

Thực trạng nhiễm HDV ở Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Current status of HDV infection at 108 Military Central Hospital

Mai Thanh Bình, Nghiêm Xuân Hoàn

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân tích tình trạng nhiễm vi rút viêm gan D, cũng như phân bố kiểu gen của vi rút viêm gan D trên những bệnh nhân nhiễm viêm gan B tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. **Đối tượng và phương pháp:** 546 bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B mạn tính khám và điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ 2013 đến 2015, gồm 3 nhóm: Viêm gan B mạn tính (viêm gan B mạn tính, n = 191), xơ gan (n = 147) và ung thư biểu mô tế bào gan (UBTG, n = 208). Bệnh nhân được phát hiện HDV-RNA bằng kỹ thuật Nested PCR sử dụng bộ mồi đặc hiệu. Kiểu gen của vi rút viêm gan D được xác định dựa trên phương pháp giải trình tự trực tiếp, và xác định dựa trên phân tích mối tương quan loài. **Kết quả:** HDV-RNA dương tính ở 13% (71/546) số bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B. Tỷ lệ phát hiện vi rút viêm gan D cao nhất ở nhóm xơ gan (19,7%), tiếp theo là UBND (12%) và viêm gan B mạn tính (8,9%) (p=0,012). Các phân tích phát sinh loài cho thấy kiểu gen HDV1 chiếm 91%, là kiểu gen phổ biến nhất. Kiểu gen HDV2 chiếm 9%, và không phát hiện các kiểu gen còn lại của vi rút viêm gan D. **Kết luận:** Tỷ lệ nhiễm vi rút viêm gan D tiếp tục cao ở bệnh nhân viêm gan B khám và điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, với kiểu gen HDV1 vẫn là kiểu gen chiếm ưu thế. Xét nghiệm acid nucleic vi rút viêm gan D nên được khuyến cáo thường quy ở những bệnh nhân viêm gan B tại bệnh viện.

Từ khóa: Vi rút viêm gan D, kiểu gen vi rút viêm gan D, nhiễm vi rút viêm gan B, đồng nhiễm HBV/HDV.

Summary

Objective: To assess the prevalence of hepatitis Delta virus and genotypes distributions in 108 Military Central Hospital. **Subject and method:** A total of 546 HBV-infected patients were enrolled from 2013 to 2015 at the 108 Military Central Hospital, and classified clinically into the subgroups of chronic hepatitis B (CHB, n = 191), liver cirrhosis (LC, n = 147) and hepatocellular carcinoma (HCC, n = 208). The patients were screened for HDV-RNA by nested PCR assays. HDV genotypes were assessed by direct sequencing, followed by phylogenetic analyses. **Result:** HDV-RNA was identified in 13% (71/546) of HBV-infected patients. The highest HDV prevalence was found in the LC group (19.7%), followed by the HCC (12%) and CHB (8.9%) groups (p=0.012). Phylogenetic analyses indicated that the genotype HDV1 was, with a prevalence of 91%, by far the most common genotype in Vietnam, followed by HDV2 with 9%. Other HDV genotypes were not observed. **Conclusion:** High prevalence of HDV infection in hepatitis B patients in 108 Military Central Hospital, with the HDV1 genotype still being the predominant genotype. HDV nucleic acid testing to minimize the associated risk should be considered.

Ngày nhận bài: 16/01/2023, ngày chấp nhận đăng: 31/3/2023

Người phản hồi: Mai Thanh Bình, Email: maibinhhtieuhoa108@gmail.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Keywords: HDV, HDV infection, HDV genotype, HBV infection, HBV/HDV coinfection.

1. Đặt vấn đề

Vi rút viêm gan D (HDV), lần đầu tiên phát hiện năm 1977, là một loại vi rút không hoàn chỉnh, phải sử dụng các vỏ protein của vi rút viêm gan B (HBV) để lây nhiễm thành công các tế bào gan [1]. Cấu trúc của HDV bao gồm một lớp vỏ ngoài chứa các protein vỏ của HBV và các lipid chủ bao quanh một nucleocapsid bên trong, bao gồm các kháng nguyên nhỏ và kháng nguyên lớn của HDV (HDAg) và RNA dạng vòng sợi đơn (gồm 1679 nucleotide) [1].

