

BIỂU HIỆN TRIỆU CHỨNG TRÊN 6 BỆNH NHÂN TỪ Ổ DỊCH GIUN XOẮN TẠI THANH HÓA NĂM 2012 VÀ XÁC ĐỊNH LOÀI GIUN XOẮN KÝ SINH TRÊN NGƯỜI BẰNG SINH HỌC PHÂN TỬ

*Nguyễn Văn Đề**; *Nguyễn Vũ Trung**; *Nguyễn Hồng Hà***
*Vũ Thị Nga****; *Nguyễn Minh Hà***; *Phạm Thanh Thủy*****

TÓM TẮT

Ổ dịch giun xoắn xảy ra tại Mường Lát, Thanh Hóa năm 2012 là ổ dịch thứ 5 với 24 bệnh nhân (BN) trong số 27 người ăn thịt lợn chưa nấu chín. 6 BN trong số đó được gửi về Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Quốc gia và Bệnh viện Bạch Mai điều trị. Những BN này có biểu hiện triệu chứng tương tự nhau sau 5 - 8 ngày ăn thịt lợn chưa nấu chín như: sốt, đau cơ, đi lại khó khăn, phù, nuốt khó và khó thở. Huyết thanh chẩn đoán ELISA với kháng nguyên giun xoắn đều dương tính. Sinh thiết cơ tìm thấy ấu trùng giun xoắn, xác định loài bằng sinh học phân tử sử dụng gen ty thể *cox3* là *Trichinella spiralis*. Đây là lần đầu tiên ấu trùng giun chỉ trên người được xác định loài bằng sinh học phân tử tại Việt Nam.

* Từ khóa: *Trichinella spiralis*; ELISA; Việt Nam.

SYMPTOMS IN 6 TRICHINOSIS PATIENTS FROM AN OUTBREAK IN THANH HOA PROVINCE AND IDENTIFICATION OF SPECIES *TRICHINELLA* IN HUMAN BY MOLECULAR METHOD

SUMMARY

The 5th outbreak of trichinosis occurred in Muonglat district, Thanhhoa province in 2012, involving a total of 24 patients among 27 people who consumed raw pork together. Six of these patients visited National Tropical Diseases Hospital and Bachmai Hospital in Hanoi for treatment. Similar clinical symptoms appeared in these patients, which consisted of fever, muscle pain, difficult moving, edema, difficult swallowing and difficult breathing. ELISA revealed all (6/6) positive reactions against *Trichinella spiralis* antigen and all cases showed positive biopsy results for *Trichinella* spp larvae in the muscle. The larvae detected in the patients were identified as *T. spiralis* (Vietnamese strain) by the molecular analysis of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit III (*cox3*) gene. This is the first time *Trichinella spiralis* larvae from human identified by molecular method in Vietnam.

* Key words: *Trichinella spiralis*; ELISA; Vietnam.

* Trường Đại học Y Hà Nội

** Bệnh viện Nhiệt đới Quốc gia

*** Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương

**** Bệnh viện Bạch Mai

***** Viện Sốt rét-KST-CT TƯ

Chịu trách nhiệm nội dung khoa học: GS. TS. Lê Bách Quang

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh giun xoắn do *Trichinella* gây nên. Giun trưởng thành ký sinh ở ruột, ấu trùng ký sinh ở cơ, chủ yếu là cơ vân. Bệnh giun xoắn phân bố rộng khắp trên thế giới từ châu Âu, châu Á, châu Mỹ, châu Phi.

Tại Việt Nam, năm 1970, tại một xã thuộc huyện Mù Căng Chải, tỉnh Nghĩa Lộ (nay thuộc tỉnh Yên Bái) xảy ra ổ dịch giun xoắn với 26 người ăn thịt lợn sống dưới dạng nem, trong đó 4 người tử vong. Tại huyện Tuần Giáo, tỉnh Điện Biên, trong một đám cưới tháng 11 - 2001, 22 người bị nhiễm giun xoắn do ăn thịt lợn sống (món "lạp") từ 1 con lợn được nuôi tại địa phương, trong đó 2 người tử vong. Trong một đám tang tháng 9 năm 2004 cũng tại địa phương này, 20 người bị nhiễm giun xoắn do ăn món "lạp" từ 1 con lợn được nuôi tại địa phương. Tháng 6 - 2008, tại huyện Bắc Yên, tỉnh Sơn La, cũng trong bữa tiệc ăn thịt lợn với món "lạp" đã có 22 người nhiễm giun xoắn, trong đó 2 người tử vong. Lợn ở đây cũng bị nhiễm ấu trùng giun xoắn. Tháng 2 - 2012, tại huyện Mường Lát, tỉnh Thanh Hóa, trong bữa tiệc ăn món thịt lợn Mán chưa nấu chín, 24 người bị nhiễm giun xoắn, 6 BN được chuyển về

bệnh viện ở Hà Nội và được công bố trong nghiên cứu này nhằm:

