

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ứng Thị Hồng Trang

**ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA VIRUS HỢP BÀO
HÔ HẤP TRÊN BỆNH NHÂN NHI VIÊM ĐƯỜNG HÔ HẤP
CẤP TÍNH NẶNG TẠI BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG VÀ
BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH QUẢNG NINH**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Ngành: Vi sinh vật học

Mã số: 9 42 01 07

Hà Nội – 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn: TS. HOÀNG VŨ MAI PHƯƠNG

Cơ quan công tác: Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

2. Người hướng dẫn: GS.TS. NGUYỄN HUY HOÀNG

Cơ quan công tác: Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 1: GS.TS. Nguyễn Duy Bắc

Phản biện 2: PGS.TS. Vũ Chí Dũng

Phản biện 3: PGS.TS. Đỗ Thị Phúc

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ

2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Virus hợp bào hô hấp (RSV) được phát hiện từ hơn 60 năm trước, là virus hô hấp phổ biến trong mùa đông và gây bệnh trên tất cả các độ tuổi. Theo ước tính, có tới 95% số trẻ bị nhiễm RSV trước khi được 2 tuổi. Đây cũng là nhóm tuổi có tỷ lệ tử vong do RSV cao nhất trong cộng đồng. Sự lưu hành của dịch bệnh do RSV là khác nhau ở các vùng khí hậu khác nhau. Các quốc gia ôn đới, mùa dịch chủ yếu là mùa đông và có thể kéo dài đến mùa xuân. Tại các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới, dịch bệnh diễn ra gần như quanh năm.

Tại Việt Nam các nghiên cứu về RSV không được thực hiện nhiều. Các nghiên cứu này đều được thực hiện trước năm 2015. Trong đó, đặc điểm di truyền học được phân tích trên các mẫu thu thập trước năm 2012. Các kết quả thu được trong nghiên cứu này là kết quả đầu tiên xác định đặc điểm lưu hành và sinh học phân tử của virus hợp bào hô hấp tại bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh nói riêng cũng như của Việt Nam nói chung kể từ sau năm 2015. Các kết quả về sự lưu hành, tính mùa vụ gây dịch bệnh cũng như đặc điểm hệ gen, mối quan hệ của các chủng trong luận án này với các chủng trên thế giới góp phần hỗ trợ việc nghiên cứu và phát triển vaccin phòng RSV.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Xác định sự lưu hành của virus hợp bào hô hấp trên bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh.
- Xác định đặc điểm sinh học phân tử của virus hợp bào hô hấp tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

- Thu thập mẫu bệnh phẩm hô hấp từ bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh trong giai đoạn 2017-2020.

- Tách chiết vật liệu di truyền RNA của virus, realtime RT-PCR chẩn đoán và phân nhóm RSV. Phân tích kết quả sự lưu hành của RSV.

- Phân lập RSV trên dòng tế bào cảm nhiễm, kiểm tra sự nhân lên của các chủng virus.

- Giải trình tự toàn bộ hệ gen các chủng RSV và một số mẫu bệnh phẩm hô hấp dương tính. Xác định trình tự genome, vị trí và kích thước các gen trên genome. Xác định các đột biến trên các gen.

- Xây dựng cây phát sinh chủng loại của gen *G*. Tính toán khoảng cách di truyền và tốc độ tiến hóa của từng phân nhóm RSV.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Đặc điểm chung của virus hợp bào hô hấp

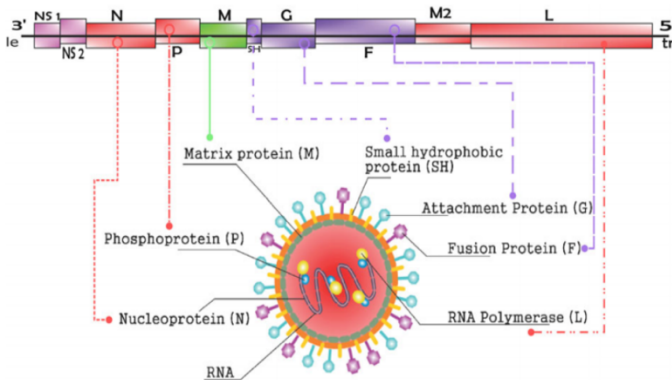
1.1.1. Cấu trúc phân tử, chức năng virus hợp bào hô hấp

