lợn										
Đê										
Cừu										
Ngựa										
Khác, ghi rõ: ____										

Ghi chú | Note:

[§] Mục đích chăn nuôi: 1. Sức kéo; 2. Lấy thịt; 3. Lấy sữa; 9. khác (ghi rõ)

* Hình thức chăn nuôi: 1. Chăn thả tự do; 2. Chăn thả trong khu vực có hàng rào; 3. Nuôi trong chuồng; 4. Chăn thả theo mùa kết hợp nuôi trong chuồng; 9. Khác, ghi rõ

** Nơi chăn thả (nhiều lựa chọn): 1. Trên đồi/múi; 2. Dưới chân núi/cánh đồng; 3. Sân vườn trong nhà; 9. Khác (ghi rõ)

*** Loại chuồng nuôi: 1. Dưới sàn nhà; 2. Chuồng nuôi riêng; 9. Khác (ghi rõ)

2. Nếu gia súc bị ốm/chết, nguyên nhân được xác định là gì? (**câu hỏi nhiều lựa chọn**)

Mắc bệnh

Thay đổi thời tiết

[] Khác, ghi rõ: _____

3. Nếu gia súc bị mắc bệnh, triệu chứng bệnh của gia súc là gì?

Loại gia súc	Bệnh được chẩn đoán	Người chẩn đoán	Triệu chứng								
			Sốt	Bỏ ăn	Tiêu chảy	Sưng nề	Loét da, vị trí loét	Khó thở	Ngã quy	Khác, ghi rõ	Tử vong
Trâu											
Bò											
Lợn											
Dê											
Cừu											
Ngựa											
Khác, ghi rõ: _____											

Ghi chú:

Triệu chứng: 1. Có; 2. Không; 99. Không biết

Người chẩn đoán: 1. Tự chẩn đoán; 2. Cán bộ thú y xã; 3. Cán bộ thú y huyện/tỉnh; 9. Khác, ghi rõ

4. Hình thức xử lý đối với gia súc ốm/chết là gì?

Loại gia súc	Số lượng	Hình thức xử lý				
		Mổ thịt ăn	Bán	Chôn	Nơi chôn	Khác, ghi rõ
Trâu						
Bò						
Lợn						
Dê						
Cừu						
Ngựa						
Khác, ghi rõ: _____						

Ghi chú: Nơi chôn xác gia súc: 1. Gần nhà; 2. Gần nơi chăn thả; 3. Nơi tiêu hủy tập trung; 9. Khác; 99. Không biết

(Đề nghị mô tả địa điểm chôn gia súc chết, cách đi ra đó để lấy mẫu đất)

Mã số GPS: _____

Tọa độ: Kinh độ (LAT): _____ Vĩ độ (LON): _____ Độ Cao (ALT): _____

5. Trong giai đoạn gia súc bị ốm/chết, anh/chị có thấy động vật ăn xác chết (chó sói, chó hoang, quạ...) ở xung quanh khu vực mình sinh sống không?

[] Có

[] Không

6. Loại động vật ăn xác chết anh/chị đã nhìn thấy là gì? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)

[] Chó sói

- Chó hoang
 Quạ
 Chim lợn
 Khác, ghi rõ: _____

7. Trong giai đoạn gia súc bị ốm/chết, anh/chị có thấy côn trùng (ruồi, muỗi, ve...) nhiều hơn bình thường ở xung quanh khu vực mình sinh sống không?

- Có Không

8. Loại côn trùng anh/chị đã nhìn thấy là gì? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)

- Ruồi
 Muỗi
 Ve
 Khác, ghi rõ: _____

9. Nếu nuôi cố định hoặc kết hợp, thì loại thức ăn được sử dụng cho gia súc là gì?

Loại thức ăn		Nguồn thức ăn	Nơi cung cấp thức ăn cho gia súc
Cỏ hay lá cây tươi Ghi rõ loại cỏ/cây: _____	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/> Không biết	<input type="checkbox"/> Đồng cỏ tự nhiên <input type="checkbox"/> Đồng cỏ tự trồng <input type="checkbox"/> Cây trong rừng <input type="checkbox"/> Mua từ nhà cung cấp	<input type="checkbox"/> Hàng xóm trong làng/thôn/bản <input type="checkbox"/> Thôn/làng/bản kế bên <input type="checkbox"/> Xã khác <input type="checkbox"/> Huyện khác <input type="checkbox"/> Tỉnh khác
Thức ăn thô (cỏ khô, cây khô, ngô...) Ghi rõ: _____ _____	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/> Không biết	<input type="checkbox"/> Đồng cỏ tự nhiên <input type="checkbox"/> Đồng cỏ tự trồng <input type="checkbox"/> Cây trong rừng <input type="checkbox"/> Mua từ nhà cung cấp	<input type="checkbox"/> Hàng xóm trong làng/thôn/bản <input type="checkbox"/> Thôn/làng/bản kế bên <input type="checkbox"/> Xã khác <input type="checkbox"/> Huyện khác <input type="checkbox"/> Tỉnh khác
Thức ăn công nghiệp/ thức ăn đậm đặc	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/> Không biết		<input type="checkbox"/> Hàng xóm trong làng/thôn/bản <input type="checkbox"/> Thôn/làng/bản kế bên <input type="checkbox"/> Xã khác <input type="checkbox"/> Huyện khác <input type="checkbox"/> Tỉnh khác
Viên khoáng cho gia súc liếm	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/> Không biết		<input type="checkbox"/> Hàng xóm trong làng/thôn/bản <input type="checkbox"/> Thôn/làng/bản kế bên <input type="checkbox"/> Xã khác <input type="checkbox"/> Huyện khác <input type="checkbox"/> Tỉnh khác
Khác, ghi rõ: _____	<input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/> Không biết		<input type="checkbox"/> Hàng xóm trong làng/thôn/bản <input type="checkbox"/> Thôn/làng/bản kế bên <input type="checkbox"/> Xã khác <input type="checkbox"/> Huyện khác <input type="checkbox"/> Tỉnh khác

10. Với thức ăn là cỏ/lá cây tươi hoặc cỏ khô, anh/chị có áp dụng biện pháp làm sạch nào sau đây?

(câu hỏi nhiều lựa chọn)

Không làm sạch

Rửa bằng nước

Khác, ghi rõ: _____

11. Nguồn nước sử dụng cho gia súc là gì? **(câu hỏi nhiều lựa chọn)**

Nước sông/suối/khe

Nước ao/hồ

Nước giếng

Nước máy

Nước mưa

Khác, ghi rõ: _____

12. Có hoạt động hay sự kiện nào sau đây diễn ra ở khu vực chăn thả hoặc gần khu vực chăn thả không? **(câu hỏi nhiều lựa chọn)**

