

**NHÂN TRƯỞNG HỢP BỆNH NHÂN NHIỄM LOÀI KÝ SINH TRÙNG
SỐT RÉT MỚI *PLASMODIUM KNOWLESI* TẠI VIỆT NAM:
TỔNG QUAN TÀI LIỆU VÀ THÔNG TIN Y HỌC THẾ GIỚI**

TRIỆU NGUYỄN TRUNG, HUỖNH HỒNG QUANG

Viện Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng Quy Nhơn

PHẠM VĂN THÂN

Trường Đại học Y Hà Nội

Bệnh sốt rét (SR) đã được biết từ thời cổ xưa đến nay, mặc dù cộng đồng trên toàn cầu đã nỗ lực đẩy lùi căn bệnh này, song mọi cố gắng vẫn còn phải tiếp tục. Đến nay, SR vẫn được xem là gánh nặng y tế và ảnh hưởng trên 40% dân số thế giới tại hơn 108 quốc gia, đặc biệt vùng nhiệt đới từ Nam Mỹ đến Ấn Độ. Mỗi năm từ 300-500 triệu người mắc bệnh (90% con số ấy ở khu vực cận sa mạc Sahara, châu Phi, 2/3 số ca bệnh còn lại xảy ra ở 6 nước Ấn Độ, Brazil, Sri Lanka, Việt Nam, Colombia và đảo quốc Solomon). Tổ chức Y tế thế giới (WHO) dự đoán sẽ tăng 16% số ca sốt rét mỗi năm. Khoảng chừng 1.5-3 triệu người chết do sốt rét mỗi năm (85% ở châu Phi). Cứ mỗi 30 giây, ở châu Phi có một trẻ chết vì sốt rét, mỗi 12 giây trên thế giới có một người chết có liên quan đến bệnh sốt rét. Mỗi năm, số người chết do sốt rét bằng số chết do HIV/AIDS trong 15 năm cộng lại. Với 4 loài ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) cổ điển, các nhà khoa học và cộng đồng thế giới chưa thể giải quyết triệt để, thì mới đây các nhà khoa học trên thế giới cùng với các nhà ký sinh trùng Malaysia lại công bố thêm một loài KSTSR vốn từ lâu gây bệnh SR cho khỉ, nay có khả năng nhiễm và gây bệnh cho người *P. knowlesi* với tỷ lệ nhiễm tương đối cao và bệnh cảnh nghiêm trọng, thậm chí đã có ca tử vong, điều này dẫn đến trong tương lai sẽ làm tăng gánh nặng về bệnh.

Các loài ký sinh trùng “kinh điển” được biết gây bệnh sốt rét ở người: Bệnh sốt rét do các ký sinh trùng hay đơn bào trong máu thuộc ngành *Apicomplexa*, giống *Plasmodium* gây ra. Từ trước đến nay, giới khoa học đã thừa nhận SR ở người chủ yếu do 4 loài *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* gây ra, song trong số đó phần lớn là 2 loài *P. falciparum* và *P. vivax* chiếm một tỷ lệ cao trong cơ cấu KSTSR, tùy vùng địa lý mà tỷ lệ hai loại này gây nhiễm ở người có khác nhau, có nơi tỷ lệ nhiễm *P. vivax* đến 80% và *P. falciparum* chỉ 15%, có nơi *P. vivax* chiếm 20-25%, đặc biệt loài *P. falciparum* đã gây SRAT và tử vong cao, dù gần đây đã công bố nhiều trường hợp tử vong do SR *P. vivax* do các nhà khoa học Ấn Độ báo cáo. Hai loài ký sinh trùng còn lại tồn tại cũng có tỷ lệ thay đổi tùy theo vùng trên các châu lục.

Loài ký sinh trùng sốt rét mới (loài thứ 5) gây bệnh sốt rét ở người: Người ta từng được biết một số tác nhân gây bệnh mới trỗi dậy (hoặc bệnh đang nổi – emerging diseases) đã lây truyền từ động vật sang người và ngược lại. Các quần thể linh trưởng hoang dã có “ô chứa tiềm năng” lưu giữ và là nguồn gốc của một số tác nhân gây bệnh cho người, từ các virus đến các loài ký sinh trùng nói chung. Đến nay, các nhà khoa học đã phát hiện ít nhất 26 loài *Plasmodium* lưu hành trong các quần thể linh trưởng hoang dã. Nhiều loài trong số các loài KSTSR ở khỉ liên quan gần loài KSTSR gây bệnh ở người và một số trong chúng được biết là *P. simium*, *P. brazilianum*, *P. cynomolgi*, *P. inui* và *P. knowlesi* từng liên quan SR, biểu hiện triệu chứng ở người trong thực nghiệm hoặc nhiễm tự nhiên. Theo phân loại, *P. knowlesi* thuộc giới *Protista*, ngành *Apicomplexa*, lớp *Aconoidasida*, bộ *Haemosporida*, họ *Plasmodiidae*, giống *Plasmodium*, loài *P. knowlesi*.

Năm 1930, *P. knowlesi* đã được sử dụng để điều trị sốt trên những bệnh nhân bị giang mai thần kinh. Năm 1932; Knowles và Das Gupta đã thành công trong nghiên cứu truyền bệnh SR của khỉ cho người; Năm 1960, Eyles và cộng sự lần đầu tiên gây nhiễm thực nghiệm KSTSR

của khi cho người thông qua gây nhiễm bằng muỗi truyền bệnh *P. cynomolgi*; Năm 1967, Chin và cộng sự cho biết *P. knowlesi* cũng có thể lây truyền từ loài khỉ qua người; Trong 3 năm trở lại đây, một số báo cáo cho biết số ca mắc loài *P. knowlesi* ở người báo cáo tăng dần do nhiều nghiên cứu quan tâm đến vấn đề này.