Virus hợp bào hô hấp (Respiratory syncytial virus - RSV) thuộc bộ Mononegavirales, thành viên họ Pneumovirinae, chi *Orthopneumovirus*. RSV là virus có vỏ, hình cầu, vật liệu di truyền là một sợi RNA đơn âm, thẳng, không phân đoạn. Khối lượng phân tử 5×10^6 KDa, kích thước trung bình 120-300 nm (Hình 1.2).

Bộ gen của RSV có 10 gen theo thứ tự: đầu 3' *NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L* đầu 5'. Mỗi gen mã hóa một mRNA tương ứng. Mỗi mRNA mã hóa một protein chính duy nhất ngoại trừ M2. Bên cạnh các vùng mã hóa, bộ gen RSV cũng bao gồm một vùng không mã hóa ngắn ở 2 đầu (vùng dẫn dắt - leader region LE và vùng đuôi - trailer region TR) cùng các vùng liên gen (intergenic regions) ngăn cách giữa các gen với nhau.

Bốn protein là thành phần của phức hợp nucleocapsid và polymerase là nucleoprotein (N), phosphoprotein (P), yếu tố quá trình phiên mã (M2-1) và RNA polymerase phụ thuộc RNA (L). Ba glycoprotein xuyên màng là

glycoprotein gắn màng (G), glycoprotein hòa màng (F) và protein nhỏ kỵ nước tạo kênh ion (SH) cùng với protein M tạo thành lớp vỏ ngoài của virus. Ngoài ra còn có các protein phi cấu trúc (NS1, NS2) có vai trò trong việc làm giảm phản ứng miễn dịch của cơ thể vật chủ với RSV và protein điều hòa M2-2.



Hình 1.1. Bộ gen của virus hợp bào hô hấp (RSV) (trên) và cấu trúc virion (dưới).

Hai glycoprotein F và G, là những kháng nguyên bề mặt quan trọng trong việc lây nhiễm và khả năng gây bệnh của virus. Chúng là những kháng nguyên miễn dịch và là đích chính của phản ứng trung hoà. Glycoprotein G có chức năng bám gắn vào màng của tế bào chủ. Protein F có vai trò trong quá trình xâm nhập ban đầu của virus vào tế bào vật chủ bằng cách hoà màng của virus với tế bào chủ và đẩy mạnh sự lan truyền của virus bằng cách ghép chung các tế bào nhiễm với tế bào khỏe mạnh bên cạnh, do đó tạo nên đặc tính hợp bào (syncytia) của RSV.

1.1.2. Cơ chế nhân lên

Có nhiều thụ thể receptor được cho là tham gia vào quá trình RSV xâm nhập vào tế bào vật chủ, bao gồm annexin II, CX3C-chemokine receptor 1 (CX3CR1), thụ thể tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor -

EGF), các lectin phụ thuộc canxi, thụ thể Toll-like 4 (TLR4), phân tử bám dính giữa các tế bào loại 1 (intercellular adhesion molecule 1 - ICAM-1), nucleolin, và heparan sulfate proteoglycan (HSPGs).

Sự sao chép RNA của RSV được thực hiện bằng việc polymerase đổi diện với nucleotide đầu tiên ở đầu 3' của bộ gen. Các polymerase bỏ qua các tín hiệu GS, GE và tạo ra một bản sao mạch đơn dương với đầy đủ chiều dài của bộ gen (antigenome). Một phần của antigenome được bổ sung thêm 1-3 nucleotide ở đầu 3', phần bổ sung này sẽ không được sao chép vào bộ gen RNA. Số lượng antigenome được tạo ra ít nhất gấp 10 lần số lượng genome ban đầu, vì promoter của antigenome hiệu quả hơn so với genome và do sự tổng hợp từ bộ gen bị chia cho việc sao chép RNA và quá trình phiên mã.

