

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

-----*-----

PHẠM KHÁNH TÙNG

**THỰC TRẠNG VIÊM NÃO NHẬT BẢN, MỘT SỐ
ĐẶC ĐIỂM CỦA VÉC TƠ VÀ TÁC NHÂN GÂY
BỆNH TẠI KHU VỰC TÂY NGUYÊN, 2005 – 2018**

Chuyên ngành: Y tế công cộng

Mã số: 62720301

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y TẾ CÔNG CỘNG

HÀ NỘI – 2020

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH
TẠI VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG**

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS Đặng Tuấn Đạt
2. GS.TS Phan Thị Ngà

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Viện họp tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, vào hồi ... giờ ... , ngày ... tháng ... năm 2020.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc gia
2. Thư viện Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung Ương

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh viêm não Nhật Bản (VNNB), đã và đang là vấn đề y tế đáng quan ngại, do hậu quả và gánh nặng bệnh tật, cũng như những khó khăn trong phòng, chống, kiểm soát bệnh dịch này tại cộng đồng. Trên thế giới bệnh VNNB vẫn ghi nhận số mắc hàng năm trung bình khoảng 67.900 trường hợp, tỷ lệ chung là 1,8/100.000 dân và có nguy cơ bùng phát dịch.

Tại Việt Nam, từ năm 1959 đã phát hiện được hội chứng viêm não cấp ở trẻ em, sau đó xảy ra trên địa bàn rộng nhiều năm nay. Tại Tây Nguyên, trong các năm 2000-2001 xác định được 21 trường hợp VNNB. Giai đoạn 2002-2005, ghi nhận được 283 trường hợp viêm não, trong đó 50 trường hợp tử vong. Cho đến nay, khu vực Tây Nguyên vẫn chưa có một nghiên cứu tổng thể, đầy đủ về bệnh, véc tơ truyền bệnh, cấu trúc phân tử của vi rút viêm não Nhật Bản. Do vậy, chúng tôi xây dựng và nghiên cứu đề tài, với mục tiêu:

1. Mô tả thực trạng viêm não Nhật Bản tại 4 tỉnh khu vực Tây Nguyên, 2005–2018.

2. Xác định thành phần loài, phân bố và tỷ lệ nhiễm vi rút viêm não Nhật Bản của một số loài muỗi thuộc giống Culex ở khu vực Tây Nguyên, 2005 - 2018.

3. Mô tả một số đặc điểm phân tử của vi rút viêm não Nhật Bản phân lập được ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018.

Những điểm mới về khoa học và giá trị thực tiễn của đề tài

Đề tài là công trình nghiên cứu có hệ thống, đầy đủ về thực trạng, tình hình VNNB, véc tơ truyền bệnh và đặc điểm phân tử VNNB ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018.

Nghiên cứu đã mô tả thực trạng về hội chứng viêm não cấp (HCVNC), VNNB; xác định được tỷ lệ nhiễm vi rút viêm não Nhật Bản của một số loài muỗi thuộc giống *Culex*. Mô tả đặc điểm phân tử của vi rút VNNB được phân lập trên muỗi, đã xác định được sự khác biệt về trình tự nucleotide vùng gen E của vi rút VNNB GI tại Tây Nguyên với các địa phương khác, trong nước, khu vực, và xác định có 8 vị trí thay đổi acid amin, đóng góp trong ngân hàng gen về trình tự vùng gen E của 4 chủng vi rút VNNB tương ứng có mã số là HM228922, HM228923, AB728500 và AB728499.

CẤU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 123 trang không kể tài liệu tham khảo và phụ lục, 21 bảng, 26 hình.

Đặt vấn đề 2 trang; tổng quan tài liệu 33 trang; đối tượng và phương pháp nghiên cứu 19 trang; kết quả nghiên cứu 38 trang; bàn luận 28 trang; kết luận 2 trang và khuyến nghị 1 trang.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Dịch tễ học bệnh viêm não Nhật Bản

1.1.1. Lịch sử xuất hiện bệnh trên thế giới và Việt Nam

Lịch sử nghiên cứu bệnh VNNB đã được các nhà khoa học Nhật Bản ghi nhận từ năm 1871 với các triệu chứng viêm não ở ngựa và ở người. Theo ước tính, thế giới có khoảng ba tỷ người sống trong vùng lưu hành vi rút VNNB và có nguy cơ nhiễm vi rút do muỗi *Culex* truyền, đặc biệt là *Cx.tritaeniorhynchus* và *Cx.vishnui* do có liên quan đến canh tác trồng lúa nước và nuôi lợn ở Châu Á.

Ở Việt Nam, lần đầu tiên bệnh VNNB được ghi nhận vào năm 1953 với báo cáo sơ bộ của hai nhà khoa học người

Pháp là Puyuelo H. và Pre'vot M. về 98 trường hợp mắc VNNB được ghi nhận trong quân đội viễn chinh Pháp tại miền Bắc Việt Nam. Đồng thời vai trò truyền vi rút VNNB của muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* cũng đã được khẳng định bằng kết quả phân lập được vi rút từ loài muỗi này.

Tại Tây Nguyên, theo tài liệu của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung Ương (VSDTTW), thống kê tình hình "hội chứng viêm não cấp" ở Việt Nam từ 1979-1990, cho thấy, tỷ lệ mắc trên 100.000 dân dao động từ 1,62 (1990) đến 5,96 (1984) và tỷ lệ tử vong dao động từ 0,18 (1990) đến 0,76 (1983). Trong các năm 2000-2001, xác định được 21 ca VNNB. Giai đoạn, 2002-2005 phát hiện được trên 283 trường hợp viêm não, trong đó 50 trường hợp tử vong, riêng tại Gia Lai đã phát hiện được 46 ca VNNB từ 74 bệnh phẩm của bệnh nhân có HCVNC.