Đồng nhiễm HDV/HBV là một vấn đề sức khỏe toàn cầu ảnh hưởng đến 15-20 triệu người trên toàn thế giới [2]. Mặc dù nhiễm HDV thường liên quan đến tăng nguy cơ xơ gan (LC) và ung thư biểu mô tế bào gan (UBTG), nhưng bệnh viêm gan D thường bị bỏ qua hoặc bỏ sót, do thiếu nhận thức và không có sẵn các công cụ chẩn đoán thích hợp tại các bệnh viện, kể cả các bệnh viện lớn [1]. Hơn nữa, xét nghiệm HDV không được phải xét nghiệm thường quy trong thực hành lâm sàng ở nhiều quốc gia, và việc điều trị HDV đang là một thách thức và hầu như không hiệu quả.

Hiện tại, tám kiểu gen HDV (HDV1-8) đã được công nhận với sự phân bố địa lý riêng biệt và các đặc điểm lâm sàng liên quan [3]. Kiểu gen HDV1 xuất hiện trên toàn thế giới và có liên quan đến cả hai dạng lâm sàng nặng và nhẹ của bệnh viêm gan D. Tỷ lệ lưu hành HDV ở bệnh nhân nhiễm HBV thường được mô tả bằng tỷ lệ phần trăm số người dương tính với anti-HDAg ở bệnh nhân dương tính với HBsAg. Tỷ lệ hiện mắc thay đổi đáng kể giữa các khu vực địa lý. Mặc dù nhiễm HDV khá hiếm ở châu Âu do các chương trình tiêm chủng vắc-xin HBV và sàng lọc tốt phần lớn các chế phẩm máu, nhưng viêm gan D vẫn là mối lo ngại với tỷ lệ cao nhất ở các quốc gia lưu hành HBV, nơi có thu nhập thấp và không đủ độ bao phủ tiêm vắc-xin HBV. Ví dụ, tỷ lệ nhiễm HDV huyết thanh cao đã được báo cáo ở Pakistan, nơi khó tiến hành các chiến dịch tiêm chủng (35,2%), Mongolia (67%), Gabon (15,6% to

70,6%) [4]. Gần đây, tỷ lệ lưu hành HDV ở các nước châu Phi cận Sahara được ước tính là 1,3% đến 50% [5].

Ở Việt Nam, tỷ lệ nhiễm HBV dao động từ 10% đến 15% trong tổng dân số [6], cho thấy nguy cơ nhiễm HDV cao ở những bệnh nhân có HBsAg dương tính. Một số nghiên cứu chỉ đánh giá tầm quan trọng về dịch tễ học và lâm sàng của nhiễm HDV từ năm 2000 đến 2015 tại Việt Nam, cho thấy kết quả khác nhau về tỷ lệ nhiễm HDV giữa các vùng. Đặc biệt, sự phân bố các kiểu gen HDV có sự khác biệt giữa miền Bắc và miền Nam Việt Nam [7-10]. HDV1 được báo cáo là kiểu gen chiếm 90% HDV1 ở miền Bắc Việt Nam ở những bệnh nhân nhiễm HBV được tuyển chọn từ năm 2000 đến 2003 [8]. Ngược lại, một nghiên cứu gần đây đã báo cáo rằng HDV2 là kiểu gen chiếm ưu thế (80%) ở miền nam Việt Nam [10]. Tuy nhiên, cả hai nghiên cứu đều được thực hiện với cỡ mẫu nhỏ ($n < 300$). Trong nghiên cứu này, một nhóm bệnh nhân nhiễm HBV lớn hơn được lựa chọn để đánh giá tỷ lệ nhiễm HDV tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108; là tiền đề đánh giá những thay đổi có thể có trong sự phân bố kiểu gen trong thập kỷ qua ở miền Bắc Việt Nam qua hơn 1 thập kỷ.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Gồm 546 bệnh nhân nhiễm HBV đã khám và điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Hà Nội, Việt Nam, từ năm 2013 đến năm 2015. Tất cả những người tham gia đều âm tính với kháng thể kháng HCV và kháng HIV được đánh giá bằng xét nghiệm ELISA thông thường. Không ai trong số những người tham gia nghiên cứu có tiền sử lạm dụng rượu hoặc ma túy. Tải lượng HBV-DNA và các thông số chức năng gan sinh hóa, bao gồm nồng độ alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), bilirubin toàn phần và bilirubin trực tiếp cũng như albumin và prothrombin đã được đánh giá. Bệnh nhân được phân loại theo các nhóm theo các tiêu chuẩn về lâm sàng và cận lâm sàng: Viêm gan B mạn tính (VGBM, $n = 191$), xơ gan (XG, $n = 147$)

và ung thư biểu mô tế bào gan (UBTG, n = 208). Chức năng gan của bệnh nhân XG và UBTG được phân loại theo điểm số Child-Pugh (Child-A, B và C). Giai đoạn UBTG được xác định theo phân loại của BCLC. Mẫu máu toàn phần và huyết thanh được bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng.