Sạt lở đất

Đào đất làm đường, làm cầu

Lũ, lụt, ngập đồng cỏ

Không có → Chuyển sang câu 14

13. Hoạt động hoặc sự kiện trên bắt đầu khi nào và đã kết thúc chưa?

Đang diễn ra nhưng không biết thời điểm bắt đầu

Bắt đầu dưới 1 tháng trước và vẫn **đang diễn ra**

Bắt đầu dưới 1 tháng trước và **đã kết thúc**

Bắt đầu từ 1-3 tháng trước và vẫn **đang diễn ra**

Bắt đầu từ 1-3 tháng trước và **đã kết thúc**

Khác, ghi rõ thời điểm: Bắt đầu: _____ Kết thúc: _____

14. Trong vòng 03 tháng trước, gia đình anh/chị có mua/nhận thêm gia súc mới không?

Có

Không → Nếu chọn “không” thì chuyển sang câu 16

15. Nếu có, loại gia súc được mua/nhận thêm là loại nào và bao nhiêu con, nguồn gốc từ đâu?

Loại gia súc	Số lượng mua/nhận thêm	Nguồn gốc
Trâu		
Bò		
Lợn		
Dê		
Cừu		
Ngựa		
Khác, ghi rõ: _____		

Ghi chú: nguồn gốc bao gồm: 1. Hàng xóm; 2. Thôn/làng/bản kế bên; 3. Xã khác; 4. Huyện khác; 5. Tỉnh khác; 6. Nước ngoài (nước nào)

16. Gia súc của gia đình anh/chị có bị nhiễm giun sán hay loại ký sinh trùng khác không?

Loại gia súc	Nhiễm giun sán		Thời gian nhiễm
Trâu	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__
Bò	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__
Lợn	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__
Dê	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__
Cừu	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__
Ngựa	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__
Khác, ghi rõ: _____	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	/20__

17. Địa điểm chăn thả gia súc của gia đình anh/chị là riêng hay chung với các hộ khác?

Riêng Chung

18. Gia đình anh/chị chăn thả chung hay riêng các loại gia súc (nếu hộ gia đình chăn nuôi trên một loại gia súc)?

Riêng Chung → Loại gia súc nuôi chung bao gồm: _____

19. Cách xử lý phân của gia súc là gì? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)

Không xử lý

Chôn

Bón cây

Phơi khô làm chất đốt

Khác, ghi rõ: _____

20. Ai là người tham gia vào việc chăn nuôi gia súc? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)

Bệnh nhân

Bố/mẹ của bệnh nhân

Ông/bà của bệnh nhân

Anh/chị/em của bệnh nhân

Người khác, ghi rõ: _____

21. Trong vòng 01 tuần trước khi khởi phát bệnh trên bệnh nhân, gia súc được giữ ở đâu? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*) Chăn thả tự do trong sân/vườn

Giữ trong chuồng gần hộ gia đình

Chăn thả ngoài đồng gần hộ gia đình

Chăn thả ở nơi khác cách xa hộ gia đình

Khác, ghi rõ: _____

22. Trung bình gia súc được di chuyển bao nhiêu ngày trong một tuần giữa các điểm nuôi giữ và chăn thả?

Hàng ngày

Hầu hết các ngày trong tuần

Một số ngày trong tuần

Một ngày/tuần
 Không di chuyển
 Không biết

23. Gia súc được di chuyển như thế nào giữa điểm nuôi giữ và chăn thả? **(câu hỏi nhiều lựa chọn)**

Đi bộ | Walked
 Vận chuyển bằng phương tiện như ô tô, xe máy
 Khác, ghi rõ: _____

24. Gia đình anh/chị có bãi chăn thả theo mùa không?

Có
 Không → Nếu chọn “không”, chuyển sang phần E

25. Nếu có, anh/chị chăn thả ở đó vào mùa nào? **(câu hỏi nhiều lựa chọn)**

Xuân (tháng 1-3)
 Hè (tháng 4-6)
 Thu (tháng 7-9)
 Đông (tháng 10-12)

26. Loại gia súc nào được chăn thả theo mùa? **(câu hỏi nhiều lựa chọn)**

Trâu
 Bò
 Lợn
 Dê
 Cừu
 Ngựa
 Khác, ghi rõ: _____

27. Điểm chăn thả theo mùa ở đâu? _____
(Đề nghị mô tả địa điểm chăn thả, cách đi ra đó để lấy mẫu đất)
 Mã số GPS: _____
 Tọa độ: Kinh độ (LAT): _____ Vĩ độ (LON): _____ Độ Cao (ALT): _____

28. Gia súc của anh/chị được chăn thả ở điểm đó lần gần nhất là khi nào? ____ / ____ / ____
 (ngày/tháng/năm)

E. KAP PHÒNG BỆNH THAN/NHIỆT THÁN

- Anh/chị đã nghe về bệnh than bao giờ chưa?
 Có Không → Nếu chọn “không”, chuyển sang câu 5
- Thông tin anh/chị biết được là gì? **(câu hỏi nhiều lựa chọn)**
 - Thông tin chung về bệnh (tác nhân gây bệnh, cách lây truyền...)
 - Triệu chứng của bệnh
 - Cách điều trị bệnh

- Cách phòng bệnh
 Khác, ghi rõ: _____
3. Anh/chị nghe thông tin đó từ đâu? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Nhân viên y tế
 Báo giấy
 Báo mạng trên internet
 Mạng xã hội: như facebook, Zalo
 Loa phát thanh của xã
 Khác, ghi rõ: _____
4. Anh/chị có biết cách phòng bệnh than trên người như thế nào không?
- Có → Là những cách nào? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Tiêu hủy gia súc bị bệnh/chết
 Hạn chế tiếp xúc với gia súc bị bệnh
 Tiêm vắc xin cho gia súc
 Khác, ghi rõ: _____
- Không
5. Anh/chị đã nghe về bệnh nhiệt thán bao giờ chưa?
- Có Không → Nếu chọn “không”, chuyển sang câu 13
6. Thông tin anh/chị nhận được là gì? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Thông tin chung về bệnh (tác nhân gây bệnh, cách lây truyền...)
 Triệu chứng của bệnh
 Cách điều trị bệnh
 Cách phòng bệnh
 Khác, ghi rõ: _____
7. Anh/chị nghe thông tin đó từ đâu? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Nhân viên y tế
 Báo giấy
 Báo mạng trên internet
 Mạng xã hội: như facebook, Zalo
 Loa phát thanh của xã
 Khác, ghi rõ: _____
8. Anh/chị có biết cách phòng bệnh nhiệt thán trên gia súc như thế nào không?
- Có → Là những cách nào? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Tiêu hủy gia súc bị bệnh/chết
 Cách ly gia súc bị bệnh
 Tiêm vắc xin cho gia súc
 Khác, ghi rõ: _____
- Không