1.1.2. Tác nhân gây bệnh

Tác nhân gây bệnh là vi rút VNNB, một loại vi rút Arbo do muỗi truyền thuộc chi Flavivirus, họ *Flaviviridae*. Vi rút tồn tại được ở -70°C trong khoảng vài năm, hay dưới dạng đông khô bảo quản dài hạn ở -70°C . Ổ chứa thiên nhiên của vi rút VNNB chủ yếu là chim và lợn. Các loại chim hoang dại mang vi rút nhưng không có biểu hiện bệnh lý, nó là nguồn lây nhiễm vi rút cho các loài muỗi sống trong tự nhiên. Cơ chế bệnh sinh của bệnh VNNB phụ thuộc vào các yếu tố là vật chủ cảm nhiễm, sự sẵn có véc tơ truyền bệnh mang vi rút VNNB và ổ chứa vi rút gần người. Vi rút được muỗi truyền vào máu, phát triển ở trong máu và đi khắp cơ thể. Nhờ hướng tính thần kinh, vi rút xâm nhập vào các tế bào thần kinh, sinh sản và phát triển nhanh ở đó, gây nên các phản ứng viêm não dẫn đến các triệu

chứng thần kinh xuất hiện. Bệnh VNNB chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Sử dụng vắc xin VNNB là biện pháp hiệu quả nhất để phòng bệnh VNNB.

1.2. Đặc điểm muỗi *Culex* và vai trò truyền vi rút (VR) viêm não Nhật Bản

Muỗi *Culex* vừa là ổ chứa vi rút vừa là véc tơ truyền vi rút sang người. Tại Việt Nam một số loài *Culex*, trong đó có *Cx. tritaeniorhynchus* được xác định là véc tơ chính truyền bệnh VNNB. Dựa trên cơ sở dữ liệu và quan sát thực tế đã xác định, chu kỳ bình thường của vi rút VNNB trong thiên nhiên là chu kỳ "chim-muỗi". Về mùa hè chu kỳ này phát triển thêm ra một chu kỳ khuếch đại vi rút là "muỗi-lợn", từ đó có thể dẫn đến chu kỳ đặc biệt "muỗi-người". Ở chu kỳ "muỗi-người" có thể gọi là chu trình cuối cùng, vì vi rút VNNB không lây truyền từ người sang người qua trung gian muỗi véc tơ.

1.3. Đặc điểm phân tử/dịch tễ sinh học phân tử VR VNNB

Trong lĩnh vực vi sinh y học, đặc điểm phân tử/dịch tễ sinh học phân tử là phương pháp hiện đại nhất hiện nay để xác định về đặc điểm phân tử của tác nhân gây bệnh, nguồn gốc của tác nhân gây bệnh, sự lan truyền của chúng theo không gian, thời gian ở mức độ phân tử. Nó đã trở thành một công cụ chính xác và cần thiết trong công tác giám sát dịch tễ học vì nó có thể: xác định được nguồn gốc, sự mới xuất hiện và sự lan rộng của tác nhân gây bệnh; theo dõi được sự thay đổi, tiến hóa các chủng gây bệnh ở mức phân tử theo thời gian và phân vùng địa lý; xác định được xu hướng của bệnh dịch liên quan đối với những tác nhân gây bệnh mang gene độc lực ở mức độ cao hoặc thấp;

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu cho mục tiêu 1: Các trường hợp HCVNC nghi ngờ do vi rút và VNNB có phiếu điều tra (Phụ lục 1) ở 4 tỉnh của khu vực Tây Nguyên, 2005-2018.

Đối tượng nghiên cứu cho mục tiêu 2: Một số loài muỗi *Culex* thu thập ở 4 tỉnh khu vực Tây Nguyên, 2005-2018; Vi rút VNNB được phân lập từ muỗi *Culex* ở Tây Nguyên, 2005-2018.

Đối tượng nghiên cứu cho mục tiêu 3: Trình tự nucleotide và acid amin vùng gen E của các chủng vi rút VNNB được phân lập từ muỗi *Culex* ở 4 tỉnh của Tây Nguyên.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại 4 tỉnh thuộc khu vực Tây Nguyên: Kon Tum, Gia Lai, Đắk Lắk và Đắk Nông.

2.1.3. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ năm 2017 đến 2018.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang (cross-sectional study).

2.2.2. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu cho mục tiêu 1

Thu thập thực hiện phiếu điều tra 713 bệnh nhân HCVNC do vi rút trong đó có 168 trường hợp VNNB được xác định, 2005-2018 ở 4 tỉnh của khu vực Tây Nguyên.

Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu cho mục tiêu 2

Số muỗi *Culex* thu được 138 mẫu với 5.368 cá thể muỗi của giai đoạn 2005-2007 và 236 mẫu với 8.351 cá thể muỗi thu

thập giai đoạn 2012-2014 để mô tả và xét nghiệm khả năng nhiễm vi rút VNNB; thu thập tại thực địa trong 2 năm (2017-2018) là 372 cá thể muỗi, số mẫu muỗi để phân lập 166.

Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu cho mục tiêu 3

04 chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex*, 2007 trong giai đoạn thu thập mẫu muỗi *Culex*, 2005-2007; 05 chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex* trong năm 2018, (2017-2018).

2.2. Nội dung nghiên cứu

2.2.1. Kỹ thuật và công cụ thu thập thông tin

Kỹ thuật và công cụ thu thập thông tin, cách tiến hành, đánh giá kết quả cho mục tiêu 1

Phương pháp thu thập số liệu: Từ hệ thống báo cáo, thống kê, giám sát tình hình dịch bệnh, với thông tin bệnh nhân VNNB về tuổi, giới, nghề nghiệp, dân tộc, kết quả xét nghiệm, v.v. bằng phương pháp quan sát, ghi chép các số liệu có sẵn theo phiếu điều tra.

Kỹ thuật và công cụ thu thập thông tin, cách tiến hành, đánh giá kết quả cho mục tiêu 2

Phương pháp thu thập số liệu: Thu thập toàn bộ số liệu, khai thác về thành phần, phân bố, vai trò truyền bệnh của muỗi *Culex* giai đoạn 2005-2016; Điều tra bắt muỗi tại thực địa, định loại loài muỗi để thống kê, mô tả thành phần, phân bố các loài muỗi *Culex* thu được.