2.2. Chuẩn mực đạo đức

Có được sự đồng ý bằng văn bản sau khi giải thích chi tiết về nghiên cứu tại thời điểm lấy mẫu máu và huyết thanh từ tất cả những người tham gia hoặc từ cha mẹ của họ nếu đối tượng < 18 tuổi. Nghiên cứu đã được phê duyệt bởi Hội đồng Y Đức của Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Hà Nội, Việt Nam. Tất cả các thí nghiệm đã được thực hiện theo các hướng dẫn và quy định có liên quan.

2.3. Chiết xuất axit nucleic và tổng hợp cDNA

RNA virus (HDV-RNA) được phân lập từ huyết thanh thu được từ những người tham gia nghiên cứu sử dụng kit thương mại (QIAamp Viral RNA Mini Kit; Qiagen GmbH, Hilden, Germany). Sử dụng HDV-RNA để tổng hợp cDNA sử dụng kit thương mại (the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit - Thermo Fisher Scientific, Foster City, CA, USA) dựa trên hướng dẫn chi tiết của kit.

2.4. Kỹ thuật phát hiện HDV-RNA

Kỹ thuật Nested PCR sử dụng bốn cặp mồi đặc hiệu cho HDV (Bảng 1), có thể phát hiện được 8 kiểu gen của HDV từng được công bố [10].

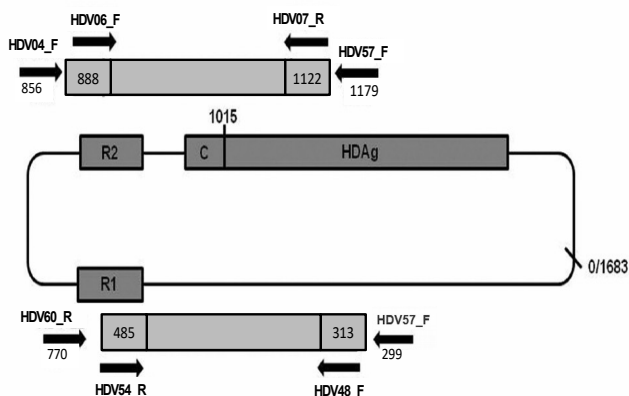
Bảng 1. Trình tự các mồi được sử dụng để phát hiện, nhân lên HDV_RNA

Mồi	Trình tự (5'-3')	Vị trí	Vòng PCR
HDV04_F	GGATGCCAGGTCCGACCG	856-874	PCR đầu tiên
HDV05_R	AAGAAGAGRAGCCGGCCCGY	1159-1179	PCR đầu tiên
HDV06_F	ATGCCATGCCGACCCGAAGA	888-907	PCR thứ hai
HDV07_R	GGGGAGCGCCCGDGGCGG	1104-1122	PCR thứ hai
HDV57_F	GAGAAMYCACCTCCAGAGGA	299-318	PCR đầu tiên
HDV60_R	TCCCATTCGCCATTACCGA	752-770	PCR đầu tiên
HDV48_F	AGAGGACCCCTTCAGCGAAC	313-332	PCR thứ hai
HDV54_R	CCGGGATAAGCCTCACTCG	467-485	PCR thứ hai