9. Theo anh/chị, loại gia súc nào sau đây dễ mắc nhiệt thán? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Trâu
 - Bò
 - Lợn
 - Dê
 - Cừu
 - Ngựa
 - Khác, ghi rõ: _____
10. Theo anh/chị, con người có thể bị nhiễm bệnh nhiệt thán từ gia súc không?
- Có Không Không biết
- Tại sao? _____
11. Theo anh/chị, bệnh than và bệnh nhiệt thán có liên quan gì đến nhau không?
- Không biết
 - Không liên quan
 - Có, là một bệnh trên người và trên gia súc
 - Có, nhưng không biết có phải là một bệnh hay không
12. Theo anh/chị, bệnh than/nhiệt thán có phải là vấn đề nghiêm trọng tại địa phương mình không?
- Có Không Không biết
- Tại sao? _____
13. Trong 6 tháng qua, nhân viên thú y có tới thăm gia đình anh/chị không?
- Có Không → Nếu chọn “không”, chuyển sang câu 15
14. Nếu có, nhân viên thú y đã làm gì? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Tiêm vắc xin theo yêu cầu của gia đình
 - Tiêm vắc xin theo chiến dịch
 - Khám cho gia súc bị ốm
 - Đỡ đẻ cho gia súc
 - Kiểm tra sức khỏe định kỳ cho gia súc
 - Khác, ghi rõ: _____
 - Không biết
15. Nếu không, tại sao? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)
- Cho rằng gia súc không cần chăm sóc bởi thú y
 - Nhân viên thú y ở xa
 - Không có kinh phí
 - Có thể tự điều trị cho gia súc nên không mời nhân viên thú y
 - Hàng xóm điều trị giúp nên không mời nhân viên thú y
 - Khác, ghi rõ: _____

Tại sao? _____

19. Anh/chị sẽ làm gì nếu một con gia súc của gia đình đột nhiên bị ốm? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)

Điều trị con gia súc đó bằng kháng sinh

Giết lấy thịt

Cách ly ra khỏi đàn gia súc

Gọi nhân viên thú y

Khác, ghi rõ: _____

20. Anh/chị sẽ làm gì nếu một con gia súc của gia đình đột nhiên bị chết? (*câu hỏi nhiều lựa chọn*)

Điều trị cho những con gia súc khác bằng kháng sinh

Mổ lấy thịt

Bán gia súc bị chết

Chôn gia súc bị chết

Gọi nhân viên thú y

Khác, ghi rõ: _____

KẾT THÚC | END!

F. KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM

Loại bệnh phẩm	Ngày lấy mẫu	Ngày xét nghiệm	Loại xét nghiệm	Kết quả xét nghiệm
Mẫu máu	____/____/____	____/____/____	<input type="checkbox"/> Test nhanh <input type="checkbox"/> Nuôi cấy <input type="checkbox"/> Realtime PCR <input type="checkbox"/> Mac-Elisa <input type="checkbox"/> Khác	<input type="checkbox"/> Dương tính <input type="checkbox"/> Âm tính <input type="checkbox"/> Không rõ
Mẫu dịch mủ/ vết loét/vết da	____/____/____	____/____/____	<input type="checkbox"/> Test nhanh <input type="checkbox"/> Nuôi cấy <input type="checkbox"/> Realtime PCR <input type="checkbox"/> Mac-Elisa <input type="checkbox"/> Khác	<input type="checkbox"/> Dương tính <input type="checkbox"/> Âm tính <input type="checkbox"/> Không rõ
Mẫu phân người	____/____/____	____/____/____	<input type="checkbox"/> Test nhanh <input type="checkbox"/> Nuôi cấy <input type="checkbox"/> Realtime PCR <input type="checkbox"/> Mac-Elisa <input type="checkbox"/> Khác	<input type="checkbox"/> Dương tính <input type="checkbox"/> Âm tính <input type="checkbox"/> Không rõ
Mẫu động vật, ghi rõ: _____	____/____/____	____/____/____	<input type="checkbox"/> Test nhanh <input type="checkbox"/> Nuôi cấy <input type="checkbox"/> Realtime PCR <input type="checkbox"/> Mac-Elisa <input type="checkbox"/> Khác	<input type="checkbox"/> Dương tính <input type="checkbox"/> Âm tính <input type="checkbox"/> Không rõ
Mẫu đất	____/____/____	____/____/____	<input type="checkbox"/> Test nhanh <input type="checkbox"/> Nuôi cấy <input type="checkbox"/> Realtime PCR <input type="checkbox"/> Mac-Elisa <input type="checkbox"/> Khác	<input type="checkbox"/> Dương tính <input type="checkbox"/> Âm tính <input type="checkbox"/> Không rõ
Mẫu nước thải	____/____/____	____/____/____	<input type="checkbox"/> Test nhanh <input type="checkbox"/> Nuôi cấy <input type="checkbox"/> Realtime PCR <input type="checkbox"/> Mac-Elisa <input type="checkbox"/> Khác	<input type="checkbox"/> Dương tính <input type="checkbox"/> Âm tính <input type="checkbox"/> Không rõ

**PHỤ LỤC 3: PHIẾU CUNG CẤP THÔNG TIN VÀ THỎA THUẬN
THAM GIA NGHIÊN CỨU
BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU
VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU**

(PHIẾU DÀNH CHO TRƯỜNG HỢP BỆNH)

Phiếu dành cho:

- Bệnh nhân trên 16 tuổi.
- Và/hoặc người giám hộ của bệnh nhân dưới 18 tuổi.

Tài liệu này được thông báo đầy đủ đến những người tham gia nghiên cứu, không có trang hay phần nào trong tài liệu này được bỏ qua. Những nội dung trong tài liệu này cần phải được giải thích rõ bằng lời với những người tham gia nghiên cứu.

**Tên nghiên cứu: “THỰC TRẠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ CỦA BỆNH
THAN TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM, 2010-2022”**

Đơn vị chủ trì: Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, số 1 Yecxanh, Hà Nội, Việt Nam

Đơn vị tài trợ: Đại học Florida, Hoa Kỳ

Nghiên cứu viên chính:

1. GS.TS Đặng Đức Anh, Viện trưởng Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương
2. GS.TS Jason K Blackburn, Đại học Florida

Anh/chị hoặc con của anh/chị được mời tham gia nghiên cứu “**Thực trạng và một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại một số tỉnh miền núi phía bắc việt nam, 2010-2022**” do đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn của nghiên cứu. Đây là hoạt động do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương phối hợp với Đại học Florida, Hoa Kỳ thực hiện.

Trước khi quyết định đồng ý hay không đồng ý tham gia hoặc cho con của anh/chị tham gia nghiên cứu, anh/chị nên đọc kỹ và hiểu rõ mục đích của nghiên cứu, những lợi ích, nguy cơ có thể xảy ra khi anh/chị hoặc con của anh/chị tham gia vào nghiên cứu này. Tài liệu này sẽ cung cấp các thông tin chi tiết về nghiên cứu để giúp anh/chị có thể tự đưa ra quyết định tham gia hoặc cho phép con của anh/chị tham gia nghiên cứu hay không. Anh/chị sẽ được đọc bản cung cấp thông tin này và ký vào bản chấp thuận nếu đồng ý tham gia hoặc cho phép con của anh/chị tham gia nghiên cứu. Anh/chị cũng được đặt các câu hỏi mà mình chưa rõ cho các nghiên cứu viên. Anh/chị cũng có thể thảo luận với gia đình, bạn bè, người thân của mình trước khi quyết định tham gia hoặc cho con của anh/chị tham gia nghiên cứu.