Kỹ thuật thực hiện nghiên cứu: Kỹ thuật thu thập muỗi; kỹ thuật định loại muỗi *Culex*; kỹ thuật bảo quản, vận chuyển mẫu muỗi sau định loại từ thực địa

Kỹ thuật và công cụ thu thập thông tin, cách tiến hành, đánh giá kết quả cho mục tiêu 3

Kỹ thuật thực hiện: Tinh sạch sản phẩm RT-PCR để giải trình tự bằng phương pháp Sanger; xây dựng cây phát sinh loài.

2.3. Đạo đức trong nghiên cứu

Đề tài thực hiện với đề cương đã được thông qua Hội đồng Đạo đức Y sinh học của Viện VSDTTW.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thực trạng bệnh viêm não Nhật Bản tại 4 tỉnh khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Bảng 3.1. Tỷ lệ mắc, chết do HCVNC, VNNB chung ở 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005- 2018

Năm	Mắc HCVNC	Chết	Mắc HCVNC/ 100.000 dân	Mắc VNNB	Chết	Mắc VNNB/ 100.000 dân	Chết VNNB/ 100.000 dân
2005	40	4	1,11	10	4	0,28	0,11
2006	46	3	1,24	11	3	0,30	0,08
2007	16	0	0,32	2	0	0,04	0,00
2008	20	2	0,53	7	2	0,18	0,05
2009	28	2	0,72	11	2	0,28	0,05
2010	21	2	0,52	4	2	0,10	0,05
2011	40	0	0,99	13	0	0,32	0,00
2012	11	0	0,27	2	0	0,05	0,00
2013	46	0	1,10	8	0	0,19	0,00
2014	63	3	1,43	7	3	0,16	0,07
2015	107	9	2,48	33	9	0,76	0,21
2016	90	0	2,02	20	0	0,45	0,00
2017	113	7	2,45	28	7	0,61	0,15
2018	72	2	1,56	12	2	0,26	0,04
Chung	713	34	1,21	168	34	0,29	0,06

Có 713 ca HCVNC, tỷ lệ mắc chung là 1,21/100.000 dân. Trong đó có 168 ca VNNB, tỷ lệ dương tính là 23,56%. Tỷ lệ mắc VNNB chung là 0,29/100.000 dân. Số tử vong do VNNB là 34 ca, tỷ lệ tử vong chung 0,06/100.000 dân.

Bảng 3.2. Tỷ lệ chết/mắc do VNNB tại 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005 – 2018

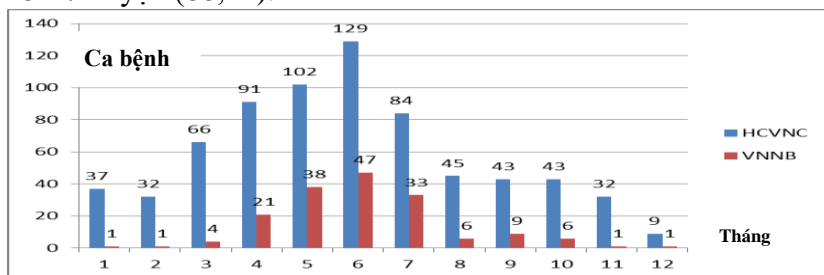
Tỉnh Năm	Gia Lai		Kon Tum		Đắk Lắk		Đắk Nông	
	M/ 10 ⁵ dân	C/M%	M/ 10 ⁵ dân	C/M%	M/ 10 ⁵ dân	C/M%	M/ 10 ⁵ dân	C/M%
2005	0,89	40,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2006	0,67	37,50	0,79	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2007	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2008	0,58	28,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2009	0,88	18,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2010	0,30	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2011	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2012	0,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2013	0,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2014	0,46	42,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2015	1,00	35,71	0,21	0,00	0,75	21,43	0,70	25,00
2016	0,96	0,00	0,99	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
2017	1,41	14,29	0,56	100,00	0,20	25,00	0,00	0,00
2018	0,67	10,00	0,37	50,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Chung	0,70	19,10	0,23	28,57	0,07	21,05	0,05	25,00

Gia Lai là tỉnh có tỷ lệ mắc VNNB cao nhất 0,7/100.000 dân, thấp nhất tại Đắk Nông 0,05/100.000 dân. Tỷ lệ chết/mắc ở Kon Tum cao hơn cả (28,57%) và thấp nhất là Gia Lai (19,1%).

Bảng 3.3. Phân bố theo huyện/thị xã/thành phố số mắc HCVNC, VNNB ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Tỉnh	Số huyện	Ca bệnh	Số huyện mắc	Tỷ lệ (%)
Gia Lai	17	HCVNC	16	94,12
		VNNB	15	88,24
Kon Tum	10	HCVNC	9	90,00
		VNNB	7	70,00
Đắk Lắk	15	HCVNC	15	100,00
		VNNB	8	53,33
Đắk Nông	8	HCVNC	5	62,50
		VNNB	3	37,50
Chung	50	HCVNC	45	90,00
		VNNB	33	66,00

HCVNC ghi nhận ở 45/50 (90%) huyện/thành phố/thị xã của 4 tỉnh. VNNB được xác định ở 33/50 (66%) huyện/thành phố/thị xã, trong đó Gia Lai có số huyện mắc VNNB nhiều hơn cả 15/17 huyện (88,24).



Hình 3.2. Phân bố số mắc HCVNC, VNNB theo tháng tại 04 tỉnh Tây Nguyên, 2005-2018

Các ca bệnh xuất hiện quanh năm, tăng dần vào những tháng cuối mùa khô, đầu mùa mưa (tháng mùa hè), đạt đỉnh vào tháng 6 với 129 ca HCVNC và 47 ca VNNB.

Bảng 3.4. Tỷ lệ HCVNC, VNNB phân bố theo nhóm tuổi ở 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005- 2018

Tuổi	HCVNC			VNNB		
	Số ca	(%)		Số ca	(%)	
<1	70	9,82	59,61	4	2,38	69,64
1-4	131	18,37		40	23,80	
5-9	134	18,80		51	30,36	
10-14	90	12,62		22	13,10	
≥15-70	288	40,39		51	30,36	
Tổng	713	100,00		168	100,00	

HCVNC ghi nhận ở nhóm < 15 tuổi chiếm tới 59,61%, nhóm tuổi ≥15-70 là 40,39%. VNNB ở nhóm <15 tuổi có tỷ lệ mắc cao (69,64%) so với nhóm ≥15 tuổi (30,36%).