Phản ứng PCR có tổng thể tích là 25µl (5ng cDNA, 10x buffer [20 nM Tris-HCl, 50 nM KCl, 2 nM MgCl₂], 0,2nM dNTPs, 0,4nM MgCl₂, 0,6µM cặp mồi đặc hiệu và 1 unit Taq polymerase). Phản ứng PCR vòng ngoài (vòng đầu tiên, outer PCR) sử dụng cặp mồi HDV57_F và HDV60_R (nucleotides 299 to 770, theo NC001653). Điều kiện phản ứng PCR gồm bước biến tính ban đầu (94°C, 4 phút), 32 chu kỳ × (30 giây ở độ biến tính 94°C, 30 giây ở nhiệt độ ủ 54°C, 30 giây ở nhiệt độ mở rộng 72°C), tiếp theo là bước biến tính cuối cùng ở 72°C trong 10 phút. Phản ứng PCR vòng trong (vòng thứ 2, inner PCR) sử dụng cặp mồi HDV48_F và HDV54_R để khuếch

đại đoạn bên trong (nucleotide từ 313 đến 485, theo NC001653). Điều kiện phản ứng inner PCR bao gồm biến tính ban đầu trong 4 phút ở 94°C, sau đó là 35 chu kỳ x (biến tính ở 94°C trong 30 giây, ủ nhiệt ở 58°C trong 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 30 giây), với giai đoạn cuối kéo dài 10 phút bước ở 72°C. Sản phẩm thu được trong vòng PCR thứ hai được hiện thị, và đánh giá kết quả trên gel agarose 1,5%. Mỗi mẫu bệnh phẩm được thực hiện 3 lần thí nghiệm. Mẫu được xác định là dương tính với HDV nếu phát hiện được 2 lần trên 3 lần thí nghiệm.

2.5. Xác định kiểu gen của HDV



Hình 1. Sơ đồ biểu diễn sự bắt cặp và hoạt động của các cặp mồi: Các mồi HDV06 và HDV07 của PCR lồng nhau được sử dụng để phát hiện HDV và xác định kiểu gen HDV trong vùng từ nt 888 đến nt 1122. Đoạn HDV từ vị trí nt 313 đến nt 485 được tạo ra bởi cặp mồi HDV48 và HDV54. Đánh số theo chủng HDV NC1001653.

Để xác định kiểu gen HDV, PCR lồng nhau được thực hiện bằng cách sử dụng cặp mồi HDV04_F và HDV05_R cho vòng đầu tiên để khuếch đại đoạn bên ngoài (nucleotide 856 đến 1179, theo NC001653; Bảng 1). Đối với vòng thứ hai, chúng tôi sử dụng cặp mồi HDV06_F và HDV07_R để khuếch đại đoạn bên trong (nucleotide 888 đến 1122, theo NC001653, Hình 1). Các bộ khuếch đại PCR bên trong thu được trong vòng thứ hai đã được tinh chế bằng cách sử dụng Bộ tinh lọc dải gel và DNA GFX PCR (GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg, Đức) hoặc bộ Exo-SAP-IT (USB, Affymetrix, MA, USA) theo sau hướng dẫn của nhà sản xuất. Các sản phẩm PCR tinh khiết sau đó được sử dụng làm mẫu giải trình tự, thực hiện giải trình tự gen trực tiếp, bằng hệ thống ABI 3130XL và bộ giải trình tự BigDye terminator v.1.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Cây phát sinh gen được xây dựng bằng phần mềm MEGA7 (www.megasoftware.net). Các tham chiếu về bộ gen đầy đủ của tám kiểu gen HDV (HDV1-8) đã được lấy từ dữ liệu NCBI GenBank có sẵn, bao gồm trình tự của các kiểu gen HDV1

HDV1 (AB118848, AF098261, AF425644, AJ000558, AJ307077, AY633627, HM046802, KF660600, KF660601, KF660602, M92448, NC001653, S75645, X77627, X85253), HDV2 (KF660598, AF425645, AJ309879, AJ309880, AY261457, AY261459, AY261460, KF660599, U19598, X60193), HDV3 (AB037947, AB037948, L22063), HDV4 (AF309420, HM309420), HDV5 (AM183326, AX741154, JA417546), HDV-6 (AM183329, AM183332), HDV7 (AJ584844, AM183333) and HDV8 (AM183330, AX741169, LT604974). Tất cả mẫu giải trình tự được đọc và phân tích trên phần mềm BioEdit version 7 và sử dụng thuật toán CLUSTAL Muscle algorithm. Cây phát tích tương quan gen được xây dựng bằng cách sử dụng phương pháp the neighbour joining method và the Kimura-2 model. Độ mạnh thống kê và độ tin cậy của thứ tự phân nhánh đã được xác nhận bằng phân tích bootstrap bằng 1000 lần lặp.