Ca bệnh *P. knowlesi* đầu tiên ở người do nhiễm tự nhiên xảy ra năm 1965 ở khu rừng Malaixia. Các ước tính về tỷ lệ hiện mắc và phân bố các loài KSTSR ở các cộng đồng người nhiễm tại Malaixia đều nhờ vào chẩn đoán Giêm sa. Từ năm 1998-2002, số bệnh nhân mới mắc SR hàng năm ở Sarawak, thuộc quần đảo Borneo, Malaysia là 2496 -3155 trường hợp, trong đó *P. vivax* là loài chủ yếu (69.1%), tiếp đến *P. falciparum* (19.7%), *P. malariae* (9.4%) và chưa phát hiện và khẳng định trường hợp nào do *P. ovale*. Nghiên cứu của Singh B. và cộng sự bắt đầu vào tháng 3.2000, các nhà khoa học đã ghi nhận các khác biệt chỉ nh về các tỷ lệ của các loài *Plasmodium* được báo cáo ở Sarawak. *P. vivax* phân bố rộng rãi trong 9 vùng địa lý, trong khi *P. falciparum* lại chiếm ưu thế ở các vùng phía bắc và KSTSR được phát hiện gần giống như *P. malariae* được báo cáo chủ yếu ở các vùng trung tâm của Kapit và Miri. Tại Kapit, KSTSR được phát hiện hình thể giống như *P. malariae* chiếm tỷ lệ khoảng 1/5 số trường hợp SR năm 1999.

Dịch tễ học nhiễm *Plasmodium knowlesi* ở Malaixia: Nhiễm trùng loài KSTSR *P. knowlesi* thường chỉ được xem là một loại KSTSR đặc thù cho khỉ đuôi dài (*Macaca fascicularis*) và khỉ đuôi heo (*Macaca nemestrina*) nhưng con người lại thường làm việc trong các vùng rừng và hiển nhiên có nguy cơ nhiễm bệnh. Với sự gia tăng tàn phá rừng và sự phát triển các quốc gia Đông Nam Á, nhiều khỉ trở nên tiếp xúc gần gũi với con người. Vì thế ngày càng có nhiều người sống tại các khu vực ngoại ô bị nhiễm *P. knowlesi*. Loài này tìm thấy hầu hết ở các quốc gia Đông Nam Á, đặc biệt ở Malaixia, Mianma, Philipine, Singapo, Thái Lan và các quốc gia láng giềng, nay cũng đã xuất hiện tại Việt Nam. Chúng dường như xảy ra tại các vùng mà trước đây báo cáo không có 4 loại KSTSR cổ điển, muỗi nhiễm cũng chỉ gặp giới hạn trong một vài vùng rừng, trong khi muỗi không nhiễm điển hình hay gặp ở các vùng đô thị nhưng lan truyền có thể xảy ra do sự đa dạng và tăng lên của quần thể muỗi trong các vùng đó, đặc biệt là Malaysia và có vài báo cáo tại khu vực biên giới Thái Lan – Mianma. 1/5 số ca SR được chẩn đoán tại Sarawak, Malaysian Borneo là do *P. knowlesi*. Loài *P. knowlesi* ít lưu hành hơn ở châu Phi. Điều này có thể do nhiều người dân châu Phi mà chủ yếu là dân da đen Tây Phi thiếu kháng nguyên Duffy – một loại protein trên bề mặt hồng cầu giúp bảo vệ phần nào theo cơ chế “bệnh chống bệnh” chăng?

Dựa trên những nghiên cứu về dịch tễ của *P. knowlesi* và sự phân bố nhóm vector *Anopheles leucosphyrus*, cho đến nay *P. knowlesi* được xem là loài KSTSR thứ 5 truyền bệnh ở người, mới chỉ lan truyền tại khu vực Đông Nam Á. Tuy nhiên, do tình hình và trào lưu du lịch sinh thái đến các vùng Đông Nam Á có lưu hành SR thì cũng có thể mang mầm bệnh về các quốc gia thuộc các châu lục khác là điều có thể.

Sự truyền bệnh SR từ loài khỉ đến người và người đến người qua trung gian muỗi có thể xảy ra trong điều kiện thực nghiệm. Liệu rằng có một ổ nhiễm về *P. knowlesi* ở vùng Kapit, đảo Borneo, Malaysia có thể góp phần quan trọng trong lây truyền từ người đến người hoặc từ khỉ đến người qua muỗi trung gian truyền bệnh thì chưa thấu đáo. Nhóm muỗi *An. leucosphyrus* có khả năng lây truyền *P. knowlesi* và có mặt ở vùng Kapit, vì là vật chủ tự nhiên của *P. knowlesi* - các loài khỉ đuôi dài (*Macaca fascicularis*) và khỉ đuôi lợn (*Macaca nemestrina*). Mặc dầu, hai loài khỉ này sống rất gần với con người ở vùng Kapit và là một nguồn tiềm năng mang KSTSR *P. knowlesi*, nhưng các nhà nghiên cứu vẫn chưa xác định liệu rằng chúng bị nhiễm *P. knowlesi*? Các dữ liệu cho rằng nhiễm *P. knowlesi* và những bệnh nhân được phát hiện giống *P. malariae* dưới kính hiển vi ở vùng Kapit hầu như là người lớn và không có trường hợp mắc bệnh tập trung trong cùng cộng đồng ở chung những căn nhà dài, gợi ý rằng sự truyền bệnh xảy ra xa vùng lân cận của những căn nhà dài chung và sự truyền bệnh đang xảy ra là từ khỉ đến

người hơn là từ người qua người. Tuy nhiên, dữ liệu dịch tễ học chỉ được báo cáo các trường hợp bệnh có biểu hiện triệu chứng ở những người tiếp cận các dịch vụ y tế tại các bệnh viện.