Bảng 3.9. Tỷ lệ mắc HCVNC, VNNB phân bố theo giới tại 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005- 2018

Tỉnh	Ca bệnh	Nam		Nữ		Tổng	
		Số ca	(%)	Số ca	(%)	Số ca	(%)
Gia Lai	HCVNC	372	62,63	222	37,37	594	100,00
	VNNB	79	60,31	52	39,69	131	100,00
Kon Tum	HCVNC	29	61,70	18	38,30	47	100,00
	VNNB	10	71,43	4	28,57	14	100,00
Đắk Lắk	HCVNC	33	55,93	26	44,07	59	100,00
	VNNB	9	47,37	10	52,63	19	100,00
Đắk	HCVNC	3	23,08	10	76,92	13	100,00

Tỉnh	Ca bệnh	Nam		Nữ		Tổng	
		Số ca	(%)	Số ca	(%)	Số ca	(%)
Nông	VNNB	2	50,00	2	50,00	4	100,00
Chung	HCVNC	437	61,29	276	38,71	713	100,00

Nam mắc 437 ca HCVNC chiếm 61,29%, nữ mắc 276 ca (38,71%). Trong số 168 ca VNNB, ở nam giới là 59,52 % cao hơn ở nữ giới (40,48%).

Bảng 3.10. Tỷ lệ mắc HCVNC, VNNB theo nhóm dân tộc tại 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005- 2018

Tỉnh	Ca bệnh	Kinh		Gia Rai		Khác (Xơ Đăng ⁽¹⁾ , Ê Đê ⁽²⁾ , M'Nông ⁽³⁾ , v.v..)		Tổng	
		Số ca	%	Số ca	%	Số ca	%	Số ca	%
Gia Lai	HCVNC	144	24,24	445	74,92	5	0,84	594	100,00
	VNNB	12	9,16	119	90,84	0	0,00	131	100,00
Kon Tum	HCVNC	5	10,64	0	0,00	42	89,36	47	100,00
	VNNB	0	0,00	0	0,00	14 ⁽¹⁾	100,00	14	100,00
Đắk Lắk	HCVNC	30	50,85	0	0,00	29	49,15	59	100,00
	VNNB	7	36,84	0	0,00	12 ⁽²⁾	63,16	19	100,00
Đắk Nông	HCVNC	8	61,54	0	0,00	5	38,46	13	100,00
	VNNB	3	75,00	0	0,00	1 ⁽³⁾	25,00	4	100,00
Chung	HCVNC	187	26,23	445	62,41	81	11,36	713	100,00
	VNNB	22	13,10	119	70,83	27	16,07	168	100,00

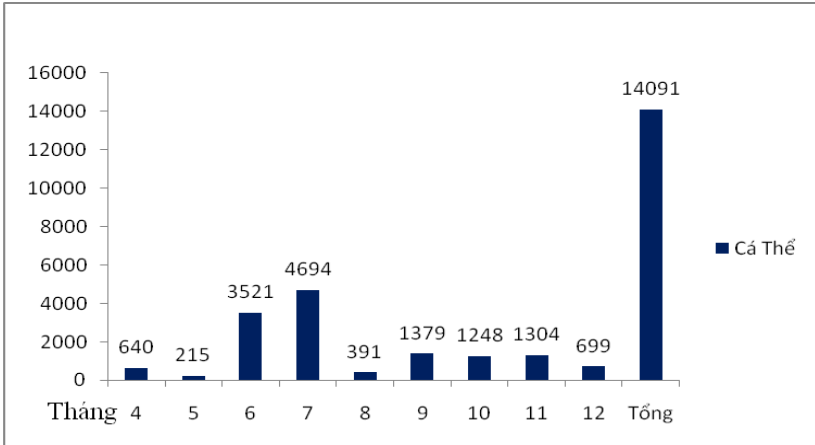
Có tới 119 ca VNNB (70,83%) là người Gia Rai, còn lại 27 ca (16,07%) mắc ở các tộc người (Xơ Đăng, Ê Đê, Ba Na, v.v..), người Kinh mắc 22 ca, chiếm 13,10%.

3.2. Thành phần loài, phân bố và tỷ lệ nhiễm VR VNNB của muỗi thuộc giống *Culex* ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Bảng 3.11. Thành phần, phân bố một số loài muỗi *Culex* ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

TT	Tên loài	Gia Lai	Kon Tum	Đắk Lắk	Đắk Nông	Tổng số cá thể (Tỷ lệ%)
1	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	2.043	1.039	2.075	911	6.068 (43,06%)
2	<i>Cx. vishnui</i>	1.649	2.199	823	426	5.097 (36,17%)
3	<i>Cx. fuscocephala</i>	212	451	63	201	927 (6,58%)
4	<i>Cx. gelidus</i>	132	208	337	119	796 (5,65%)
5	<i>Cx. malayi</i>	118	112	156	67	453 (3,22%)
6	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	180	143	77	41	441 (3,13%)
7	<i>Cx. khazani</i>	33	88	32	32	185 (1,31%)
8	<i>Cx. whitmorei</i>	66	0	0	0	66 (0,47%)
9	<i>Cx. pseudovishnui</i>	58	0	0	0	58 (0,41%)
Tổng số cá thể muỗi		4.491 31.87 (%)	4.240 30.09 (%)	3.563 25.29 (%)	1.797 12.75 (%)	14.091 (100%)

Có 09 loài muỗi, chiếm số lượng nhiều là *Cx. tritaeniorhynchus* (43,06%). Có 07 loài muỗi phát hiện ở cả 4 tỉnh, 02 loài *Cx. pseudovishnui* và *Cx. whitmorei* chỉ có tại Gia Lai.



Hình 3.3. Phân bố số lượng muỗi *Culex* thu được theo thời gian (tháng) tại 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005- 2018

Muỗi thu được từ tháng 04-12, trong đó tháng 7 là nhiều nhất có 4.694 cá thể chiếm 33,31%.