2.6. Phân tích thống kê

Để phân tích thống kê, sử dụng phần mềm R (<http://www.r-project.org>) và GraphPad Prism 7 (<http://www.graphpad.com>). Chi-square or Fisher’s exact test được thực hiện để kiểm tra sự khác biệt của các biến phân loại giữa hai hoặc nhiều hơn hai nhóm. Kiểm định Wilcoxon-Mann-Whitney và Kruskal-Wallis được sử dụng để so sánh dữ liệu phi tham số của các biến định lượng giữa hai hoặc nhiều hơn hai nhóm. Mức ý nghĩa là $p < 0,05$.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm chung của bệnh nhân viêm gan B mạn tính

Các đặc điểm sinh trắc học của 546 người tham gia nghiên cứu bị nhiễm HBV được tóm tắt trong Bảng 2. Trong số 546 bệnh nhân, 465 (85%) là nam và 81 (15%) là nữ. Tuổi trung bình của bệnh nhân là 53 (12-86 tuổi). Những bệnh nhân trong nhóm VGBM trẻ hơn những bệnh nhân trong nhóm XG và UBTG (lần lượt là 37 so với 57 và 60 tuổi). Nồng độ albumin và

prothrombin cũng như số lượng tiểu cầu ở nhóm XG thấp hơn đáng kể so với các nhóm khác ($p < 0,001$) và nồng độ bilirubin trực tiếp và gián tiếp ở nhóm XG cao hơn so với nhóm VGBM và UBTG ($p < 0,0001$). Nồng độ men gan (AST, ALT)

ở nhóm VGBM cao hơn đáng kể so với các nhóm khác ($p = 0,0045$ và $0,0048$, tương ứng). Mức AFP cao hơn đáng kể ở những bệnh nhân UBTG so với các phân nhóm bệnh nhân VGBM và XG ($p < 0,0001$).

Bảng 2. Đặc điểm sinh trắc học của bệnh nhân viêm gan B mạn tính

Đặc điểm	Tổng (n = 546)	VGBM (n = 191)	XG (n = 147)	UBTG (n = 208)	Giá trị p
Tuổi	53 (12-86)	37 (12-73)	57 (15-86)	60 (15-81)	<0,0001#
Nam (%)	85,1	77	85	92,8	<0,0001#
Phân loại Child-Pugh					
Child A		NA	60/132	153/208	
Child B		NA	61/132	47/208	
Child C		NA	11/132	8/208	
Missing		NA	15	0	
Cận lâm sàng					
AST (IU/L)	62,5 (14-6206)	47 (14-6206)	78 (18-1221)	58 (17-670)	0,0045‡
ALT (IU/L)	54 (8-3390)	60 (8-3390)	55 (8-1426)	48 (11-934)	0,0048‡
Total bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	18 (4,1-571)	16,3 (5,5-551)	31,65 (4,1-593)	17 (6-282)	<0,0001‡
Direct bilirubin trực tiếp ($\mu\text{mol/L}$)	6 (0,4-349)	5,9 (1-349)	11,5 (0,4-350,22)	5,5 (0,4-189,39)	<0,0001‡
albumin (g/L)	39 (9,8-49)	42 (9,8-48)	31 (15-47)	38 (21-49)	<0,0001‡
Prothrombin (% of standard)	85 (13-269)	92,5 (17-267)	60 (13-120)	83,5 (19,6-269)	<0,0001‡
Tiểu cầu ($\times 10^3/\text{ml}$)	174 (3,7-426)	210 (65-416)	89 (3,7-325)	166 (42-426)	<0,0001‡
HBV DNA (\log_{10} copies/ml)	7,0 (2-10,3)	5,4 (2-10,3)	4,5 (2-9)	$4,6 \times 10^3$ (2-9,2)	0,019‡
AFP (IU/L)	8,4 (1,06-400)	3 (1,06-400)	7,9 (1,18-400)	133 (1,38-400)	<0,0001‡

Chú thích: VGBM: Viêm gan B mạn tính; XG: Xơ gan; UBTG: Ung thư biểu mô tế bào gan; TC, AST và ALT, aspartate và alanine amino transferase; total bilirun, bilirubin toàn phần; direct bilirubin, bilirubin trực tiếp; AFP, alpha-fetoprotein; IU, international unit. Các giá trị được cung cấp là trung vị và phạm vi hoặc phân vị tùy loại giá trị. (‡) Kruskal-Wallis test. (#) Chi-square test.