Nghiên cứu về dịch tễ học phân tử với qui mô lớn, phát hiện những người nhiễm không triệu chứng, sẽ làm rõ hơn về khả năng người trở thành ổ chứa của *P. knowlesi* vì họ đã từng nghiên cứu nhận ra nơi lưu giữ *P. knowlesi* trong muỗi tự nhiên và chu kỳ lây truyền của *P. knowlesi*. Người nhiễm tự nhiên với KSTSR khi *P. knowlesi*, liệu rằng loài KSTSR này đã từng chuyển vật chủ với sự lây truyền bệnh giữa người-người hoặc liệu rằng sự lây truyền giữa khỉ qua người cần được thiết lập để có biện pháp phòng ngừa và kiểm soát thích hợp. Việc phân tích DNA cho *P. knowlesi* trong số các mẫu máu được phân lập tại vùng này gợi ý rằng phân tích chuỗi gen sẽ có ích để làm rõ về số liệu dịch tễ học và tiến triển lâm sàng bệnh SR do *P. knowlesi* ở người.

Gần đây, Kim-Sung Lee và cộng sự (2010) đưa ra kết quả đánh giá nguy cơ có khả năng *P. knowlesi* nhiễm và gây bệnh lan rộng trên người: tại khu vực Kapit của Malaysian Borneo, nơi mà phần lớn số ca SR ở người do *P. knowlesi* đã được báo cáo đầu tiên, các nhà khoa học đã xét nghiệm 108 khỉ macaques hoang dại để tìm KSTSR và giải trình tự gen mã hóa protein thoi trùng *csp* (circumsporozoite protein_ *csp*) và lệ gen ty thể mitochondrial (mt) DNA của các phân lập *P. knowlesi* lấy từ máu khỉ macaques và máu người. Kết quả đã phát hiện 5 loài *Plasmodium* (*P. knowlesi*, *P. inui*, *P. cynomolgi*, *P. fieldi* và *P. coatneyi*) ở các con khỉ macaques đuôi dài và đuôi heo (long-tailed và pig-tailed macaques), đặc biệt loài *P. inui* và *P. knowlesi* lưu hành với tỷ lệ cao

Trung gian truyền bệnh loài ký sinh trùng *Plasmodium knowlesi*: Nghiên cứu ban đầu của Wharton và Eyles (1961) cho biết trung gian truyền bệnh *P. knowlesi* từ khỉ cho người là *An. hackeri* (thuộc nhóm *Leucosphyrus*), nhưng sau đó người ta khám phá ra *An. hackeri* không có ái tính với người và chủ yếu truyền bệnh SR cho khỉ (Reid và Weitz, 1961). Nghiên cứu tiếp theo Wharton và cộng sự (1962) cho thấy *An. latens* (nhóm *Leucosphyrus*) chính là vector truyền bệnh chính của KSTSR *P. inui* cho khỉ và *P. knowlesi* cho cả khỉ và người. *An. latens* có tập tính đốt người lúc chạng vạng tối đến gần sáng và đỉnh điểm là nửa đêm. Loài muỗi này hoạt động chủ yếu trong rừng và bìa rừng nhưng có xu hướng vào nơi ở của người sống bìa rừng và trong rừng để tìm mồi đốt máu (I. Vithyalingam, 2005). Riêng nghiên cứu vừa mới công bố trên tạp chí *Malaria Journal* (2009) đã xác nhận sự có mặt *P. knowlesi* tại Việt Nam, theo đó các tác giả cũng đã đặt ra vấn đề: phải chăng *An. dirus* hay một loài muỗi nào khác thuộc nhóm *An. leucosphyrus* hiện có ở khu vực miền Trung – Tây Nguyên có khả năng truyền loài *P. knowlesi* từ khỉ sang người ở Việt Nam?

***Plasmodium knowlesi* được phát hiện lần đầu tiên khi nào?:** Cox-Sigh và cộng sự đã phát hiện ca sốt rét nhiễm *P. knowlesi* đầu tiên ở khỉ Macaque đuôi dài (*Macaca fascicularis*) khi nhập khẩu từ Singapo đến Ấn Độ vào năm 1931. Một năm sau, Knowles và Das Gupta đã thành công trong việc gây nhiễm thực nghiệm truyền *P. knowlesi* từ khỉ sang người. Năm 1960, Eyles đã thành công trong việc truyền tác nhân gây bệnh SR ở khỉ là *P. cynomolgi* cho người trên thực nghiệm. Năm 1966 bằng cách cho muỗi đốt máu có nhiễm KSTSR rồi cho đốt người, tác giả Granharm cũng đã chứng minh rằng các loài KSTSR ở khỉ như *P. inui*, *P. knowlesi* đều có khả năng truyền bệnh cho người. Ca bệnh nhiễm *P. knowlesi* ở người được mô tả đầu tiên vào năm 1965 tại Mỹ, trên một người lính trở về từ Malaixia.