Bảng 3.15. Phân lập vi rút VNNB bằng tế bào C6/36 từ một số loài muỗi *Culex* thu thập ở KV Tây Nguyên, 2005-2018

Thời gian thu thập muỗi	Số mẫu phân lập	Số mẫu gây hiện tượng hủy hoại trên tế bào	Số mẫu xác định VNNB bằng RT-PCR
2005-2007	138	17	04
2012-2014	236	26	0
2017-2018	166	51	05
Tổng số	540	94	09

Có 94 mẫu gây hiện tượng hủy hoại trên tế bào muỗi C6/36, đã xác định 9 mẫu dương tính. Bao gồm 04 mẫu từ muỗi *Culex* năm 2007 và 05 mẫu năm 2018.

Bảng 3.16. Kết quả phân lập VR VNNB bằng tế bào C6/36 từ một số loài muỗi *Culex* ở KV Tây Nguyên, 2005-2018

TT	Tên loài	Số mẫu phân lập	Số mẫu gây hiện tượng hủy hoại trên tế bào	Số mẫu dương tính
1	<i>Cx. fuscocephala</i>	45	7	1
2	<i>Cx. gelidus</i>	74	9	0
3	<i>Cx. khazani</i>	7	0	0
4	<i>Cx. malayi</i>	31	0	0
5	<i>Cx. pseudovishnui</i>	2	0	0
6	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	62	6	0
7	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	176	49	4
8	<i>Cx. vishnui</i>	140	23	4
9	<i>Cx. whitmorei</i>	3	0	0
Tổng số mẫu muỗi		540	94	09

Có 09 mẫu dương tính vì rút VNNB phân lập, xác định là 3 loài muỗi *Cx. fuscocephalus*, *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui*.

Bảng 3.17. Tỷ lệ nhiễm tối thiểu vi rút VNNB trong một số loài của muỗi *Culex* thu thập ở KV Tây Nguyên, 2005-2018

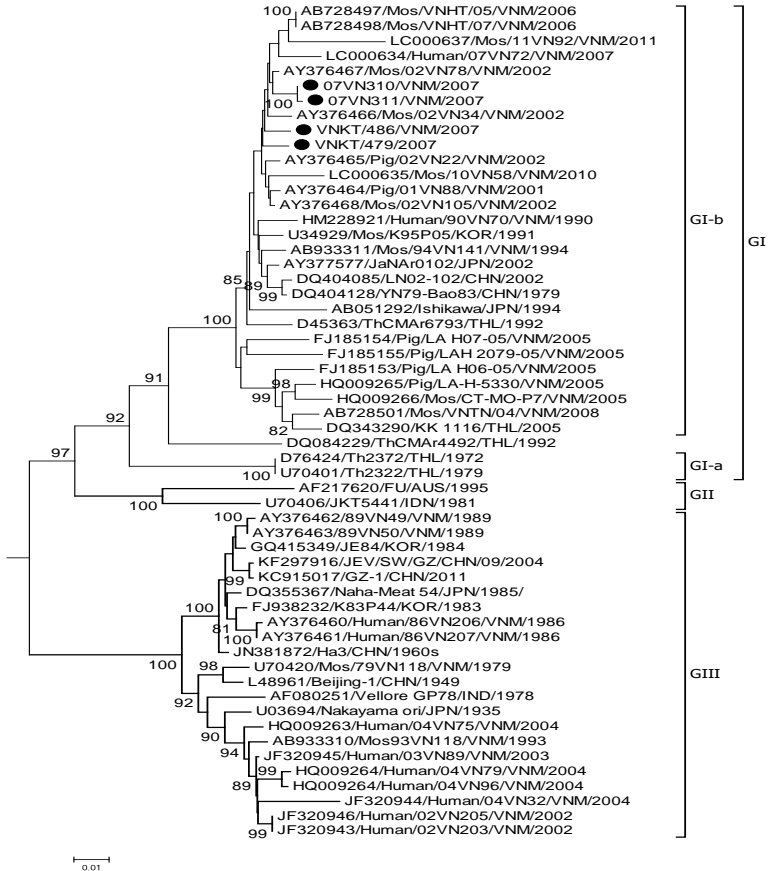
Tên loài	Số mẫu phân lập/Số cá thể muỗi phân lập	Số mẫu (+)	% nhiễm tối thiểu với vi rút VNNB
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	176 (6.068)	02	0,33
<i>Cx. vishnui</i>	140 (5.097)	02	0,39

Tỷ lệ nhiễm vi rút VNNB ở *Cx. tritaeniorhynchus* là 0,33%, còn *Cx. vishnui* là 0,39%.

3.3. Mô tả một số đặc điểm phân tử của vi rút viêm não Nhật Bản phân lập được ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018
Bảng 3.18. Thông tin về các chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex* thuộc khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Ký hiệu chủng	Loài muỗi	Thời gian thu thập	Tỉnh	Định loại VNNB bằng RT-PCR
07VN310	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	6/2007	Kon Tum	Dương tính
07VN311	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	6/2007	Gia Lai	Dương tính
07VN479	<i>Cx. vishnui</i>	7/2007	Kon Tum	Dương tính
07VN486	<i>Cx. vishnui</i>	7/2007	Kon Tum	Dương tính
18VN76	<i>Cx. fuscocephalus</i>	6/2018	Kon Tum	Dương tính
18VN77	<i>Cx. vishnui</i>	6/2018	Kon Tum	Dương tính
18VN129	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	6/2018	Gia Lai	Dương tính
18VN130	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	6/2018	Gia Lai	Dương tính
18VN139	<i>Cx. vishnui</i>	6/2018	Gia Lai	Dương tính

Có 4 chủng vi rút thu được năm 2007 xác định là vi rút VNNB; 5 chủng năm 2018 có kết quả tương đồng cao (99%) với chủng vi rút Manglie (MH807827.1).



Hình 3.10. Cây phát sinh loài được xây dựng từ trình tự nucleotide vùng gen E của một số chủng vi rút VNNB phân lập từ muỗi *Culex* ở khu vực Tây Nguyên

Xác định 4 chủng có ký hiệu 07VN310, 07VN311, 07VN479 và 07VN486 phân lập từ muỗi *Culex* thu thập ở tỉnh Gia Lai, Kon Tum là vi rút VNNB genotype I (GI) và đã đăng ký, được cấp mã số trong ngân hàng gen: mã số HM228922, HM228923, AB728500 và AB728499.