- Mô tả các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của 6 BN nhiễm giun xoắn điều trị tại bệnh viện ở Hà Nội.

- Xác định thành phần loài giun xoắn ký sinh trên người bằng sinh học phân tử.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu.

6 BN bị nhiễm giun xoắn từ Thanh Hóa chuyển tới Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Quốc gia và Bệnh viện Bạch Mai.

2. Phương pháp nghiên cứu.

- Lập bệnh án chi tiết, mô tả các triệu chứng lâm sàng.

- Tiến hành xét nghiệm: công thức máu, ELISA với kháng nguyên giun xoắn *Trichinella spiralis*, sinh thiết nốt ở cơ tìm ấu trùng giun xoắn.

- Xác định loài giun xoắn bằng sinh học phân tử, sử dụng gen *cox3* thuộc hệ gen ty thể.

Bảng 1: Giải trình tự chuỗi gen *cox3* (cytochrome c oxidase subunit III) của các chủng *Trichinella spiralis* trên GenBank so sánh với chủng *Trichinella** ở Việt Nam.

KÍ HIỆU	NGUỒN GỐC	VẬT CHỦ	ĐỘ DÀI	LOÀI	GENBANK	TÁC GIẢ
ATGX-VN	Việt Nam	Human	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i> *	-	Nghiên cứu này
Tspi1	Trung Quốc	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339148.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi2	Trung Quốc	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339147.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi3	Trung Quốc	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339146.1	Rosenthal và CS, 2008

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Tspi4	Trung Quốc	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339145.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi5	Mỹ	Mephitis	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339142.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi6	Tây Ban Nha	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339139.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi7	Bungari	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339135.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi8	Phần Lan	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU339134.1	Rosenthal và CS, 2008
Tspi9	Genbank	Sus scrofa	200 bp	<i>Trichinella spiralis</i>	GU386314.1	Webb, 2010

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Biểu hiện lâm sàng.

Bảng 2: Triệu chứng lâm sàng chính.

TRIỆU CHỨNG	BN 1	BN 2	BN 3	BN 4	BN 5	BN 6
Giới tính	Nam	Nam	Nữ	Nữ	Nam	Nữ
Tuổi	39	43	41	30	30	30
Sốt	+	+	+	+	+	+
Đau cơ	+	+	+	+	+	+
Phù chân tay	+	+	+	+	+	+
Phù quanh mắt	+	+	+	+	+	+
Đi lại khó khăn	+	+	+	+	+	+
Nuốt khó	+	+	+	+	+	+
Khó thở	+	+	+	-	+	+
Sụt cân	+	+	+	-	+	+
Ngứa	+	+	+	-	-	-
Tiêu chảy	+	-	-	-	-	-
Thời gian xuất hiện triệu chứng (ngày)	5	6	7	8	5	5

Các triệu chứng chính là sốt, đau cơ và phù.