3.2. Tỷ lệ nhiễm HDV ở bệnh nhân mắc bệnh gan do HBV

HDV-RNA được phát hiện ở 71 (13%) trong số 546 bệnh nhân nhiễm HBV. Trong số 71 bệnh nhân dương tính với HDV, 66/71 (93%) là nam

và 5/71 (7%) là nữ ($p < 0,05$). HDV-RNA được phát hiện được nhiều hơn ở nhóm XG (19,7%; 29/147) so với bệnh nhân UBTG (12% hoặc 25/208) và những người thuộc nhóm VGBM (8,9% hoặc 17/191) ($p = 0,012$), cho thấy rằng

nhiễm HDV có thể là một yếu tố nguy cơ phát triển xơ gan ở bệnh nhân VGBM (OR = 2,5; 95%CI= 1,3-4,8, p=0,006). Khi phân nhóm bệnh nhân theo thang điểm Child-Pugh, bệnh nhân Child B hoặc C phát hiện tỷ lệ HDV (+) cao hơn đáng kể so với bệnh nhân Child A (OR = 2,0, 95%CI = 1,1-3,7, p=0,02). Tương tự, tỷ lệ nhiễm HDV-RNA ở bệnh nhân mắc bệnh gan tiến triển (bệnh nhân LC và/hoặc UBTG) cao hơn so với

bệnh nhân VGBM, cho thấy nhiễm HDV là một yếu tố nguy cơ đáng kể đối với sự phát triển XG hoặc UBTG ở bệnh nhân VGBM (OR = 1,8; 95%CI: 1-3,2, p=0,043). Chúng tôi cũng đánh giá ảnh hưởng của nhiễm HDV đối với UBTG theo giai đoạn BCLC. Tuy nhiên, việc so sánh các nhóm BCLC không đạt được ý nghĩa thống kê (Bảng 3).

Bảng 3. Mối liên quan giữa nhiễm HDV và sự tiến triển của bệnh lý gan mạn tính do HBV

Nhóm bệnh	Đồng nhiễm HDV/HBV		Chỉ nhiễm HBV		OR (95% CI)	Giá trị p [‡]
	n/tổng	%	n/tổng	%		
VGBM	17/191	8,9	174/191	91,1	1	
XG	29/147	19,7	118/147	80,3	2,5 (1,3-4,8)	0.006
UBTG	25/208	12	183/208	88	1,3 (0,7-2,7)	NS
XG+UBTG	54/355	15,2	301/355		1,8 (1,1-3,2)	0,043
Phân loại Child-Pugh						
Child A	25/213	11,7	188/213	88,3	1	
Child B	24/108	22,2	84/108	77,8	2,2 (1,2-4,0)	0.021
Child C	3/19	16	16/19	84	1,4 (0,4-4,5)	NS
Child B and C	27/127	21,2	100/127	78,8	2,0 (1,1-3,7)	0.02
Giai đoạn UBTG						
BCLC A	5/66	7,6	61/66	92,4	1	
BCLC B	13/76	17	63/76	83	2,5 (0,8-6,6)	NS
BCLC C	3/37	8	34/37	92	1 (0,2-4,4)	NS
BCLC D	1/10	10	9/10	90	1,3 (0,1-9,3)	NS

VGBM: Viêm gan B mạn tính; XG: Xơ gan; UBTG: Ung thư biểu mô tế bào gan; BCLC: Phân loại ung thư gan theo Barcelona; (‡) Giá trị p được tính dựa trên Fisher's exact test.

3.3. Phân bố kiểu gen HDV

Trong số 71 mẫu dương tính với HDV-RNA, có 57 mẫu được giải trình tự và xác định kiểu gen thành công. Các phân tích phát sinh loài của đoạn khuếch đại (235bp) từ bộ gen HDV gồm 57 trình tự cho thấy HDV1 là kiểu gen thường gặp nhất (52/57, 91%); HDV2 chỉ được tìm thấy ở 5/57 (9%) bệnh nhân đồng nhiễm HDV/HBV (Hình 2A, 2B). Tất cả các trình tự đã được gửi đến cơ sở dữ liệu GenBank (MG722912-MG722968).