1.1.3. Đa dạng di truyền virus hợp bào hô hấp

RSV được phân loại thành hai phân nhóm RSV-A và RSV-B dựa trên sự thay đổi kháng nguyên và dựa trên chủ yếu trình tự gen *G*. Cho đến nay, RSV-A đã được chia thành 12 kiểu gen (genotype) (GA1-GA7, SAA1, NA1-2, ON1-2) và RSV-B được chia thành 32 kiểu gen (GB1-5, BA1-14, SAB1-4, URU1-2, NZB 1-2, BA-CCA, BA-CCB, BA-C, CBB và CB1). Từ các nghiên cứu kéo dài nhiều năm, RSV-A dường như chiếm ưu thế hơn RSV-B trên toàn thế giới. Với RSV-A biểu hiện mức độ biến đổi di truyền protein G cao hơn so với RSV-B.

Kiểu gen RSV-A ON1 được xác định ở Canada vào năm 2010, có sự sao chép 72 nucleotide ở vùng siêu biến đổi (HVR) thứ hai của gen *G*, dẫn đến có thêm bảy vị trí O-glycosyl hóa trong protein. Tương tự, kiểu gen BA lần đầu tiên được xác định ở Buenos Aires vào năm 1999 là kết quả của sự sao chép 60 nucleotide ở vùng HVR của gen *G*. Từ đó các kiểu gen ON1 và BA đã nhanh chóng phổ biến để chiếm ưu thế trên toàn cầu, tiếp tục bị đột biến và thích nghi thêm với từng vụ dịch ở các khu vực địa lý khác nhau.

1.2. Đặc điểm dịch tễ học của virus hợp bào hô hấp

Nhìn chung, tỷ lệ nhập viện do RSV đạt đỉnh khi nhiệt độ hàng năm ở mức thấp nhất và lượng mưa cao nhất. Tuy nhiên, dịch RSV không liên quan chặt chẽ hoặc ít chịu ảnh hưởng của nhiệt độ, độ ẩm và lượng mưa khi các địa điểm nhiệt đới trên toàn thế giới được so sánh trong một mùa RSV nhất định. Hơn nữa, trong một năm cụ thể, thời điểm bùng phát RSV thay đổi đáng kể giữa các khu vực nhiệt đới. Điều này cho thấy rằng mặc dù có dịch RSV ở các vùng nhiệt đới, rất khó để dự đoán mùa bùng phát của RSV ở các khu vực này.

Yếu tố nguy cơ lớn nhất đối với nhiễm RSV là độ tuổi. Ngoài ra còn có các yếu tố sau cũng ảnh hưởng tới việc nhiễm RSV như môi trường sống quá đông người, tiếp xúc với khói (nấu ăn và thuốc lá), trẻ có bệnh mắc kèm, bệnh tim bẩm sinh, mẹ mắc bệnh hen suyễn, tình trạng kinh tế thấp hơn bình quân đầu người của khu vực sống, mắc các bệnh mãn tính, trẻ sinh non, có anh chị em lớn hơn ở cùng hoặc tiêm chủng chậm cho trẻ sơ sinh.

1.3. Các kỹ thuật chẩn đoán virus hợp bào hô hấp trong phòng thí nghiệm

Một loạt các công trình nghiên cứu đã sử dụng phương pháp khuếch đại axit nucleic để phát hiện RSV-A và RSV-B từ bệnh phẩm lâm sàng trong phòng thí nghiệm. Các phương pháp có thể sử dụng các công nghệ dựa trên PCR hoặc các phương pháp khác như RT-LAMP. Trong đó, các phương pháp chẩn đoán dựa trên PCR như RT-PCR, realtime RT-PCR hoặc multiplex RT-PCR được sử dụng ở nhiều phòng xét nghiệm.

Các xét nghiệm miễn dịch của RSV thực hiện chủ yếu nhằm mục đích nghiên cứu và hỗ trợ điều trị, ít được dùng để phát hiện trực tiếp giai đoạn cấp tính của bệnh. Những phương pháp thường được sử dụng như kháng thể huỳnh quang trực tiếp (DFA), kháng thể huỳnh quang gián tiếp (IFA), ELISA...