Đến năm 1971, chỉ có 2 trường hợp nhiễm *P. knowlesi* ở người được báo cáo (Chin, 1965 và Yap, 1971), cả 2 ca đều sống ở bán đảo Malaysia. Sau đó Cox-Sigh đã tiến hành nghiên cứu kéo dài từ tháng 3.2000 đến tháng 11.2002 tại Malaysia, Kết quả cho thấy rằng trong số 208 ca bệnh được chẩn đoán ban đầu là nhiễm *P. malariae* thì có đến 120 ca được xác định là *P. knowlesi* bằng kỹ thuật PCR lồng (nested PCR). Nhiều trường hợp nhiễm *P. knowlesi* sau đó cũng được phát hiện tại Kanip, Sarawak, Malaixia năm 2004. Vào năm này một ca bệnh do loài KSTSR

này gây nên cũng được phát hiện trên một bệnh nhân làm việc trong rừng ở biên giới giữa Thái và Mianma (Jongwutiwes và cs., 2000) và sau đó phát hiện ca bệnh có *P.knowlesi* tại Philipine.

Một số khác biệt về chu kỳ phát triển của *Plasmodium knowlesi*: Ký sinh trùng *Plasmodium knowlesi* nhân lên và hoàn thành chu kỳ giai đoạn trong máu trong chu kỳ 24 giờ, dẫn đến sự hình thành một mật độ KSTSR rất cao chỉ trong một thời gian rất ngắn là 24 giờ. Điều này sẽ gợi ý mọt tiềm năng có thể dẫn đến bệnh diễn tiến nghiêm trọng nếu không được điều trị: merozoite → schizont → trophozoites. Các giai đoạn này có thể phân biệt được với *Plasmodium malariae*.

Giai đoạn trong muỗi: muỗi ăn phải giao bào trong động vật có vú, các giao bào này có thể là giao bào microgametocytes (sau này thành giao bào) hoặc dạng macrogametocytes (thành giao bào cái). Các giao bào trưởng thành lần lượt thành microgametes và macrogametes, rồi chúng hình thành zygotes bên trong ruột muỗi nhờ vào giai đoạn thụ tinh. Các zygotes trưởng thành thành ookinetes → rời oocysts. Cuối cùng, các oocysts trưởng thành thành sporozoites di chuyển đến tuyến nước bọt muỗi.

Giai đoạn trên người: (1) Các giai đoạn ngoại hồng cầu (trong gan): các sporozoites được đưa vào trong người qua muỗi đốt và chúng lưu thông khắp dòng máu và sinh sản vô tính thành merozoites qua thể phân liệt trong tế bào gan. Các thể ngủ trong gan chưa được tìm thấy, có thể tóm tắt: sporozoites → schizonts → merozoites. (2) Giai đoạn trong hồng cầu: các merozoites được giải phóng vào trong dòng máu xâm nhập vào các hồng cầu theo chu kỳ vô tính. Một số merozoites trở thành microgametocytes hoặc macrogametocytes nhiễm vào hồng cầu, có thể tóm tắt: merozoite → trophozoite → schizont → merozoites.

Sự khác biệt về mật lâm sàng giữa *Plasmodium malariae* và *Plasmodium knowlesi*: Giai đoạn phát triển sớm của hai loài KSTSR này khá giống nhau khi soi dưới kính hiển vi, mặc dầu sốt do *P. malariae* là cách 2 ngày và không bao giờ hoặc rất hiếm phát triển với mật độ KSTSR trong máu cao dẫn đến nguy hiểm tính mạng bệnh nhân. Ngược lại, loài *P. knowlesi* có chu kỳ phát triển gây sốt hàng ngày như *P. falciparum* và nếu không điều trị, KSTSR có thể phát triển đạt đến mật độ cao, nguy hiểm và tử vong qua khảo sát hồi cứu với kinh nghiệm từ các thầy thuốc Malaysia mới đây trên các bệnh nhân SR *P. knowlesi* tử vong.

Người ta đã xác định về tiến trình bệnh lý thích hợp với SR do *P. falciparum*. Song trên loài *P. knowlesi* lại không thấy kết dính hồng cầu trong hệ vi tuần hoàn, nhưng một khi có mật độ KSTSR cao, *P. knowlesi* sẽ gây tử vong cao ở loài khi mắc bệnh, đây là kết quả trong số hầu hết các nghiên cứu trên mô hình động vật. Nguyên nhân gây tử vong ở khi mắc bệnh là do mật độ KSTSR trong máu cao và thiếu máu, vàng da và suy thận nhanh chóng- tất cả các triệu chứng đó là những hình thái SR nặng hoặc SRAT do *P. falciparum* gây ra cho người chúng ta đều biết, mặc dầu hình thái lâm sàng ở khi không giống SRAT thể nào ở người. Hội chứng bệnh lý lâm sàng thống nhất này đặc hiệu cho SR nặng do *P. falciparum*. Khi mắc bệnh bị rối loạn ý thức mà không hôn mê. Như vậy, dù không có mô hình động vật giải thích thỏa mãn về bệnh SR thể nào ở người, nhưng nhiễm SR nặng *P. knowlesi* ở khi và ở người có thể có những dấu hiệu tương tự cần lưu ý, dù các thông tin chi tiết về nghiên cứu hồi cứu có hạn chế, nhưng có nhiều đặc điểm nổi bật về 4 ca tử vong do Janet Cox-Singh và cộng sự báo cáo.