2. Biểu hiện cận lâm sàng.

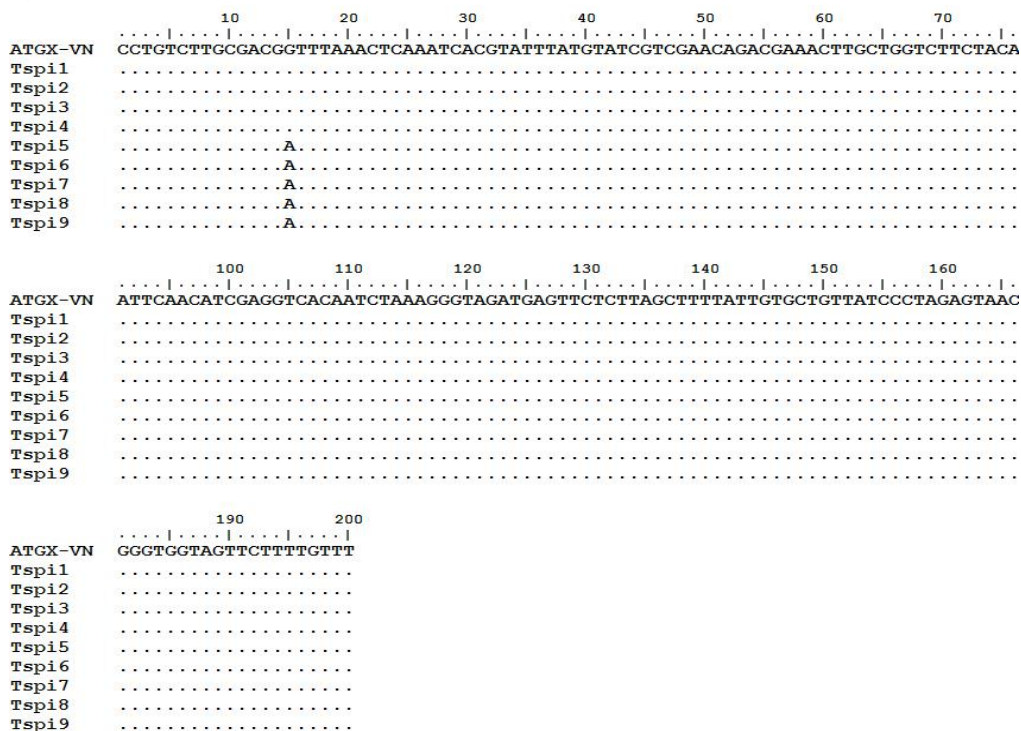
Bảng 3: Triệu chứng cận lâm sàng chính.

TRIỆU CHỨNG	BN 1	BN 2	BN 3	BN 4	BN 5	BN 6
Bạch cầu/mm ³	17,0	13,6	12,4	12,4	11,1	10,2
BCAT (%)	51,8	18,6	5,1	15,9	28,4	18,5
AST (U/L)	219	115	219	65	106	112
ALT (U/L)	471	314	471	74	146	106
ELISA test	+	+	+	+	+	+
Sinh thiết tìm ấu trùng <i>Trichinella</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Leptospira</i> test	-	-	-	-	-	-
Nuôi cấy vi khuẩn	-	-	-	-	-	-

Trên 6 BN chủ yếu là ELISA dương tính, sinh thiết có ấu trùng, bạch cầu ái toan (BCAT) tăng, men gan tăng, các test vi khuẩn âm tính. BN được điều trị bằng albendazole 800 mg/ngày x 10 ngày.

3. Xác định loài bằng sinh học phân tử.

Sự tương đồng nucleotid của chủng *Trichinella* Việt Nam với các chủng chuẩn quốc tế đạt 99,5 - 100%.