I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU

1. Mục đích tiến hành nghiên cứu

Chúng tôi đang tiến hành một nghiên cứu về bệnh than (hay còn gọi là nhiệt than ở trên động vật như trâu, bò...) nhằm đưa ra các bằng chứng về sự tồn tại và lan truyền của bệnh này trên động vật và trên con người tại tỉnh miền núi phía Bắc Việt Nam. Tuy rằng, đây là bệnh không phổ biến nhưng lại có nguy cơ cao tử vong nếu không được điều trị đúng và kịp thời. Việc tham gia nghiên cứu của anh/chị hoặc con của anh/chị sẽ có ý nghĩa rất lớn đối với việc đưa ra các bằng chứng giúp tăng cường công tác giám sát, phát hiện và phòng chống bệnh này trên động vật và trên con người.

Sẽ không có lợi ích trực tiếp đối với anh/chị hay con của anh/chị khi tham gia nghiên cứu này. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này sẽ giúp xác định được mức độ nghiêm trọng và phạm vi lan truyền của hai bệnh này tại các tỉnh tham gia nghiên cứu, từ đó đưa ra được các khuyến cáo giúp nâng cao sức khỏe cộng đồng, bao gồm cả nơi anh/chị sinh sống.

Ngoài anh/chị hoặc con của anh/chị thì có khoảng 100 người khác tại tỉnh Hà Giang tham gia vào nghiên cứu này.

2. Các bước tiến hành

Anh/chị hoặc con của anh/chị được mời tham gia nghiên cứu vì đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn của nghiên cứu.

Nếu anh/chị đồng ý tham gia và/hoặc cho con của anh/chị tham gia nghiên cứu, chúng tôi sẽ hỏi anh/chị một số câu hỏi liên quan đến các thông tin nhân khẩu học của gia đình, hoạt động chăn nuôi gia súc, việc tiếp xúc với gia súc của anh/chị hoặc con của anh/chị. Việc thu thập các thông tin này sẽ giúp chúng tôi xác định được những ai có khả năng mắc bệnh cao hơn và đưa ra khuyến cáo phù hợp.

Sau đó, chúng tôi sẽ lấy một số loại mẫu bao gồm:

- Mẫu máu của người mắc bệnh (3-5ml)
- Mẫu dịch mủ/ vết loét/vết da
- Mẫu phân người
- Mẫu động vật (vết loét, chất nôn, thịt, nội tạng, da, lông, xương)
- Mẫu đất (chuồng trại, nơi chăn thả...)
- Mẫu nước thải

Đối với mẫu máu và dịch mủ/vết loét, nếu đã được thu thập trước đó bởi cán bộ y tế địa phương sẽ không cần lấy trong đợt lấy mẫu này.

Việc lấy mẫu máu sẽ do nhân viên y tế được tập huấn kỹ càng và sử dụng các dụng cụ lấy mẫu vô trùng để không gây nhiễm khuẩn cho người được lấy mẫu.

3. Các nguy cơ và bất lợi

Việc tham gia nghiên cứu này sẽ không gây ra các nguy cơ hay bất lợi nghiêm trọng đáng kể nào ngoài nguy cơ nhiễm khuẩn từ dụng cụ lấy mẫu. Tuy nhiên, nguy cơ này sẽ được giảm xuống mức tối thiểu bằng các dụng cụ vô trùng dùng một lần. Các nhân viên y tế tham gia lấy mẫu cũng được tập huấn kỹ càng về cách lấy mẫu và đảm bảo an toàn cho người bệnh. Việc lấy mẫu máu và mũi cũng sẽ gây cảm giác khó chịu tại chỗ cho người lấy mẫu, nhưng các cảm giác này sẽ hết trong thời gian ngắn sau khi lấy mẫu.

Một nguy cơ khác có thể xảy ra ngoài mong đợi, đó là việc lộ thông tin cá nhân của người tham gia nghiên cứu. Tuy nhiên, chúng tôi sẽ áp dụng các quy định bảo mật thông tin và chỉ có những người thực hiện nghiên cứu mới có thể tiếp cận các thông tin này. Tên, tuổi và các thông tin cá nhân khác của anh/chị và gia đình sẽ không được nhắc tới trong các báo cáo, bài báo khoa học được công bố.

4. Quyền lợi của người tham gia nghiên cứu

Tất cả các xét nghiệm nghiên cứu tiến hành cho anh/chị hoặc con của anh/chị đều miễn phí. Anh/chị hoặc con của anh/chị cũng sẽ được nhận một khoản bồi dưỡng tương đương với 50.000 đồng để bù đắp cho thời gian gia đình mình dành cho nghiên cứu và hỗ trợ đi lại.

5. Bồi thường/điều trị khi có tổn thương liên quan đến nghiên cứu:

Nghiên cứu này được coi là có nguy cơ tối thiểu. Tuy nhiên, nếu có tổn hại sức khỏe được xác định là gây ra bởi nghiên cứu, anh/chị và/hoặc con của anh/chị sẽ được chăm sóc y tế miễn phí cho những tổn hại sức khỏe đó.

6. Người liên hệ:

Nếu có bất cứ câu hỏi nào trong quá trình tham gia nghiên cứu, anh/chị có thể liên hệ: TS. Phạm Quang Thái, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương; số 1 Yecxanh, Hai Bà Trưng, Hà Nội. Điện thoại: 0243.8211.634, Email: pqt@nihe.org.vn.

[Hoặc Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.](#)
[Thư ký Hội đồng: PGS.TS Nguyễn Thị Thùy Dương, SĐT: 0243.9721.923.](#)

[Tại tỉnh: \[thông tin người liên hệ sẽ được bổ sung theo từng tỉnh\]](#)

7. Sự tự nguyện tham gia

Trước khi quyết định tham gia hay cho con của mình tham gia nghiên cứu, chúng tôi khuyến khích anh/chị đưa ra các câu hỏi về nghiên cứu và các quy trình nghiên cứu. Anh/chị hoàn toàn có quyền quyết định có tham gia hay cho con của mình tham gia nghiên cứu hay không. Anh/chị có thể quyết định tham gia tất cả các hoạt động của nghiên cứu, hoặc một số hoạt động cụ thể hoặc có quyền từ chối tham gia nghiên cứu. Ngoài ra, anh/chị cũng có thể quyết định rút khỏi nghiên cứu bất kỳ lúc nào và sẽ không có ảnh hưởng nào với vấn đề chăm

sóc sức khỏe và sử dụng dịch vụ y tế của anh/chị và các thành viên khác trong gia đình. Nếu anh/chị quyết định rút khỏi nghiên cứu sau khi đã tham gia, anh/chị cũng có thể quyết định cho nghiên cứu giữ lại hay hủy bỏ số liệu hay mẫu đã thu thập.