Một số các dòng tế bào đã được sử dụng trong phân lập RSV như tế

bào Hep-2, SIAT, A549, RD, MDCK, RhMK và các dòng tế bào khác như BEAS-2B. Tuy nhiên hiện nay phương pháp phân lập chỉ dùng nghiên cứu do độ nhạy thấp, tốn kém thời gian và công sức.

Giải trình tự gen, đặc biệt là giải trình tự gen thể hệ mới là một trong những phương pháp hiện đại nhất hiện nay được dùng trong chẩn đoán RSV. Vấn đề lớn nhất trong phương pháp này là trình tự bộ gen RNA của RSV có những đoạn được giải trình tự nhiều hơn hẳn phần còn lại. Ngoài ra, tải lượng virus trong các mẫu bệnh phẩm lâm sàng phải đủ lớn mới thực hiện được phương pháp này.

1.4. Tình hình nghiên cứu virus hợp bào hô hấp hiện nay

1.4.1. Tình hình nghiên cứu virus hợp bào hô hấp trên thế giới

Một trong những vấn đề được nghiên cứu nhiều nhất về RSV hiện nay là gánh nặng bệnh tật do virus này gây ra. Các nghiên cứu về RSV trên trẻ em lại được thực hiện tương đối nhiều, đặc biệt là trẻ dưới 2 tuổi. Hơn 80% trẻ em bị viêm đường hô hấp dưới có liên quan đến RSV.

Tổ chức Y tế thế giới, Trung tâm kiểm soát bệnh tật Châu Âu và Hoa Kỳ đã thực hiện việc giám sát RSV cùng với chương trình giám sát cúm của họ. Điều này đã giúp cho tình hình nghiên cứu RSV tại các nước phát triển nói chung được liên tục, mang tính hệ thống và đánh giá tương đối đầy đủ về tình trạng bệnh. Tuy nhiên lại các quốc gia đang phát triển, việc giám sát và nghiên cứu RSV chỉ được thực hiện mang tính nhỏ lẻ, rời rạc và thiếu hệ thống giám sát liên tục.

Đặc điểm sinh học phân tử, tiến hóa của RSV để phục vụ việc nghiên cứu và phát triển vaccine cũng là một lĩnh vực được nhiều nhà khoa học quan tâm. Các nghiên cứu về sinh học phân tử của RSV tập trung chủ yếu trên gen *G* (nghiên cứu dịch tễ học phân tử, tiến hóa) hoặc gen *F* (nghiên cứu phát triển vaccine, kháng thể đơn dòng). Tuy nhiên, vùng HVR của gen *G* là được nghiên cứu nhiều nhất.

1.4.2. Tình hình nghiên cứu virus hợp bào hô hấp tại Việt Nam

Các nghiên cứu về RSV ở Việt Nam không nhiều, được thực hiện chủ yếu trong giai đoạn 2009-2012 và tập trung ở miền Trung và miền Nam. Các nghiên cứu chủ yếu đưa ra tỷ lệ nhiễm RSV, lưu hành theo mùa và đồng nhiễm/tương tác với các tác nhân hô hấp khác. Cho tới nay, nghiên cứu về đặc điểm sinh học phân tử của RSV có rất ít. Chỉ có vài nghiên cứu tiến hành giải trình tự gen (vùng HVR gen *G*) và được thực hiện từ trước năm 2015. Từ đó tới nay chưa có bất kỳ nghiên cứu nào về RSV ở cấp độ phân tử được thực hiện.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các mẫu bệnh phẩm lâm sàng hô hấp (dịch họng và dịch tỵ hầu) từ bệnh nhân nhi đã được chẩn đoán viêm đường hô hấp cấp tính nặng theo định nghĩa ca bệnh của Tổ chức Y tế thế giới về Viêm đường hô hấp cấp tính nặng (SARI). Việc lựa chọn mẫu và thu thập thông tin dịch tễ theo Hướng dẫn giám sát SARI ban hành theo Quyết định số 1271/QĐ-BYT ngày 03/4/2017.