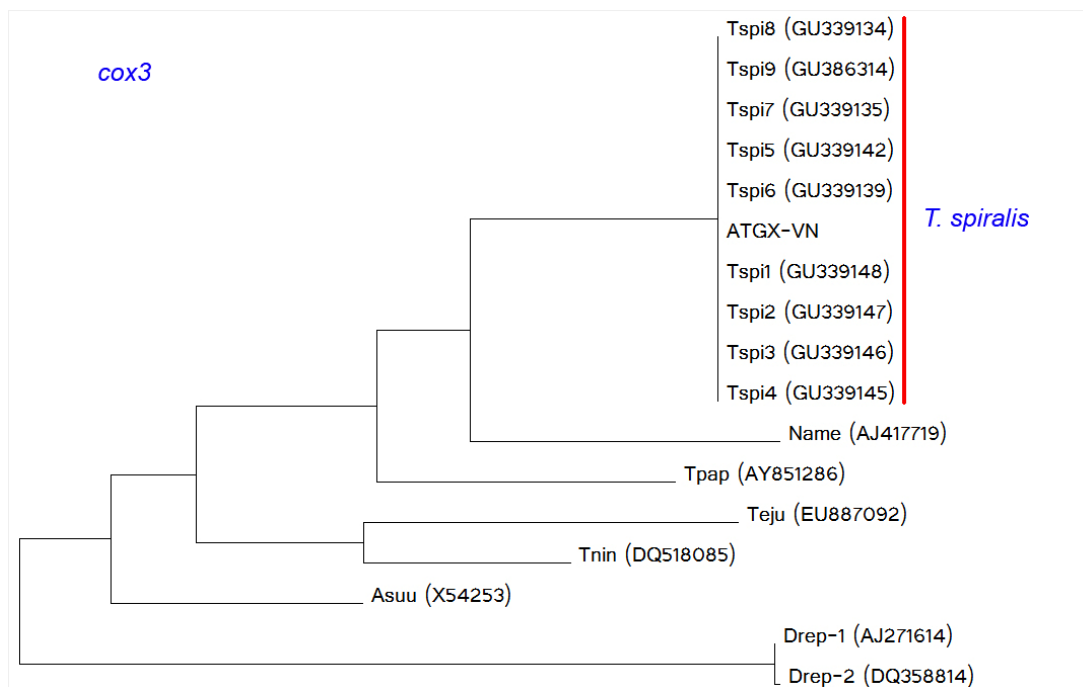


Hình 1: So sánh 200 nucleotide của đoạn gen *cox3* của *Trichinella* Việt Nam (ATGX-VN) với các chủng *Trichinella* chuẩn trên thế giới bao gồm *Trichinella spiralis* Trung Quốc (Tspi1, Tspi2, Tspi3 và Tspi4), *T. spiralis* Mỹ (Tspi5), *T. spiralis* Tây Ban Nha (Tspi6), *T. spiralis* Bungari (Tspi7), *T. spiralis* Phần Lan (Tspi8) và GenBank (Tspi9). Ghi chú: nếu chủng *T. spiralis* nào đó khác với chủng của Việt Nam, biểu thị bằng nucleotid, nếu giống nhau, biểu thị bằng dấu chấm.

Bảng 4: Tỷ lệ tương đồng nucleotid của chuỗi *cox3* giải trình tự giữa chủng *Trichinella spiralis* của Việt Nam với các chủng *Trichinella spiralis* khác trong Genbank.

ATGX-VN	100	100	100	100	100	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5
Tspi1	100	100	100	100	100	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5
Tspi2	100	100	100	100	100	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5
Tspi3	100	100	100	100	100	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5
Tspi4	100	100	100	100	100	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5
Tspi5	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	100	100	100	100	100
Tspi6	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	100	100	100	100	100
Tspi7	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	100	100	100	100	100
Tspi8	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	100	100	100	100	100
Tspi9	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	100	100	100	100	100

Với giải trình tự trên, phân tích phả hệ thấy giun xoắn Việt Nam nằm cùng nhóm với các chủng *Trichinella spiralis* trên thế giới. Như vậy, thành phần loài giun xoắn ký sinh ở người Việt Nam là *Trichinella spiralis*.



Hình 2: Cây phả hệ với giun xoắn Việt Nam và giun xoắn thế giới.

BÀN LUẬN

Tất cả 5 ổ dịch giun xoắn xảy ra ở Việt Nam tại vùng núi phía Bắc, dân địa phương có tập quán nuôi lợn thả rông, đặc biệt đều có tập quán ăn món “lạp” là thịt lợn sống (nem thính) trong các bữa tiệc. Tập quán này cũng tương tự một số nước châu Á như Thái Lan, Lào, Ấn Độ... Ổ dịch thứ 2 cách ổ dịch đầu tiên 31 năm, trong thời gian đó, không có thông báo nào tương tự. Đặc biệt, tất cả ổ dịch giun xoắn ở Việt Nam đều bị chẩn đoán ban đầu nhầm với bệnh xoắn khuẩn *Leptospira*, do đều có triệu chứng sốt và đau cơ. Chính vì chẩn đoán nhầm nên chỉ sử dụng kháng sinh mà không biết dùng thuốc giun sán, do đó 3/5 ổ dịch có BN tử vong (8 BN). Chỉ khi có BN tử vong, y tế cơ sở mới thông báo cho ngành ký sinh trùng. Hiện nay, nhiều bệnh ký sinh trùng đã bị lãng quên và bị chẩn đoán nhầm với nguyên nhân khác, trong đó có bệnh giun xoắn. Hy vọng trong tương lai gần sẽ không còn sự chẩn đoán nhầm đáng tiếc xảy ra, nhất là ở các vùng núi.