Hình 2. Kiểu gen của HDV phân lập được: (A): Cây phân lập gen được xây dựng dựa trên sự sắp xếp của 235bp trong số 57 trình tự nucleotide được phân lập từ các bệnh nhân đồng nhiễm HDV/HBV. 39 bộ gen HDV có độ dài đầy đủ thông qua các trình tự mẫu các kiểu gen HDV1-8 được lấy từ cơ sở dữ liệu NCBI cùng với các số gia nhập GenBank đã được đưa vào để phân tích. Mỗi liên hệ tương quan (neighbor-joining tree) được xây dựng dựa trên bootstrap gồm 1.000 lần lặp lại. Thanh ở gốc cây biểu thị tỷ lệ thay thế nucleotide trên mỗi vị trí. (B): Cây phát sinh loài chỉ được xây dựng cho các trình tự kiểu gen 1 và 2 của HDV và bao gồm 82 trình tự nucleotide (25 tham chiếu về bộ gen HDV có độ dài đầy đủ được lấy từ cơ sở dữ liệu NCBI, 52 chủng của kiểu gen HDV 1 (ký hiệu là ♦) và 5 HDV kiểu gen 2 (ký hiệu là ●) từ bệnh nhân đồng nhiễm HBV/HDV trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi.

4. Bàn luận

Mặc dù đã có vắc-xin HBV hiệu quả, nhưng đồng nhiễm HDV/HBV vẫn là mối quan tâm và không được báo cáo đầy đủ ở nhiều vùng lưu hành HBV. Ở Việt Nam, mặc dù chương trình tiêm phòng viêm gan B phổ cập đã được triển khai từ năm 2003 với độ bao phủ rất cao, nhiễm HBV vẫn là một trong những vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng nhất với 10-15% số người nhiễm trong dân số nói chung và 20-40% giữa các nhóm có nguy cơ cao như người sử dụng ma túy và người nhiễm HIV [6]. Điều này cho thấy tỷ lệ nhiễm HDV cao ở những người Việt Nam có HBsAg dương tính. Có rất ít dữ liệu về dịch tễ học phân tử nhiễm HDV và các kết quả không nhất quán về cả tỷ lệ nhiễm và phân bố các kiểu gen HDV ở Việt Nam [7-10]. Ở đây chúng tôi mô tả tỷ lệ lưu hành HDV cao trong nhóm bệnh nhân khám và điều trị tại bệnh viện Trung ương Quân đội 108, và kiểu gen HDV1 chiếm ưu thế.

Tỷ lệ nhiễm HDV khác nhau đáng kể giữa các quốc gia ở châu Phi, Nam Mỹ và một phần châu Á [7, 9], trong khi tỷ lệ lưu hành thấp ở Bắc Âu và Bắc Mỹ, nơi nhiễm HDV chủ yếu xảy ra ở những người tiêm chích ma túy. Tại Việt Nam, tỷ

lệ phân bố lưu hành HDV được cho là khác biệt giữa các vùng theo phân bố địa lý. Một nghiên cứu đã chỉ ra rằng tỷ lệ nhiễm HDV khác nhau ở 5 vùng trên khắp Việt Nam, bao gồm Hà Nội, Hải Phòng, Đà Nẵng, Khánh Hòa và Cần Thơ [9]. Tỷ lệ phát hiện HDV cao ở miền Bắc Việt Nam (30,2% và 29,4% ở Hà Nội và Hải Phòng, tương ứng), nhưng thấp hơn ở miền Nam Việt Nam (8,1% ở Khánh Hòa và 12,5% ở Cần Thơ) và miền Trung Việt Nam (5,3% ở Đà Nẵng). Một nghiên cứu trước đây được thực hiện trên một nhóm bệnh nhân nhiễm HBV được thu thập hơn một thập kỷ trước đã cho thấy tỷ lệ lưu hành HDV-RNA cao ở miền bắc Việt Nam (15,4%) [9]. Nhiễm HDV-RNA xác định được ở 10% người mắc VGBM, được thu thập vào năm 2015 tại miền Trung Việt Nam [10]. Sự khác biệt về tỷ lệ lưu hành HDV-RNA giữa hai nghiên cứu này phản ánh sự phân bố khác biệt của HDV theo vùng miền tại Việt Nam. Phát hiện của chúng tôi về tỷ lệ nhiễm HDV cao tại Bệnh viện TWQĐ 108 (13%), góp phần chứng thực cho các kết quả trước đó [8, 9] và chỉ ra rằng tỷ lệ nhiễm HDV không giảm trong thập kỷ qua ở miền Bắc Việt Nam, mặc dù chương trình tiêm phòng viêm gan B đã được thiết lập tốt.