Bảng 3.19. Độ khác biệt ở mức nucleotide giữa các vi rút VNNB GI ở KV Tây Nguyên với Việt Nam và khu vực

Genotype	Tiêu chí so sánh	p-distance	Khoảng giá trị
Genotype I	Giữa các vi rút VNNB GI ở một số tỉnh của khu vực Tây Nguyên	1,4%	0,1%–1,8%
	Giữa các vi rút VNNB GI ở Tây Nguyên và các GI ở Việt Nam	2,7%	1,1%–4,9%
	Giữa các vi rút VNNB GI ở Tây Nguyên và các GI trong khu vực	4,8%	1,6%–9,1%

Sự khác biệt về mặt nucleotide giữa 4 chủng VR VNNB phân lập từ muỗi *Culex* trong nghiên cứu: so với của các chủng VR VNNB GI ở Tây Nguyên là 1,4%; so với Việt Nam là 2,7%; so với các chủng GI khác trong khu vực là 4,8%.

Bảng 3.20. Đặc điểm các acid amin thay thế của vi rút VNNB GI phát hiện ở Tây Nguyên so với chủng GI chuẩn

STT	Vị trí amino acid	Amino acid thay thế		Kiểu thay thế
		Chủng chuẩn	Chủng Tây Nguyên	
1	316	Tyr	Asp	Không bảo tồn
2	328	Ser	Met	Không bảo tồn
3	410	Arg	Cys	Không bảo tồn
4	414	Leu	Ser	Không bảo tồn
5	421	Glu	Gly	Không bảo tồn
6	424	Thr	Ile	Không bảo tồn
7	427	Lys	Ser	Không bảo tồn
8	603	Arg	Ser	Không bảo tồn

Có 8 vị trí thay đổi acid amin vùng gen E, với kiểu thay thế không bảo tồn.

Bảng 3.21. Kiểu Haplotype của vi rút VNNB phân lập ở khu vực Tây Nguyên

Ký hiệu chủng	Vị trí acid amin trên gen E								Haplotype
	10	34	36	65	123	209	227	408	
07VN310	D	M	N	V	A	L	S	S	NKSS
07VN311	D	M	N	V	A	L	S	S	NKSS
07VN479	D	M	N	V	S	L	S	S	SKSS
07VN486	N	S	N	V	S	L	S	S	SKSS

Có 4 vị trí acid amin tương ứng là 123, 209, 227 và 408 được dự đoán là nơi chịu áp lực của chọn lọc lần lượt là NKSS với hai chủng có ký hiệu 07VN310 và 07VN311; SKSS với hai chủng có ký hiệu là 07VN479 và 07VN486.

Chương 4. BÀN LUẬN

4.1. Thực trạng viêm não Nhật Bản tại 4 tỉnh khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ mắc HCVNC do vi rút ở 4 tỉnh thuộc khu vực Tây Nguyên trong giai đoạn 2005-2018 được xác định là 1,21/100.000 dân, thấp hơn so với năm 1984 là 5,96. Trong số 713 trường hợp HCVNC do vi rút được xét nghiệm, đã xác định có 168 trường hợp bị VNNB, tỷ lệ xác định dương tính là 23,56% và tỷ lệ mắc VNNB trên 100.000 dân trung bình là 0,29 (0,04-0,76). Kết quả nghiên cứu này cao hơn so với nghiên cứu của Dương Thị Hiền & CS tại Bắc Giang giai đoạn 2006-2015, tỷ lệ mắc VNNB trên 100.000 dân trung bình là 0,25 (0,06-0,65), nhưng thấp hơn nhiều so với kết

quả nghiên cứu Phan Thị Ngà và CS, nghiên cứu giai đoạn 1979-1990 ở miền Bắc Việt Nam, tỷ lệ mắc VNNB trên 100.000 dân dao động từ 1,62 (1990) đến 5,96 (1984), và tỷ lệ xét nghiệm VNNB dương tính ở trẻ <15 tuổi, dao động 50-70%. Tỷ lệ tử vong do VNNB giai đoạn 2005-2018 là 0,06/100.000 dân, thấp hơn so với năm 1990 (0,18/100.000 dân); năm 1983 (0,76/100.000 dân).

Trong nghiên cứu này, 713 trường hợp HCVNC và 168 trường hợp VNNB được ghi nhận quanh năm, trong đó những tháng đầu năm số ca mắc thấp, tăng dần vào những tháng mùa hè và đạt đỉnh vào tháng 6, sau đó giảm dần tới những tháng cuối năm (Hình 3.2). Số mắc VNNB ở người liên quan đến chu kỳ phát triển của véc tơ truyền bệnh muỗi *Culex* vào những tháng nóng, có mưa, thời điểm muỗi sinh sản phát triển ở vùng trồng lúa nước và còn tùy thuộc vào hoạt động canh tác của người địa phương. Hình 3.3, trong nghiên cứu cho thấy trong giai đoạn 2005- 2018, tại khu vực Tây Nguyên, muỗi *Culex* thu thập được nhiều vào thời điểm tháng 6 (3.521 cá thể) và đỉnh cao tháng 7 (4.694 cá thể).

Có tới 90% (45/50) huyện ghi nhận có HCVNC, đáng chú ý VNNB xuất hiện ở 66% (33/50 huyện) tại 04 tỉnh Tây Nguyên được ghi nhận mắc VNNB (Bảng 3.3), trong đó Gia Lai có số huyện mắc VNNB cao nhất khu vực với tỷ lệ 88,24% (15/17) huyện.

VNNB ghi nhận ở mọi lứa tuổi từ trẻ dưới 1 tuổi đến người lớn 70 tuổi. Tuy nhiên, tỷ lệ mắc tập trung cao nhất ở nhóm dưới 15 tuổi chiếm 69,64%, nhóm ≥ 15 tuổi tỷ lệ mắc VNNB 30,36% (Bảng 3.4). Kết quả này tương đối phù hợp với

kết quả nghiên cứu của Phan Thị Ngà và cộng sự (2000-2001), cho thấy bệnh VNNB xảy ra chủ yếu ở trẻ dưới 15 tuổi chiếm tỷ lệ 83,18%.