8. Tính bảo mật

Anh/chị hoặc con của anh/chị sẽ được cấp một mã số nghiên cứu, mã số này sẽ được sử dụng thay cho tên trong các tài liệu nghiên cứu và số liệu phân tích.

Thông tin điện tử sẽ được bảo mật và sẽ không giúp xác định các thông tin cá nhân của anh/chị hoặc con của anh/chị. Thông tin của anh/chị hoặc con của anh/chị sẽ được bảo mật tuyệt đối và sẽ không được chia sẻ với ai ngoài thành viên nhóm nghiên cứu. Kết quả của nghiên cứu sẽ được công bố vì những mục đích có lợi cộng đồng và khoa học. Chúng tôi sẽ công bố kết quả nghiên cứu trên các tạp chí khoa học hay qua các bài trình bày tại các hội thảo. Tuy nhiên, thông tin cá nhân của anh/chị hoặc con anh/chị sẽ không xuất hiện trên bất kỳ ấn phẩm hay bài trình bày nào.

Chúng tôi sẽ lưu giữ các biểu mẫu nghiên cứu có chứa thông tin cá nhân của anh/chị hoặc con của anh/chị ở nơi bảo mật. Chỉ những người làm việc trong nghiên cứu được phép xem các biểu mẫu này. Chúng tôi sẽ giữ các mẫu này phục vụ nghiên cứu trong tối đa 10 năm dưới sự giám sát của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học. Một số mẫu sẽ được gửi sang Đại học Florida, Hoa Kỳ để thực hiện các phân tích chuyên sâu. Ngoài ra, các thông tin và mẫu đã thu thập cũng có thể sẽ được sử dụng cho các nghiên cứu khác trong tương lai phục vụ cho lợi ích sức khỏe cộng đồng với sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học.

II. CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tôi đã đọc và hiểu thông tin trên đây về mục đích, các bước tiến hành, nguy cơ và lợi ích, đã có cơ hội xem xét và đặt câu hỏi về thông tin liên quan đến nội dung trong nghiên cứu

“THỰC TRẠNG, ĐẶC ĐIỂM VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ CỦA BỆNH THAN TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM, 2010-2022

”. Tôi đã nói chuyện trực tiếp với nghiên cứu viên và được trả lời thỏa đáng tất cả các câu hỏi. Tôi cũng đã có cơ hội thảo luận với các thành viên khác trong hộ gia đình để có sự đồng thuận tham gia vào nghiên cứu. Chúng tôi không phải từ bỏ bất kỳ quyền con người nào. Tôi nhận một bản sao của tài liệu này.

Tôi tự nguyện đồng ý tham gia nghiên cứu với các nội dung sau:

<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	Đồng ý cung cấp các thông tin theo bộ câu hỏi
<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	Đồng ý cung cấp các loại mẫu sau để làm xét nghiệm: <ul style="list-style-type: none"> - Mẫu máu của người mắc bệnh (3-5ml) - Mẫu dịch mủ/ vết loét/vẩy da - Mẫu phân người - Mẫu động vật (vết loét, chất nôn, thịt, nội tạng, da, lông, xương) - Mẫu đất (chuồng trại, nơi chăn thả...) - Mẫu nước thải
<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	Đồng ý cho nghiên cứu lưu trữ các loại mẫu thu được để sử dụng cho các nghiên cứu khác trong tương lai được Hội đồng đạo đức phê duyệt

Bệnh nhân trên 16 tuổi ký ở đây:

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

Người giám hộ ký ở đây (nếu bệnh nhân dưới 18 tuổi)

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

Nếu người ký ở trên không tự đọc được, cần có người làm chứng độc lập với cán bộ nghiên cứu có mặt và ký vào đây:

Tôi đã có mặt trong suốt quá trình lấy chấp thuận tham gia của người tham gia. Phiếu này đã được đọc chính xác cho người tham gia và tất cả các câu hỏi của người tham gia đã được trả lời và họ đã đồng ý tham gia vào nghiên cứu này.

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

Xác nhận của nghiên cứu viên/người lấy chấp thuận:

Tôi, người ký ở dưới đây, đã giải thích đầy đủ các thông tin về nghiên cứu cho người có tên như trên và sẽ gửi lại cho họ một bản chấp thuận tham gia nghiên cứu đã được ký và ghi ngày.

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

(PHIẾU DÀNH CHO NGƯỜI LÀM ĐỐI CHỨNG)

Phiếu dành cho:

- Người làm đối chứng trên 16 tuổi.
- Và/hoặc người giám hộ của người làm đối chứng dưới 18 tuổi.

Tài liệu này được thông báo đầy đủ đến những người tham gia nghiên cứu, không có trang hay phần nào trong tài liệu này được bỏ qua. Những nội dung trong tài liệu này cần phải được giải thích rõ bằng lời với những người tham gia nghiên cứu.

Tên nghiên cứu: “THỰC TRẠNG, ĐẶC ĐIỂM VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ CỦA BỆNH THAN TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM, 2010-2022”

Đơn vị chủ trì: Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, số 1 Yecxanh, Hà Nội, Việt Nam

Đơn vị tài trợ: Đại học Florida, Hoa Kỳ

Nghiên cứu viên chính:

3. GS.TS Đặng Đức Anh, Viện trưởng Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương
4. GS.TS Jason K Blackburn, Đại học Florida

Anh/chị hoặc con của anh/chị được mời tham gia nghiên cứu “**Thực trạng và một số yếu tố nguy cơ của bệnh than tại một số tỉnh miền núi phía bắc việt nam, 2010-2022**” do đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn của nghiên cứu. Đây là hoạt động do Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương phối hợp với Đại học Florida, Hoa Kỳ thực hiện.

Trước khi quyết định đồng ý hay không đồng ý tham gia hoặc cho con của anh/chị tham gia nghiên cứu, anh/chị nên đọc kỹ và hiểu rõ mục đích của nghiên cứu, những lợi ích, nguy cơ có thể xảy ra khi anh/chị hoặc con của anh/chị tham gia vào nghiên cứu này. Tài liệu này sẽ cung cấp các thông tin chi tiết về nghiên cứu để giúp anh/chị có thể tự đưa ra quyết định tham gia hoặc cho phép con của anh/chị tham gia nghiên cứu hay không. Anh/chị sẽ được đọc bản cung cấp thông tin này và ký vào bản chấp thuận nếu đồng ý tham gia hoặc cho phép con của anh/chị tham gia nghiên cứu. Anh/chị cũng được đặt các câu hỏi mà mình chưa rõ cho các nghiên cứu viên. Anh/chị cũng có thể thảo luận với gia đình, bạn bè, người thân của mình trước khi quyết định tham gia hoặc cho con của anh/chị tham gia nghiên cứu.