Tổng số 4 bệnh nhân chết ở Sarawak với SR do “nhiễm *P. malariae*”. Vì *P. malariae* bình thường có mật độ KSTSR thấp và bệnh cảnh lâm sàng không nặng, đặc biệt hình thể trên lam máu giống *P. malariae*, nhưng do bệnh diễn tiến nặng → gợi ý khả năng là do loài *P. knowlesi* và xem đây là một nguyên nhân có thể gây bệnh nặng. Các bệnh nhân trong độ tuổi 39-69 tuổi và cả 4 đều có hội chứng tiêu hóa và sốt. 2 bệnh nhân không biểu hiện thiếu máu, dù mật độ KSTSR trong máu cao, mặc dầu họ có thể bị mất nước và cô đặc máu (2 bệnh nhân thủng dạ dày do loét); các bệnh nhân đều suy thận và vàng da, đó là những dấu hiệu xảy ra trong SRAT do *P. falciparum*.

Cả 4 bệnh nhân có số lượng tiểu cầu $< 30.000 /\mu\text{L}$ và 3 bệnh nhân có tăng bạch cầu. Nhiều câu hỏi được đặt ra: SRAT ở người và khi Rhesus có tương tự nhau không? Triệu chứng đau bụng có phản ánh hiện tượng thiếu máu nuôi dưỡng ruột? Có mối quan hệ nào giữa sinh khối KSTSR và độ trầm trọng của bệnh? Do đó, các nghiên cứu thêm về SRAT do *P. knowlesi* ở người để đánh giá toan chuyển hoá, loại trừ nhiễm khuẩn huyết đồng thời và đánh giá sự đáp ứng với điều trị SR sẽ là thông tin cần thiết trong thời gian đến. Nghiên cứu vi tuần hoàn ở khi Rhesus được thực hiện trên 60 năm qua cho thấy hiện tượng cô đặc máu trong các mao động mạch và mao tĩnh mạch, như vậy để biết rõ hơn về rối loạn chức năng tuần hoàn.

Janet Cox-Singh đưa ra khuyến cáo quan trọng. Tại châu Á, mật độ KSTSR cao với các triệu chứng xuất hiện trong trường hợp soi kính hiển vi nghi ngờ là *P. malariae* nên được liên hệ đến chẩn đoán gián biệt với SRAT do *P. knowlesi* và nên điều trị cẩn thận để tránh tử vong. Qua các thông tin trên, dù loài KSTSR này gây bệnh phù hợp với loài linh trưởng, nhưng họ cũng chỉ ra *P. knowlesi* là loài KSTSR gây bệnh SR ở người có thể là phù hợp.

Từ đặc điểm lâm sàng nổi bật đến giải phẫu bệnh học: Triệu chứng diễn hình bắt đầu sau 11 ngày kể từ khi nhiễm, do đó KSTSR có thể phát hiện được trong máu khoảng từ ngày thứ 10-12. KSTSR nhân lên nhanh chóng và mật độ vì thế sẽ đạt rất cao chỉ trong thời gian ngắn, thậm chí có thể gây tử vong ngay. Mặc dù nhiễm *P. knowlesi* với tỷ lệ tương đối thấp, nhưng nếu một “nguy cơ” chẩn đoán nhầm với một loài khác, nhất là *P. malariae*. Tuy nhiên, nếu nghi ngờ thì cần chẩn đoán phân biệt *P. knowlesi* với *P. malariae*.

Các triệu chứng SR do *P. knowlesi* ở người không khác gì các loài khác. Trong một điều tra Singh và cộng sự (2004) cho thấy các triệu chứng biểu hiện trên 94 bệnh nhân nhiễm duy nhất loài *P. knowlesi* tại Malaysia. Các triệu chứng bao gồm sốt, rét run và rùng mình (100%), nhức đầu (32%), ho (18%), nôn nửa 16%, buồn nôn (6%), đại tiện phân lỏng (4%). Chu kỳ vô tính của KSTSR ở người và các vật chủ tự nhiên (khỉ) khoảng 24 giờ. Do đó, bệnh có thể liên quan và gọi là sốt hàng ngày. Ngoài ra, SR do *P. knowlesi* có thể hiện diện nếu đồng thời tăng CRP và giảm tiểu cầu. Loại KSTSR này không có tái phát do không tìm thấy thể ngủ trong gan. Trong khi nhiễm loại KSTSR này thường xem là không nghiêm trọng, nhưng có biến chứng đe dọa (suy hô hấp, rối loạn chức năng gan), thậm chí tử vong (tỷ lệ tử vong một loạt ca khoảng 2%).