Nhìn chung, nam giới mắc VNNB (59,52%), cao hơn nữ giới (40,48%), trong đó tại tỉnh Gia Lai, nam 60,31% (79/131) cao hơn nữ 39,69% (52/131). Kết quả cũng không sai khác nhiều so với một số nghiên cứu khác, theo Lê Đức Hình khảo sát tại Bệnh viện Bạch Mai, phân tích 116 bệnh án trong thời gian 1978 -1980, thấy có 68 nam và 48 nữ, v.v..

Tỷ lệ mắc VNNB ở người Gia Rai chiếm cao nhất 70,83% (119/168), tiếp đến các dân tộc khác như Xơ Đăng, Ê Đê, M'Nông, v.v. chiếm 16,07% (27/168), người Kinh chiếm 13,10 (22/168), kết quả này cao hơn nghiên cứu trước đây của Đặng Tuấn Đạt &Cs tại Gia Lai, 2003- 2007, tỷ lệ VNNB người dân tộc Gia Rai chiếm 59,7%.

4.2. Thành phần loài, phân bố và tỷ lệ nhiễm vi rút viêm não Nhật Bản của muỗi thuộc giống *Culex* ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Có 9 loài muỗi *Culex* được thu thập gồm 14.091 cá thể để phân lập VNNB, trong đó 7 loài có ở 4 tỉnh, riêng 2 loài muỗi là *Cx. pseudovishnui* (58 cá thể) và *Cx. whitmorei* (66 cá thể) chỉ được thu thập ở Gia Lai. Loài muỗi chiếm ưu thế nhất là *Cx. tritaeniorhynchus* chúng có mặt ở hầu khắp các điểm điều tra, với tỷ lệ 43,06%, tiếp đến là *Cx. vishnui* chiếm tỷ lệ 36,17%, *Cx. fuscocephala* chiếm tỷ lệ 6,58%, còn 06 loài khác thu thập được tỷ lệ thấp, dao động trong khoảng 0,41%–5,65%.

Số cá thể muỗi thu được nhiều nhất vào tháng 7 và tháng 6, tương ứng 4.694 cá thể chiếm 33,31%, và 3.521 chiếm

24,99%, (Hình 3.3). Đây cũng là thời điểm ghi nhận số ca bệnh HCVNC và VNNB nhiều nhất trong năm, như tháng 6 với 129 ca HCVNC và 47 ca VNNB (Hình 3.2).

Trong nghiên cứu này có 14.091 cá thể muỗi thuộc 9 loài muỗi được thu thập với tổng số 540 mẫu muỗi *Culex* phân lập được thực hiện bao gồm các mẫu muỗi thu thập trong 2005-2007, 2012-2014 và 2017-2018 tương ứng với 138, 236 và 166 mẫu muỗi. Kết quả có 94 mẫu gây hiện tượng bệnh lý trên tế bào, chỉ có 9 mẫu được xác định có thể là vi rút VNNB, bao gồm 4 mẫu phân lập từ muỗi *Culex* thu được 2007 và 5 mẫu phân lập từ muỗi *Culex* thu được 2018. Trong đó chỉ có 4 chủng vi rút phân lập 2007 được xác định là vi rút VNNB.

Bằng kỹ thuật giải trình tự gen vùng gen E bao gồm 2 chủng vi rút VNNB phân lập từ muỗi *Cx. tritaeniorhynchus* và 2 chủng vi rút VNNB phân lập từ *Cx. vishnui*, tỷ lệ nhiễm tối thiểu vi rút VNNB trong quần thể *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* giai đoạn 2005-2018 ở khu vực Tây Nguyên tương ứng là 0,33 và 0,39 (Bảng 3.17). So sánh với một nghiên cứu khác ở Việt Nam giai đoạn 2006-2008, tỷ lệ nhiễm tối thiểu vi rút VNNB trong quần thể *Cx. tritaeniorhynchus* và *Cx. vishnui* tương ứng là 0,71 và 1,30 cao hơn trong nghiên cứu này.

4.3. Một số đặc điểm phân tử của vi rút viêm não Nhật Bản phân lập được từ muỗi ở khu vực Tây Nguyên

Có 9 chủng vi rút được xác định dương tính bằng kỹ thuật RT-PCR, khi giải trình tự chỉ xác định có 4 chủng vi rút phân lập từ muỗi thu thập 2007 là vi rút VNNB bao gồm các chủng có ký hiệu là 07VN310, 07VN311, 07VN479 và 07VN486. Các chủng vi rút này được xác định là vi rút VNNB

GI, sự khác biệt về nucleotide với các GI khác tại các tỉnh thuộc Tây Nguyên, Việt Nam và trong khu vực với tỷ lệ lần lượt là 1,4%-2,7%-4,8%. Trình tự vùng gen E của 4 chủng vi rút này đã có mã số trong ngân hàng gen tương ứng là HM228922, HM228923, AB728500 và AB728499. 05 chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex* ở một số tỉnh của Tây Nguyên năm 2018 với kết quả tương đồng về toàn bộ genome đến 99% với chủng vi rút Manglie có mã số trong ngân hàng gen là MH807827.1, là chủng vi rút đã phân lập ở Trung Quốc 2011.

Phân tích một số biến đổi về acid amin của các vi rút VNNB GI ở khu vực Tây Nguyên xác định có 8 vị trí thay đổi acid amin nhưng chúng đều là sự thay thế không bảo tồn. Về đặc điểm haplotype của vi rút VNNB tại một số tỉnh ở khu vực Tây Nguyên đã phát hiện có hai kiểu haplotype NKSS và SKSS, là hai kiểu haplotype phổ biến nhất của VNNB trên muỗi và lợn tại Việt Nam. Trong đó kiểu haplotype đặc trưng cho kiểu gen GI là NKSS với điểm đặc biệt của kiểu haplotype NKSS là có chứa asparagine (N) ở vị trí acid amin 123, đây là vị trí acid amin quyết định khả năng nhân lên cũng như khả năng gây bệnh của các chủng vi rút VNNB.