2.2. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

Từ tháng 1/2017 đến tháng 12/2020 các mẫu bệnh phẩm hô hấp được thu thập từ Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh. Các mẫu này sau đó được vận chuyển tới Phòng thí nghiệm để tiến hành chuẩn đoán RSV và các phân tích khác.

2.3. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện dựa trên kế hoạch và y đức của Quyết định số 4608/QĐ-BYT ngày 11 tháng 10 năm 2017 của Bộ Y tế về việc ban hành “Kế hoạch giám sát trọng điểm hội chứng cúm, nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính nặng và bệnh tay chân miệng tại Việt Nam giai đoạn 2017-2020”.

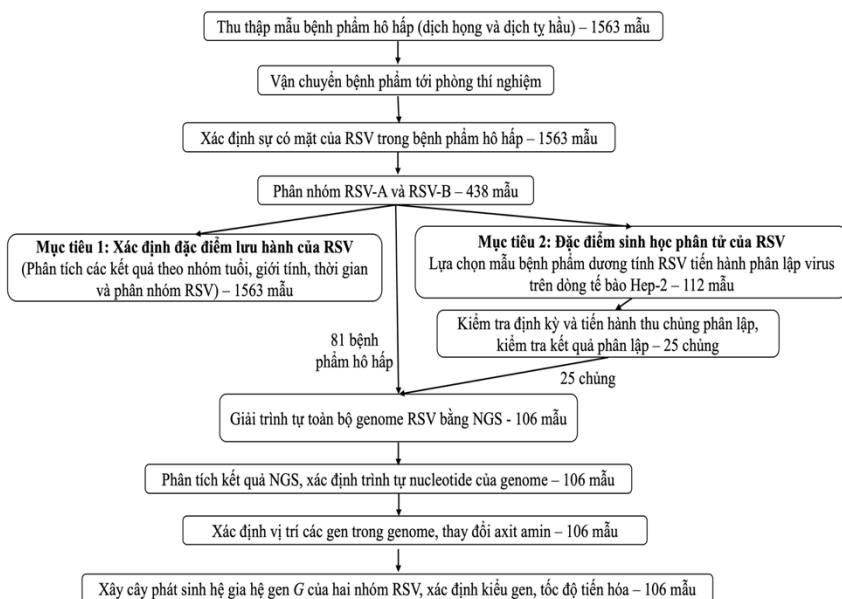
2.4. Hóa chất, trang thiết bị và dụng cụ

Các thiết bị sử dụng chính như: máy ly tâm lạnh, tủ an toàn sinh học cấp II, máy realtime PCR ABI 7500 fast, máy MiniAmp PCR thermal cyclers, kính hiển vi quang học điện tử truyền qua JEM 1010, máy giải trình tự gen Illumina Miseq... Các dụng cụ thí nghiệm được sử dụng bao gồm: tube môi trường vận chuyển, micropipette đơn kênh và đa kênh, ống eppendorf, strip 8 ống PCR, đầu côn có lọc các loại ...

Hóa chất sử dụng gồm: Kit tách chiết QIAamp Viral RNA Mini Kit, sinh phẩm realtime SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR, Kit chuẩn bị thư viện Nextera XT DNA Library Preparation Kit...

2.5. Sơ đồ thí nghiệm

Các bước thực hiện của nghiên cứu được thể hiện như sau:



Hình 2.1. Sơ đồ chi tiết các bước tiến hành nghiên cứu

2.6. Phương pháp nghiên cứu

2.6.1. Thu thập, vận chuyển, bảo quản mẫu bệnh phẩm

Nghiên cứu thu thập 1563 mẫu bệnh phẩm lâm sàng bằng tăm bông ngoáy họng và ngoáy ty hầu. Hàng tuần, các mẫu bệnh phẩm sẽ được vận chuyển đến phòng thí nghiệm và bảo quản tại điều kiện -70°C .