I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU

1. Mục đích tiến hành nghiên cứu

Chúng tôi đang tiến hành một nghiên cứu về bệnh than (hay còn gọi là nhiệt than ở trên động vật như trâu, bò...) nhằm đưa ra các bằng chứng về sự tồn tại và lan truyền của bệnh này trên động vật và trên con người tại khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam. Tuy rằng, đây là bệnh không phổ biến nhưng lại có nguy cơ cao tử vong nếu không được điều trị đúng và kịp thời. Việc tham gia nghiên cứu của anh/chị hoặc con của anh/chị sẽ có ý nghĩa rất lớn đối với việc đưa ra các bằng chứng giúp tăng cường công tác giám sát, phát hiện và phòng chống hai bệnh này trên động vật và trên con người.

Do gần đây trong khu vực gia đình mình sinh sống đã có một số trường hợp bệnh than ở trên người (chúng tôi xin phép được giấu tên người bệnh), bên cạnh việc phỏng vấn trực tiếp người mắc bệnh, chúng tôi muốn mời thêm hai người không mắc bệnh tham gia vào nghiên cứu này để giúp chúng tôi xác định được các đặc điểm khác biệt giữa người bị bệnh và không bị bệnh. Từ đó chúng tôi có thể đưa ra được các khuyến cáo phù hợp giúp dự phòng và kiểm soát bệnh tốt hơn.

Sẽ không có lợi ích trực tiếp đối với anh/chị hay con của anh/chị khi tham gia nghiên cứu này. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này sẽ giúp đưa ra được các khuyến cáo giúp nâng cao sức khỏe cộng đồng, bao gồm cả nơi anh/chị sinh sống.

Ngoài anh/chị hoặc con của anh/chị thì có khoảng 3000 người khác tại 6 tỉnh tham gia vào nghiên cứu này trong 5 năm (2020 - 2024).

2. Các bước tiến hành

Anh/chị hoặc con của anh/chị được mời tham gia nghiên cứu vì đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn của nghiên cứu.

Nếu anh/chị đồng ý tham gia và/hoặc cho con của anh/chị tham gia nghiên cứu, chúng tôi sẽ hỏi anh/chị một số câu hỏi liên quan đến các thông tin nhân khẩu học của gia đình, hoạt động chăn nuôi gia súc, các biểu hiện của bệnh, việc tiếp xúc với gia súc trước khi bị bệnh của anh/chị hoặc con của anh/chị. Việc thu thập các thông tin này sẽ giúp chúng tôi xác định được những ai có khả năng mắc bệnh cao hơn và đưa ra khuyến cáo phù hợp.

Sau đó, chúng tôi sẽ lấy một số loại mẫu bao gồm:

- Mẫu máu (3-5ml)
- Mẫu động vật (vết loét, chất nôn, thịt, nội tạng, da, lông, xương)

- Mẫu đất (chuồng trại, nơi chăn thả...)
- Mẫu nước thải

Việc lấy mẫu máu sẽ do nhân viên y tế được tập huấn kỹ càng và sử dụng các dụng cụ lấy mẫu vô trùng để không gây nhiễm khuẩn cho người được lấy mẫu.

3. Các nguy cơ và bất lợi

Việc tham gia nghiên cứu này sẽ không gây ra các nguy cơ hay bất lợi nghiêm trọng đáng kể nào ngoài nguy cơ nhiễm khuẩn từ dụng cụ lấy mẫu. Tuy nhiên, nguy cơ này sẽ được giảm xuống mức tối thiểu bằng các dụng cụ vô trùng dùng một lần. Các nhân viên y tế tham gia lấy mẫu cũng được tập huấn kỹ càng về cách lấy mẫu và đảm bảo an toàn cho người bệnh. Việc lấy mẫu máu và mũi cũng sẽ gây cảm giác khó chịu tại chỗ cho người lấy mẫu, nhưng các cảm giác này sẽ hết trong thời gian ngắn sau khi lấy mẫu.

Một nguy cơ khác có thể xảy ra ngoài mong đợi, đó là việc lộ thông tin cá nhân của người tham gia nghiên cứu. Tuy nhiên, chúng tôi sẽ áp dụng các quy định bảo mật thông tin và chỉ có những người thực hiện nghiên cứu mới có thể tiếp cận các thông tin này. Tên, tuổi và các thông tin cá nhân khác của anh/chị và gia đình sẽ không được nhắc tới trong các báo cáo, bài báo khoa học được công bố.

4. Quyền lợi của người tham gia nghiên cứu

Tất cả các xét nghiệm nghiên cứu tiến hành cho anh/chị hoặc con của anh/chị đều miễn phí. Anh/chị hoặc con của anh/chị cũng sẽ được nhận một khoản bồi dưỡng tương đương với 50.000 đồng để bù đắp cho thời gian dành cho nghiên cứu và hỗ trợ đi lại.

5. Bồi thường/điều trị khi có tổn thương liên quan đến nghiên cứu:

Nghiên cứu này được coi là có nguy cơ tối thiểu. Tuy nhiên, nếu có tổn hại sức khỏe được xác định là gây ra bởi nghiên cứu, anh/chị và/hoặc con của anh/chị sẽ được chăm sóc y tế miễn phí cho những tổn hại sức khỏe đó.

6. Người liên hệ:

Nếu có bất cứ câu hỏi nào trong quá trình tham gia nghiên cứu, anh/chị có thể liên hệ: TS. Phạm Quang Thái, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương; số 1 Yecxanh, Hai Bà Trưng, Hà Nội. Điện thoại: 0243.8211.634, Email: pqt@nihe.org.vn.

[Hoặc Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương. Thư ký Hội đồng: PGS.TS Nguyễn Thị Thùy Dương, SĐT: 098 5019101.](#)

[Tại tỉnh: \[thông tin người liên hệ sẽ được bổ sung theo từng tỉnh\]](#)

7. Sự tự nguyện tham gia

Trước khi quyết định tham gia hay cho con của mình tham gia nghiên cứu, chúng tôi khuyến khích anh/chị đưa ra các câu hỏi về nghiên cứu và các quy trình nghiên cứu. Anh/chị hoàn toàn có quyền quyết định có tham gia hay cho con của mình tham gia nghiên cứu hay không. Anh/chị có thể quyết định tham gia tất cả các hoạt động của nghiên cứu, hoặc một số hoạt động cụ thể hoặc có quyền từ chối tham gia nghiên cứu. Ngoài ra, anh/chị cũng có thể quyết định rút khỏi nghiên cứu bất kỳ lúc nào và sẽ không có ảnh hưởng nào với vấn đề chăm sóc sức khỏe và sử dụng dịch vụ y tế của anh/chị và các thành viên khác trong gia đình. Nếu anh/chị quyết định rút khỏi nghiên cứu sau khi đã tham gia, anh/chị cũng có thể quyết định cho nghiên cứu giữ lại hay hủy bỏ số liệu hay mẫu đã thu thập.

8. Tính bảo mật

Anh/chị hoặc con của anh/chị sẽ được cấp một mã số nghiên cứu, mã số này sẽ được sử dụng thay cho tên anh/chị hoặc con của anh/chị trong các tài liệu nghiên cứu và số liệu phân tích.