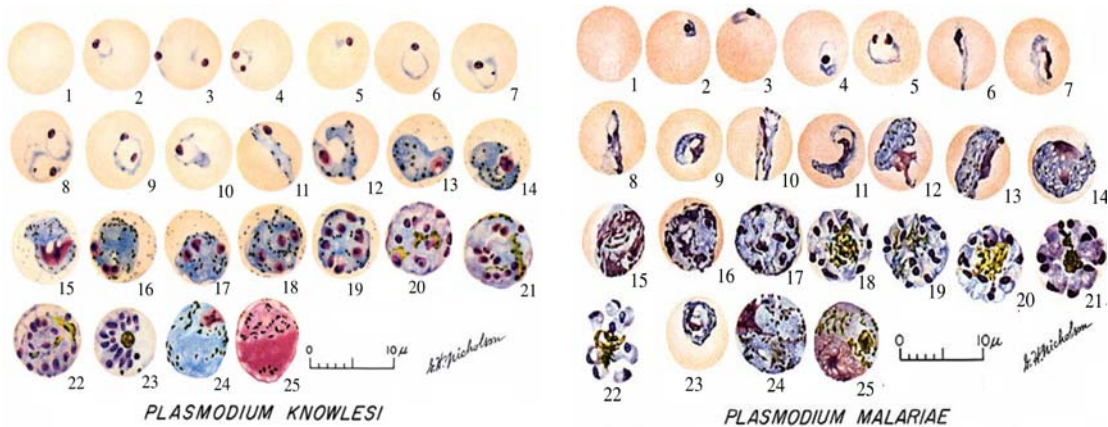
Đã có một số ca tử vong với các triệu chứng giống với SRAT do *P. falciparum*, mặc dù hầu hết ca bệnh có thể điều trị khỏi bằng chloroquine và primaquine, song các bệnh nhân *P. knowlesi* đều có số lượng tiểu cầu thấp hơn so với các trường hợp nhiễm KSTSR khác và một số tác giả đề nghị có thể sử dụng chỉ số tiểu cầu thấp làm yếu tố bổ sung chẩn đoán bệnh SR do *P. knowlesi*.

Một ca bệnh đã được mô tả từ thi mô tả SR do *P. knowlesi* cho thấy gan, lách lớn. Tổ chức não và nội tâm mạc có nhiều xuất huyết dạng chấm. Phôi có hình ảnh điển hình của hội chứng suy hô hấp cấp, phẫu tích còn cho thấy có sự ứ đọng các hồng cầu nhiễm trong lòng vi huyết quản não, tiểu não, tim, thận mà không có bằng chứng phản ứng viêm mạn tính trước đó trong não hoặc bất kỳ cơ quan nào. Lách và gan chứa nhiều hạt sắc tố pigment, đại thực bào, hồng cầu bị ký sinh. Thận có bằng chứng hoại tử ống thận cấp. Các tế bào nội mô trong nhu mô tim bị phù nề. Cắt các mảnh nhu mô não không thấy hiện tượng kết dính ICAM-1 (intracellular adhesion molecule-1). Toàn bộ hình ảnh giải phẫu tử thi rất giống với các trường hợp tử vong do *P. falciparum*. Có những điểm rất khác biệt quan trọng như vắng mặt hôn mê mặc dù có dấu xuất huyết dạng chấm và KSTSR ứ đọng trong nhu mô và vi huyết quản não.

Đặc điểm hình thái Plasmodium knowlesi qua xét nghiệm chuẩn vàng Giemsa: Năm 1999, Singh B và cộng sự nghiên cứu các trường hợp sốt rét ở khu vực Kapit thuộc đảo Borneo, Malaysia qua phát hiện KSTSR bằng chuẩn vàng Giemsa cho thấy đó là *P. malariae*, do hình thái không điển hình nên họ đã dùng kỹ thuật Nested PCR để xác định *P. malariae* DNA nhưng không

phù hợp với kết quả, họ đã tiếp tục nghiên cứu để xem rằng các trường hợp nhiễm này có phải do một biến thể của *P. malariae* hay do một loài *Plasmodium* mới xuất hiện. Để khẳng định điều đó, từ tháng 3.2000 đến 11.2002 nhóm nghiên cứu đã lấy 208 mẫu máu bệnh nhân mắc SR ở khu vực Kapit để xét nghiệm so sánh song song bằng soi kính hiển vi và Nested PCR, qua phương pháp Nested PCR họ đã phát hiện 120/208 (58%) là do *P. knowlesi* mà không phải do *P. malariae*.

Các nhà nghiên cứu đã quan sát từ giai đoạn hồng cầu nhiễm KSTSR qua nhuộm Giemsa của máu các bệnh nhân nhiễm đơn thuần *P. knowlesi* xác định bằng phương pháp nested PCR. Các thể tư dưỡng non xuất hiện các thể nhân và không thể hoặc rất khó phân biệt với thể tư dưỡng non của *P. falciparum*. Có khi xuất hiện nhiều hơn 1 thể nhân trong mỗi hồng cầu và hoặc có thể nhìn thấy các hematin đứng đôi. Thể tư dưỡng trưởng thành có mặt ít hơn 1/3 số hồng cầu bị nhiễm và bào tương đậm đặc, không biến hình, dễ nghĩ đến *P. malariae*. Trong một số trường hợp, có thể tìm thấy thể tư dưỡng già dạng “dãi băng” điển hình như với *P. malariae*. Các thể phân liệt tạo cụm trung tâm từ 8-18 tiểu thể hoa cúc và các thể phân liệt không chiếm hết toàn bộ hồng cầu. Các thể tư dưỡng và thể phân liệt được nhuộm sắc tố đậm đặc với sắc tố sẫm rết nâu, đậm hoặc màu đen. Thể giao bào tương tự như giao bào *P. malariae* và có hình tròn, chúng chiếm hầu hết thể tích hồng cầu và có sắc tố sẫm rết phân tán rải rác. Các hồng cầu nhiễm thể tư dưỡng già và thể phân liệt thường được nhìn thấy trong lam máu giọt đặc, chúng không trương phình và không thấy bất cứ chấm đậm và sáng nào; các đặc điểm trên tuy riêng biệt nhưng đôi khi tương tự điển hình đối với các hồng cầu nhiễm *P. malariae*.