Trong nghiên cứu này, các triệu chứng lâm sàng chính của 6 BN nhiễm giun xoắn bao gồm: sốt, đau cơ, phù, khó nuốt, khó thở, tương tự thông báo của Nguyễn Văn Đề và CS (2006) [2] trên 68 BN trong 3 vụ dịch: sốt 100%, đau cơ 100%, phù 90,9 - 95,5%, khó nuốt 11,5 - 90,9%, khó thở 50 - 80%. Thời gian xuất hiện triệu chứng sau khi ăn thịt lợn sống từ 1 - 30 ngày, trung bình 7,9 ngày, nghiên cứu của chúng tôi là 5 - 8 ngày.

Các triệu chứng cận lâm sàng chính như bạch cầu ái toan tăng trong 5/6 BN, có BN tăng tới 51,8%. Cả 6 BN đều tăng men gan, có BN tăng tới 471 U/L. 100% có ELISA dương tính với kháng nguyên *Trichinella spiralis*, nhưng đều âm tính với *Leptospira* test và nuôi cấy vi khuẩn âm tính. Các nghiên cứu và thông báo trước đây chỉ thu thập được ấu trùng giun xoắn từ thịt lợn, nhưng trong nghiên cứu này đã thu thập được ấu trùng giun xoắn trên BN bằng sinh thiết. Những ấu trùng này được xác định loài là *Trichinella spiralis* bằng sinh học phân tử, sử dụng gen *cox3* thuộc hệ gen ty thể.

Lợn tại các vụ dịch đều được xác định có nhiễm ấu trùng. Đặc biệt, tại vụ dịch đầu tiên xét nghiệm trên 1 lợn nái 8 tuổi, 50 kg, nhiễm tới 879 ấu trùng/g thịt và 1 lợn nái 7 tuổi khác nhiễm 70 ấu trùng/g thịt. Tại vụ dịch thứ 4 xét nghiệm trên 1 lợn 5 tuổi, 70 kg, nhiễm 1 - 3 ấu trùng/g thịt. Bằng kỹ thuật ELISA xác định có tới 19,9% lợn tại địa phương bị nhiễm giun xoắn và 14,5% tìm thấy ấu trùng ở cơ trong số lợn có ELISA dương tính.

KẾT LUẬN

Triệu chứng lâm sàng chính của bệnh giun xoắn: sốt, đau cơ, phù, khó nuốt, khó thở. Triệu chứng cận lâm sàng chính: ELISA dương tính với kháng nguyên *Trichinella spiralis*, bạch cầu ái toan tăng cao, sinh thiết cơ có ấu trùng giun xoắn.

Ấu trùng giun xoắn thu thập trên người được xác định là *Trichinella spiralis*. Đây là lần đầu tiên ấu trùng giun xoắn ở người được nghiên cứu phân tử tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cook GC. Trichinosis (*Trichinella spiralis*). Manson's Tropical Diseases. London, UK. WB Saunder Com Ltd. 1997, pp.1403-1407.
2. De NV, Dorny P, Waikagul J. Trichinelliasis in Vietnam. Seminar on Food- and Water- borne Parasitic Zoonoses (5th FBZPZ). 2006, November. pp.28-30.
3. Intapan PM, Chotmongkol V, Tantrawatpan C, Sanpool O, Morakote N, Maleewong W. Molecular identification of *Trichinella papuae* from a Thai patient with imported trichinellosis. Am J Trop Med Hyg. 2011, 84 (6), pp.994-997.
4. Miyazaki I. Trichinelliasis. Helminthic Zoonoses. Tokyo, Japan. Southeast Asian Medical Information Center. 1991, pp.452-459.
5. Owen IL, Morales G, Pezzotti MA, Pozio E. *Trichinella* infection in a hunting population of Papua New Guinea suggests an ancient relationship of *Trichinella* with human beings. Trans R Trop Med Hyg. 2005, 99, pp.618-624.
6. Pozio E. World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. Vet Parasitol. 2007, 149, pp.3-21.
7. Sohn WM, Huh S, Chung DI, Pozio E. Molecular identification of Korean *Trichinella* isolates. Korean J Parasitol. 2003, 41 (2), pp.125-127.
8. Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proc Natl Acad Sci. USA. 2007, 101, pp.11030-11035.
9. Vu Thi N, Dorny P, La Rosa G, To Long T, Nguyen Van C, Pozio E. High prevalence of anti-*Trichinella* IgG in domestic pigs of the Sonla province, Vietnam. Vet Parasitol. 2010, 168, pp.136-140.

Ngày nhận bài: 30/10/2012

Ngày giao phản biện: 10/11/2012

Ngày giao bản thảo in: 6/12/2012