Sự phân bố khác nhau của các kiểu gen HDV ở miền Bắc và miền Nam Việt Nam gần đây đã được báo cáo [8-10], với kiểu gen HDV1 xuất hiện ở tất cả các vùng của Việt Nam [9]. HDV1 chiếm ưu thế ở miền Bắc Việt Nam với 90% [8], nhưng chỉ chiếm 20% ở miền Trung Việt Nam [10]. Ở đây, chúng tôi xác nhận sự chiếm ưu thế của HDV1 (HDV1, 91% so với HDV2, 9%) tại Bệnh viện TWQĐ 108, phù hợp với phát hiện rằng HDV1 là kiểu gen phổ biến nhất trên toàn thế giới, trong khi các kiểu gen khác khá hạn chế ở các vùng địa lý riêng biệt.

5. Kết luận

So với tình hình một thập kỷ trước, nhiễm HDV vẫn là một vấn đề y tế nghiêm trọng ở Việt Nam. Tại Bệnh viện TWQĐ 108, ghi nhận tỷ lệ dương tính với HDV-RNA ở bệnh nhân nhiễm HBV cao (13%) và HDV1 là kiểu gen chủ yếu. Tỷ lệ nhiễm HDV tiếp tục cao ở bệnh nhân viêm gan B làm tăng gánh nặng bệnh tật, và làm tăng nguy

cơ diễn tiến sang các giai đoạn tiến triển như xơ gan và ung thư gan.

Tài liệu tham khảo

1. Sureau C and Negro F (2016) *The hepatitis delta virus: Replication and pathogenesis*. J Hepatol 64(1): 102-116.
2. Nouredin M and Gish R (2014) *Hepatitis delta: epidemiology, diagnosis and management 36 years after discovery*. Curr Gastroenterol Rep 16(1): 365.
3. Le Gal F, Gault E, Ripault MP, Serpaggi J, Trinchet JC, Gordien E, Dény P (2006) *Eighth major clade for hepatitis delta virus*. Emerg Infect Dis 12(9): 1447-1450.
4. Thimme R (2016) *Highlights from Hepatology 2015: From Chronic Hepatitis to Hepatocellular Carcinoma*. Dig Dis 34(4): 1-2.
5. Andernach IE, Leiss LV, Tarnagda ZS, Tahita MC, Otegbayo JA, Forbi JC, Omilabu S, Gouandjika-Vasilache I, Kommas NP, Mbah OP, Muller CP (2014) *Characterization of hepatitis delta virus in sub-Saharan Africa*. J Clin Microbiol 52(5): 1629-1636.
6. Nguyen VT (2012) *Hepatitis B infection in Vietnam: current issues and future challenges*. Asia Pac J Public Health 24(2): 361-373.
7. Dunford L, Carr MJ, Dean J, Nguyen LT, Ta Thi TH, Nguyen BT, Connell J, Coughlan S, Nguyen HT, Hall WW, Thi LA (2012) *A multicentre molecular analysis of hepatitis B and blood-borne virus coinfections in Viet Nam*. PLoS One 7(6): 39027.
8. Sy BT, Ratsch BA, Toan NL, Song le H, Wollboldt C, Bryniok A, Nguyen HM, Luong HV, Velavan TP, Wedemeyer H, Kremsner PG, Bock CT (2013) *High prevalence and significance of hepatitis D virus infection among treatment-naive HBsAg-positive patients in Northern Vietnam*. PLoS One 8(10): 78094.
9. Hall N, Thuy LN, Diem Tdo T, Waters A, Dunford L, Connell J, Carr M, Hall W, Thi LA (2015) *High prevalence of hepatitis delta virus among persons who inject drugs, Vietnam*. Emerg Infect Dis 21(3): 540-543.
10. Nguyen HM, Sy BT, Trung NT, Hoan NX, Wedemeyer H, Velavan TP, Bock CT (2017) *Prevalence and genotype distribution of hepatitis delta virus among chronic hepatitis B carriers in Central Vietnam*. PLoS One 12(4): 0175304.