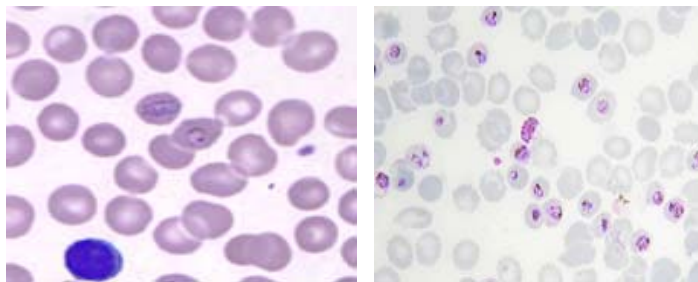
Hình 1: Phân biệt về mặt hình thái học KST giữa *P. malariae* và *P. knowlesi*

Về mặt chẩn đoán sinh học phân tử, vì một số nhược điểm của hình thái học “na ná” khi chỉ thông qua khâu xác định bằng chuẩn vàng Giem sa có khi phân vân giữa *P. knowlesi* với *P. falciparum* và *P. malariae*. Đặc biệt sự xuất hiện *P. knowlesi* tương tự *P. malariae* không thể chẩn đoán loại trừ một cách thỏa đáng, nên việc áp dụng các kỹ thuật sinh học phân tử như là kỹ thuật đối chiếu tương đối chuẩn. PCR và các kỹ thuật phân tích phân tử đều đáng tin cậy để chẩn đoán *P. knowlesi*. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho biết có thể có hiện tượng lai chéo (cross-hybridization) giữa loài *P. knowlesi* và *P. vivax*, do đó cần cân nhắc khi đưa ra kết quả, nhất là tại các vùng sốt rét lưu hành có tỷ lệ *P. vivax* tương đối cao.

Phát hiện và chẩn đoán loài ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium knowlesi*

Chẩn đoán *Plasmodium knowlesi* dựa trên hình thái học: Hình thể *P. knowlesi* trên tiêu bản khi soi dưới kính hiển vi tương tự như *P. malariae*. Đây là một trong những yếu tố gây nhầm lẫn *P. knowlesi* và *P. malariae* khi chẩn đoán bằng phương pháp nhuộm Giemsa truyền thống.

Theo tiền sử Janet thuộc Đại học Sarawar, Malaixia từ năm 2001 đến năm 2006, trong tổng số 960 lam máu của các bệnh nhân SR nhập viện thì có đến 228/266 lam được chẩn đoán nhầm là *P.malariae* được xác định là *P. knowlesi* bằng DNA sau đó.



Hình 2: Hình th ể *P. knowlesi* trên lam gi ọt mỏng (hình trái) và gi ọt dày (hình ph ải)

Chẩn đoán Plasmodium knowlesi bằng test chẩn đoán nhanh: Đối với các vùng mà điểm kính hiển vi không hoặc chưa bao phủ, việc áp

dụng các test chẩn đoán nhanh (RDTs) để phát hiện kháng nguyên rất cần thiết. Dạng test miễn dịch sắc ký có rất nhiều trên thị trường, rất tiện lợi. Ngưỡng phát hiện KSTSR bằng test nhanh dao động 0.002%-0.1% KSTSR trong máu) so v ới kính hiển vi thì cao gấp 5 lần.

Năm 2008, nhóm nghiên cứu gồm Jaap J. van Hellemond và cộng sự thực hiện đánh giá 2 loại test BinaxNOW Malaria và OptiMAL Rapid Malaria để phát hiện *P. knowlesi* trên máu người qua phân tích các mẫu máu lấy khi bệnh nhân nhập viện. Các mẫu máu lưu giữ -20°C trong 2 tuần cho đến khi thực hiện, các mẫu máu này có khoảng 2% hồng cầu nhiễm không phản ứng với kháng thể đặc hiệu *P. falciparum* chống lại HRP2, nhưng lại phản ứng với kháng nguyên Aldolase cài đặt sẵn trong BinaxNOW Malaria test. Mẫu này cũng cho kết quả dương tính với *P. falciparum*-specific LDH và pan-malarial LDH trong test OptiMAL Rapid Malaria test, xác định có phản ứng chéo với LDH của *P. knowlesi* với kháng thể đơn dòng 17E4 kháng *P. falciparum* LDH, theo tác giả McCutchan và cộng sự. Kháng thể này cũng được sử dụng trong test OptiMAL Rapid Malaria (Diamed). Do đó, một kết quả dương tính với *P. falciparum* LDH trong OptiMAL Rapid Malaria không đặc hiệu cho *P. falciparum* vì nó cũng có thể gây bởi khi nhiễm *P. knowlesi*. Kết quả dương tính đối với LDH và Aldolase ở một trong hai test sẽ trở nên âm tính sau điều trị, khi đó sẽ chỉ ra sạch ký sinh trùng sau điều trị. Do đó, OptiMAL test có thể phát hiện ngưỡng *P. knowlesi* thấp trong máu hơn là BinaxNOW Malaria test. Kết quả cũng chỉ ra các test chẩn đoán nhanh thương mại hóa để phát hiện các loài *Plasmodium* ở người có thể phát hiện *P. knowlesi* trên người, mặc dù nhiễm mức độ thấp. Một kết quả test âm tính cũng không thể loại trừ nhiễm *P. knowlesi*.