Thông tin điện tử sẽ được bảo mật và sẽ không giúp xác định các thông tin cá nhân của người tham gia nghiên cứu. Thông tin của người tham gia nghiên cứu sẽ được bảo mật tuyệt đối và sẽ không được chia sẻ với ai ngoài thành viên nhóm nghiên cứu. Kết quả của nghiên cứu sẽ được công bố vì những mục đích có lợi cộng đồng và khoa học. Chúng tôi sẽ công bố kết quả nghiên cứu trên các tạp chí khoa học hay qua các bài trình bày tại các hội thảo. Tuy nhiên, thông tin cá nhân của anh/chị hoặc con anh/chị sẽ không xuất hiện trên bất kỳ ấn phẩm hay bài trình bày nào.

Chúng tôi sẽ lưu giữ các biểu mẫu nghiên cứu có chứa thông tin cá nhân của người tham gia nghiên cứu ở nơi bảo mật. Chỉ những người làm việc trong nghiên cứu được phép xem các biểu mẫu này. Chúng tôi sẽ giữ các mẫu này phục vụ nghiên cứu trong tối đa 10 năm dưới sự giám sát của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học. Một số mẫu sẽ được gửi sang Đại học Florida, Hoa Kỳ để thực hiện các phân tích chuyên sâu. Ngoài ra, các thông tin và mẫu đã thu thập cũng có thể sẽ được sử dụng cho các nghiên cứu khác trong tương lai phục vụ cho lợi ích sức khỏe cộng đồng với sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học.

II. CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tôi đã đọc và hiểu thông tin trên đây về mục đích, các bước tiến hành, nguy cơ và lợi ích, đã có cơ hội xem xét và đặt câu hỏi về thông tin liên quan đến nội dung trong nghiên cứu

“THỰC TRẠNG, ĐẶC ĐIỂM VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ CỦA BỆNH THAN TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM, 2010-2022”. Tôi đã nói chuyện trực tiếp với nghiên cứu viên và được trả lời thỏa đáng tất cả các câu hỏi. Tôi cũng đã có cơ hội thảo luận với các thành viên khác trong hộ gia đình để có sự đồng thuận tham gia vào nghiên cứu. Chúng tôi không phải từ bỏ bất kỳ quyền con người nào. Tôi nhận một bản sao của tài liệu này.

Tôi tự nguyện đồng ý tham gia nghiên cứu với các nội dung sau:

<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	Đồng ý cung cấp các thông tin về hộ gia đình theo bộ câu hỏi
<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	Đồng ý cung cấp các loại mẫu sau để làm xét nghiệm: - Mẫu máu (3-5ml) - Mẫu động vật (vết loét, chất nôn, thịt, nội tạng, da, lông, xương) - Mẫu đất (chuồng trại, nơi chăn thả...) - Mẫu nước thải
<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	Đồng ý cho nghiên cứu lưu trữ các loại mẫu thu được để sử dụng cho các nghiên cứu khác trong tương lai được Hội đồng đạo đức phê duyệt

Người tham gia trên 16 tuổi ký ở đây:

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

Người giám hộ ký ở đây (nếu người tham gia dưới 18 tuổi)

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

Nếu người ký ở trên không tự đọc được, cần có người làm chứng độc lập với cán bộ nghiên cứu có mặt và ký vào đây:

Tôi đã có mặt trong suốt quá trình lấy chấp thuận tham gia của người tham gia và người giám hộ. Phiếu này đã được đọc chính xác cho người tham gia và tất cả các câu hỏi của người tham gia đã được trả lời và họ đã đồng ý tham gia vào nghiên cứu này.

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

Xác nhận của nghiên cứu viên/người lấy chấp thuận:

Tôi, người ký ở dưới đây, đã giải thích đầy đủ các thông tin về nghiên cứu cho người có tên như trên và sẽ gửi lại cho họ một bản chấp thuận tham gia nghiên cứu đã được ký và ghi ngày.