KẾT LUẬN

1. Thực trạng viêm não Nhật Bản tại 4 tỉnh Tây Nguyên, 2005–2018

Trong số 713 trường hợp HCVNC nghi ngờ do vi rút ở 4 tỉnh của khu vực Tây Nguyên, 2005-2018 đã xác định có 168 trường hợp VNNB bằng kỹ thuật MAC-ELISA, với tỷ lệ là 23,56%. Tỷ lệ mắc VNNB là 0,29/100000 dân, ghi nhận ở

33/50 (66%) huyện/thị xã/thành phố, tại Gia Lai có số huyện/thị mắc nhiều hơn cả 15/17 (88,24%).

Bệnh VNNB mắc rải rác quanh năm, tăng dần vào những tháng cuối mùa khô, đầu mùa mưa (tháng mùa hè), đạt đỉnh vào tháng 06. Bệnh gặp ở mọi lứa tuổi, nhóm trẻ <15 tuổi có số mắc cao hơn nhóm ≥ 15 tuổi (69,64% & 30,36%). Nam mắc nhiều hơn nữ giới (59,52% & 40,48%). Dân tộc Gia Rai có số mắc cao hơn (70,83%) so với nhóm dân tộc khác Xơ Đăng, Ê Đê, M' Nông, v.v. (16,07%) và người Kinh (13,10%).

2. Thành phần loài, phân bố và tỷ lệ nhiễm vi rút viêm não Nhật Bản của một số loài muỗi *Culex* ở khu vực Tây Nguyên, 2005–2018

Xác định được 9 loài muỗi thuộc giống *Culex* phân bố hầu khắp các địa điểm điều tra, trong đó loài *Cx. tritaeniorhynchus* chiếm tỷ lệ cao nhất là 43,06%, tiếp đến là *Cx. vishnui* là 36,17%; 07 loài còn lại có tỷ lệ dao động trong khoảng 0,41%–6,56%.

Phân lập được 9 chủng vi rút và được xác định dương tính với cặp mồi vùng gen E bằng kỹ thuật RT-PCR, từ muỗi *Culex*, năm 2007 và 2018. Chỉ có 4 chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex* 2007 là vi rút VNNB, còn 5 chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex* 2018 là những chủng vi rút mới lần đầu phát hiện ở Việt Nam có 99% trình tự genome tương tự như vi rút Manglie (MH807827.1).

Đã xác định có 2 chủng vi rút VNNB phân lập được từ *Cx. tritaeniorhynchus* và 2 chủng vi rút VNNB phân lập được từ *Cx. vishnui*, tỷ lệ nhiễm vi rút VNNB tối thiểu trong quần thể *Cx. tritaeniorhynchus* là 0,33% và *Cx. vishnui* là 0,39%.

3. Một số đặc điểm phân tử của vi rút viêm não Nhật Bản phân lập được ở khu vực Tây Nguyên, 2005-2018

Có 4 chủng vi rút VNNB phân lập từ muỗi *Culex* vào năm 2007, được xác định là vi rút VNNB genotype I. 05 chủng vi rút phân lập từ muỗi *Culex* thu thập năm 2018 không phải là vi rút VNNB mà là vi rút mới được phát hiện ở Tây Nguyên.

Có sự khác biệt về trình tự nucleotide vùng gen E của 4 chủng vi rút VNNB GI ở khu vực Tây Nguyên với chủng vi rút VNNB GI ở địa phương khác tại các tỉnh thuộc Tây Nguyên, Việt Nam và khu vực với tỷ lệ khác biệt lần lượt là 1,4% - 2,7% - 4,8%. Các chủng vi rút này có 8 vị trí thay đổi acid amin, nhưng là kiểu thay thế không bảo tồn với hai kiểu haplotype là NKSS và SKSS, trong đó haplotype NKSS là kiểu hiếm gặp.

KHUYẾN NGHỊ

- 1) Cần tiếp tục theo dõi giám sát dịch tễ học HCVNC, VNNB và giám sát điều tra véc tơ truyền bệnh VNNB hàng năm, làm cơ sở đánh giá dịch tễ học, đề xuất các biện pháp phòng chống bệnh này được tích cực, kịp thời và hiệu quả hơn.
- 2) Tiếp tục có những nghiên cứu, giám sát dịch tễ học phân tử vi rút VNNB trên người và véc tơ truyền bệnh; nghiên cứu đánh giá về hiệu quả của dự phòng vắc xin; nghiên cứu yếu tố điều kiện xã hội, phong tục tập quán, v.v. của một số dân tộc thiểu số với tình hình mắc VNNB ở khu vực Tây Nguyên.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Phạm Khánh Tùng**, Ngô Thị Tú Thủy, Trương Xuân Toàn, Võ Gia Bắc, Đặng Tuấn Đạt, Phan Thị Nga (2019), “Một số đặc điểm dịch tễ học của viêm não Nhật Bản ở Tây Nguyên, 2005–2018”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 29, số 12- 2019, tr. 94-101.
2. **Phạm Khánh Tùng**, Bùi Minh Trang, Nguyễn Việt Hoàng, Đặng Tuấn Đạt, Nguyễn Văn Sinh, Trương Xuân Toàn, Phan Thị Tuyết Nga, Nguyễn Hồng Đan, Đỗ Phương Loan, Bùi Mạnh Tuấn, Nguyễn Thị Hồng Yến, Phan Thị Nga (2019), “Xác định thành phần loài muỗi *Culex* và tỷ lệ nhiễm vi rút viêm não Nhật Bản của một số loài *Culex* ở khu vực Tây Nguyên, 2005–2018”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 29, số 12-2019, tr. 118-127.
3. **Phạm Khánh Tùng**, Phạm Hồng Quỳnh Anh, Đỗ Phương Loan, Đặng Tuấn Đạt, Bùi Minh Trang, Nguyễn Vĩnh Đông, Phan Thị Nga (2020), “Một số đặc điểm phân tử của vi rút viêm não Nhật Bản phân lập được từ muỗi ở khu vực Tây Nguyên”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 30, số 1 – 2020, tr. 9-18.