Chẩn đoán Plasmodium knowlesi bằng kỹ thuật sinh học phân tử: Các kỹ thuật PCR hoặc nested PCR và một số kỹ thuật miễn dịch phân tử khác đang được ứng dụng tại các la bô hiện đại để chẩn đoán và nghiên cứu về các loài KSTSR *P. knowlesi*. Các kỹ thuật này vừa giúp chẩn đoán xác định loài, vừa giúp nghiên cứu sâu về dịch tễ học phân tử, vừa làm sáng tỏ các khía cạnh khác cho loài KSTSR mới này ở người. Các phương pháp phân tử hiện đang sẵn có tại một số la bô lâm sàng và thử nghiệm “real-time” nhanh (chẳng hạn QT-NASBA dựa trên phản ứng PCR) đang triển khai, hy vọng có thể triển khai tại các vùng lưu hành bệnh. Vì mật độ KSTSR không phải lúc nào cũng tương quan với diễn tiến của bệnh, đặc biệt khi KSTSR dính vào thành mạch máu. Do đó, các công cụ chẩn đoán nhạy hơn nhưng không phải “hi-tech” là cần thiết để vận dụng để phát hiện KSTSR mật độ thấp tốt khi tiến hành tại thực địa.

Phác đồ điều trị sốt rét do Plasmodium knowlesi ở người: Điều trị chủ yếu đối với *P. knowlesi* là chloroquin (CQ), sau đó cho primaquin (PMQ) theo liệu trình chuẩn đã dùng cho đa số trường hợp cho thấy có đáp ứng tốt. Vì loài *P. knowlesi* chỉ cần 24 giờ là hoàn tất chu kỳ, nên nó sẽ nhân lên và đạt đến mật độ rất cao trong một thời gian ngắn, điều đó có thể dẫn đến tử

vong. Vì lý do này, bệnh nhân cần được chẩn đoán sớm và điều trị khẩn cấp. Với *P. knowlesi*, chúng đáp ứng và dung nạp tốt với các thuốc CQ và PMQ.

Nói tóm lại, hiện có nhiều báo cáo được đăng tải trong nước và quốc tế về sự có mặt của loài KSTSR *P. knowlesi* tại khu vực miền Trung-Tây Nguyên, Việt Nam. *P. knowlesi* hiện được xem là loài KSTSR thứ năm gây bệnh cho người, ngoài *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* và *P. ovale*. Riêng *P. knowlesi* ký sinh ở khỉ đuôi dài và khỉ đuôi heo (*Macaca fascicularis* và *Macaca menestrina*), chúng sống ở khu vực rừng rậm Đông Nam Á và ở khỉ *Presbytis melalophos* sống tại quần đảo Sumatra, Indonesia. Loài *P. knowlesi* có chu kỳ phát triển trong hồng cầu 24 giờ, với cấu trúc gen rất gần với *P. vivax* và nhiều đặc điểm hình thể giống *P. malariae*. Có thể gây SRAT và tử vong cho bệnh nhân nếu không thận trọng. Do vậy, việc tiếp tục mở rộng nghiên cứu đánh giá là cần thiết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bronner U., P.C. Divis, A. Farnert, B. Singh, 2009: *Malar J.* 8: 15.
2. Cox-Singh J., T. M. Davis, K. S. Lee, 2008: *Clin. Infect. Dis.* 46(2): 165-171.
3. Cox-Singh J., J. Hiu, S. B. Lucas, 2010: *Malar J.* 9(1):10.
4. Daneshvar C., T. M. E. Davis, J. Cox-Singh et al., 2009: *Clin. Infect. Dis.* 49(6): 852-860.
5. Lee K. S., J. Cox-Singh, G. Brooke, A. Matusop, B.Singh, 2009: *P. knowlesi* from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. *Int J Parasitol.*
6. McCutchan T. F. , R. C. Piper, M. T.Makler, 2008: *Emerg. Infect. Dis.* 14(11): 1750-1752.
7. Peter Van de Eede1, Hong Nguyen Van, Chantal Van Overmeir, Indra Vythilingam, Thang Ngo Duc, Hung Le Xuan, Hung Nguyen Manh, Umberto D'alseeandro, Annette Erhart, 2009: *Malar J.* 2009, 8: 249.

INFESTATION OF NEW MALARIA PARASITE SPECIES IN PATIENTS IN VIETNAM - *PLASMODIUM KNOWLESI* : WORLD MEDICAL LITERATURE AND INFORMATION REVIEW

TRIEU NGUYEN TRUNG, HUYNH HONG QUANG, PHAM VAN THAN

SUMMARY

A research report recently published in the prestigious Malaria Journal Vol.10, 2009 confirmed that *P. knowlesi*, the parasite previously proven to cause malaria on monkeys, is now be able to infect and transmit the disease to humans in Vietnam. According to Peter Van de Edel et al., among 95 morphologically and PCR diagnosed *P. malariae* malaria cases in Vietnam, there were 3 *P. knowlesi* cases identified by DNA sequencing technique. These cases (two children aged 2 and 3 respectively, and a 27-year-old man) have forest-related living and working activities in malaria endemic areas of Ninh Thuan province. Therefore, a question was raised : Is there a possibility that *An. dirus* or any other species belonging to the *An. leucosphyrus* group which exists in Central Vietnam can transmit *P.knowlesi* from monkeys to humans in Vietnam? In the pathological view, *P. knowlesi* malaria can cause severity and mortality to patients. So, in this paper, we will have some generalization and updated information from medical literatures on the fifth species of malaria parasites. In general, human *P. knowlesi* malaria now is a public health problem as a life-threatening risk on human beings.