_____	_____	___/___/___
Ký tên	Họ và tên	Ngày ký

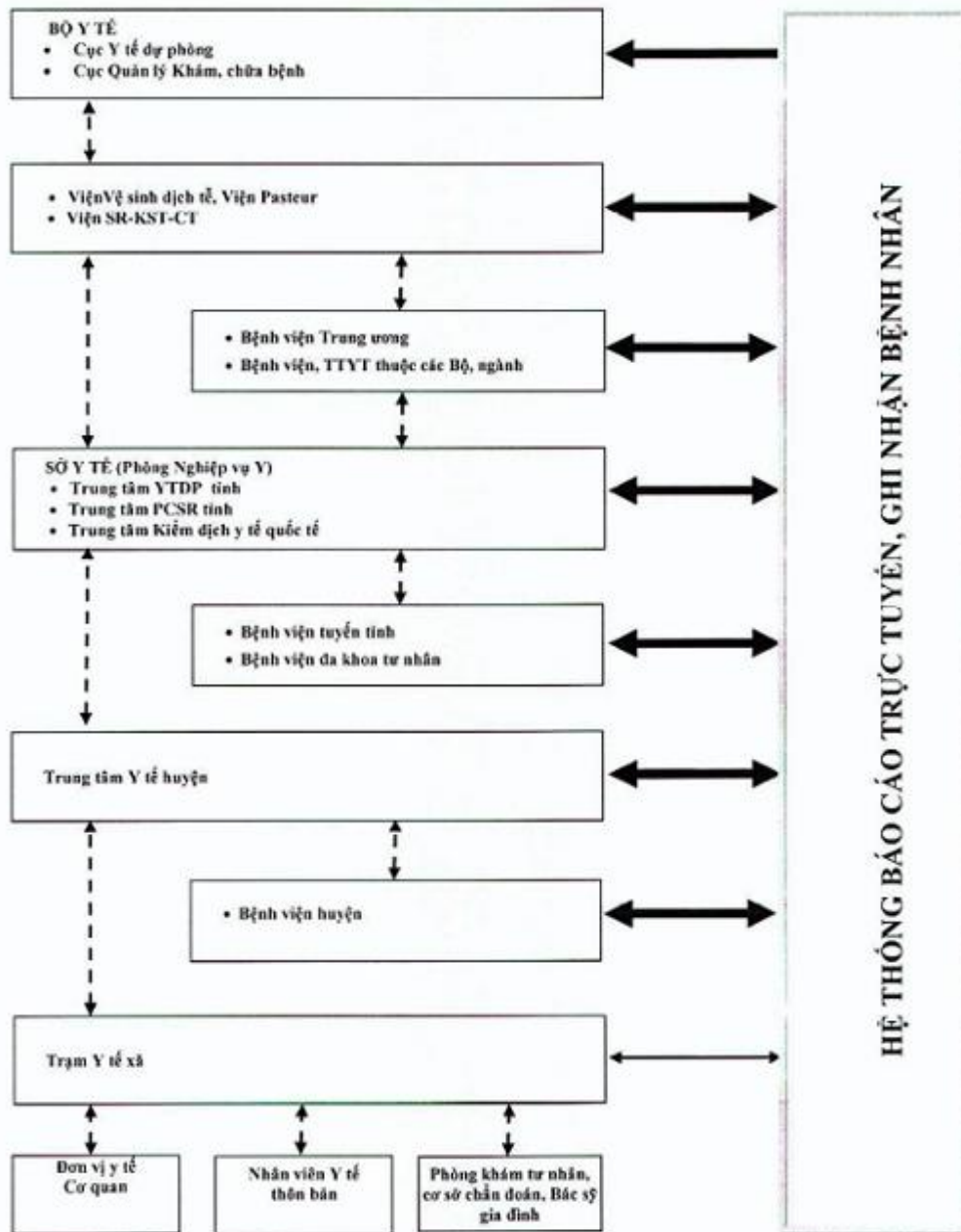
PHỤ LỤC 4: BIẾN SỐ CHỈ SỐ NGHIÊN CỨU

Nhóm chỉ số/biến số	Tên biến	Loại biến	Định nghĩa biến	Phương pháp thu thập
<i>Mục tiêu 1: Mô tả thực trạng bệnh than trên người, động vật và môi trường tại tỉnh Hà Giang, Sơn La giai đoạn 2010 - 2022</i>				
Thông tin về đối tượng nghiên cứu	Nơi sinh sống	Định danh	Theo tỉnh/ thành phố Theo vùng kinh tế xã hội: nông thôn, thành thị.	Bộ câu hỏi, danh sách bệnh nhân
	Tuổi	Định lượng, liên tục	Phân nhóm tuổi, tuổi trung bình	
	Giới	Nhị phân	Nam/Nữ	
	Nghề Nghiệp	Định danh	Nông nghiệp, công nhân...	
	Dân tộc	Định danh	Kinh, Mông, Thái...	
	Học Vấn	Thứ hạng	Không đi học, cấp 1,2,3, đại học...	
Thông tin dịch tễ	Tháng mắc bệnh	Định lượng, liên tục	Phân bố theo tháng trong năm	
	Năm mắc bệnh	Định lượng, liên tục	Từ năm 2010 đến năm 2022	
	Tiền sử mắc bệnh	Nhị phân	Trong 1 tháng trước (có/không)	
	Tiền sử tiếp xúc gia súc	Nhị phân	Trong 1 tuần trước (có/không)	
	Lâm sàng bệnh than trên người	Định danh	Triệu chứng lâm sàng (loét, ngứa, sốt...)	
	Đơn vị điều trị	Định danh	Bệnh viện, tại nhà	
Toạ độ GPS của trường hợp bệnh (chi tiết đến thôn bản)	Định lượng Liên tục	Kinh độ, vĩ độ, độ cao		

Nhóm chỉ số/biến số	Tên biến	Loại biến	Định nghĩa biến	Phương pháp thu thập
	Chẩn đoán bệnh	Định danh	Lâm sàng, xét nghiệm	
	Chăn nuôi gia súc	Định danh	Loại gia súc	
	Nguyên nhân gia súc chết	Định danh	Nguyên nhân	
	Hình thức xử lý gia súc chết	Định danh	Cách xử lý	
	Nguồn thức ăn cho gia súc	Định danh	Loại thức ăn	
	Cách xử lý phân gia súc	Định danh	Cách xử lý	
	Kiến thức đúng về phòng chống bệnh than	Nhị phân	Kiến thức đúng, không đúng	
	Thực hành đúng về phòng chống bệnh than	Nhị phân	Thực hành đúng, không đúng	
	Phân bố đàn gia súc theo thời gian	Định lượng Liên tục	Số lượng gia súc theo năm	
	Gia súc chết	Định lượng Liên tục	Số lượng	
	Loại mẫu bệnh phẩm gia súc	Định danh	Thịt trâu, bò...	
	Loại mẫu môi trường	Định danh	Đất	
<i>Mục tiêu 2: Xác định một số yếu tố nguy cơ mắc bệnh than tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019 - 2022</i>				
Nhóm yếu tố nhân khẩu học	Tuổi, giới tính, dân tộc, học vấn	Đã mô tả ở mục tiêu 1		
Nhóm yếu tố bên ngoài	Sử dụng nguồn nước	Thứ hạng	Nguy cơ khác nhau ở các nhóm	
	Làm sạch thức ăn gia súc	Nhị phân	Có/không	
	Tiền sử tiếp xúc với gia súc	Nhị phân	Nhóm tiếp xúc có nguy cơ cao hơn nhóm	

Nhóm chỉ số/biến số	Tên biến	Loại biến	Định nghĩa biến	Phương pháp thu thập
	ôm chết		không tiếp xúc	
	Tiền sử sinh hoạt gần chuồng nuôi	Nhị phân	Trước thời gian mắc bệnh có sinh hoạt gần chuồng gia súc không	
	Sử dụng chế phẩm động vật	Nhị phân	Sử dụng chế phẩm nguy cơ mắc bệnh than	
	Tiền sử bệnh than xung quanh nơi sống	Nhị phân	Quanh hộ gia đình sinh sống, trong khu vực thôn bản	
	Xử lý phân gia súc	Nhị phân	Có xử lý hay không (chôn)	Bộ câu hỏi, danh sách bệnh nhân
	Xử lý gia súc chết	Nhị phân	Có xử lý hay không (chôn)	
	Đã nghe về bệnh than	Nhị phân	Từng nghe về bệnh hay chưa (triệu chứng bệnh)	
	Bệnh nhân là người chăn thả gia súc	Nhị phân	Có/không	
	Tiêm vắc xin cho gia súc	Nhị phân	Có/không (Tiêm chiến dịch)	
	Mổ thịt gia súc óm, chết	Nhị phân	Có/không	
<i>Mục tiêu 3: Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử của vi khuẩn B. anthracis phân lập được tại tỉnh Hà Giang, Sơn La năm 2019-2022</i>				
Thông tin về mẫu, chủng, kiểu gen	Thời gian thu thập mẫu	Định lượng, liên tục	Ngày, tháng, năm	
	Địa điểm của mẫu	Định danh	Theo tỉnh, huyện, xã	Bộ câu hỏi, danh sách bệnh nhân, số liệu từ phòng thí nghiệm tại NIHE
	Tên chủng	Định danh	Tên	
	Mẫu bệnh phẩm phân lập chủng	Định danh	Loại mẫu	
	Tên kiểu gen	Định danh	Tên	

PHỤ LỤC 5: LƯU ĐỒ CHẾ ĐỘ THÔNG TIN BÁO CÁO VÀ KHAI BÁO BỆNH, DỊCH BỆNH TRUYỀN NHIỄM THEO THÔNG TƯ 54



Ghi chú: —————> Kênh báo cáo trực tuyến
 -----> Kênh báo cáo không trực tuyến (nếu không thực hiện được báo cáo trực tuyến)

**PHỤ LỤC 6: QUY TRÌNH GIÁM SÁT DỰA VÀO SỰ KIỆN
THEO QUYẾT ĐỊNH SỐ 2018/QĐ-BYT**