Tiêu chuẩn lựa chọn mẫu: Các mẫu bệnh phẩm hô hấp lấy đúng kỹ thuật có phiếu điều tra ca bệnh, phiếu yêu cầu xét nghiệm và phiếu chấp thuận lấy mẫu của cha mẹ hoặc người giám hộ bệnh nhân nhi. Các mẫu không đảm bảo đủ những tiêu chuẩn này và bị tràn đổ trong quá trình vận chuyển sẽ bị loại trừ khỏi nghiên cứu.

2.6.2. Tách chiết RNA, realtime RT-PCR sàng lọc và phân nhóm RSV

Mẫu bệnh phẩm lâm sàng được tách chiết bằng kit tách chiết QIAampViral RNA Mini Kit (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

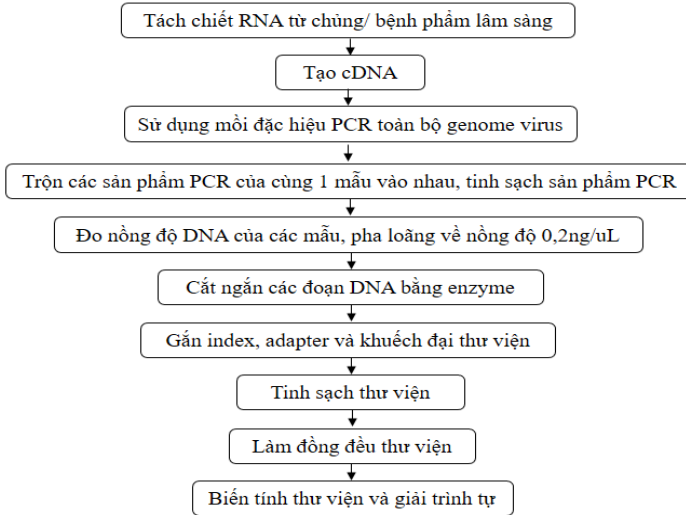
Xác định sự có mặt và phân nhóm virus bằng phương pháp realtime RT-PCR sử dụng sinh phẩm AgPath-ID One-Step RT-PCR kit (Life Technology, Mỹ) và Invitrogen SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR Kit (Invitrogen, Mỹ). Cặp mồi và probe đặc hiệu phát hiện RSV theo quy trình của Trung tâm kiểm soát bệnh tật Hoa Kỳ.

2.6.3. Phân lập và xác định chủng virus hợp bào hô hấp

Những mẫu có kết quả dương tính RSV với giá trị $\text{Ct} < 25$ sẽ được lấy bệnh phẩm lâm sàng để tiến hành phân lập virus trên dòng tế bào Hep-2. Sau 7 ngày, các mẫu sẽ được kiểm tra sự nhân lên của virus và tiến hành cấy chuyển tiếp theo 2 lần nữa. Kiểm tra sự có mặt của virus bằng phương pháp realtime RT-PCR và nhuộm âm bản để soi dưới kính hiển vi điện tử truyền qua.

2.6.4. Giải trình tự hệ gen virus hợp bào hô hấp

Quy trình giải trình tự hệ gen của RSV bằng kỹ thuật NGS được tóm tắt như sau:



Hình 2.2. Quy trình giải trình tự toàn bộ hệ gen RSV bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) trên hệ thống máy Miseq.

2.6.5. Phân tích kết quả giải trình tự, lắp ráp và chú giải hệ gen virus hợp bào hô hấp

Từ các kết quả chạy máy giải trình tự, dữ liệu sẽ được phân tích bằng phần mềm CLC Genomics Workbench 11 để tạo thành trình tự consensus riêng của từng mẫu. Sau đó tiến hành xác định vị trí mở đầu và kết thúc của từng gen, vùng liên gen, vị trí, kích thước các protein và axit amin khác so với chủng tham chiếu để tạo các chú giải. Sử dụng hệ thống RSV Server và GISAID để phân tích và tìm các vị trí axit amin thay đổi.

2.6.6. Xây cây phát sinh chủng loại, phân nhóm di truyền

Tiến hành xây cây phát sinh chủng loại dựa trên vùng gen *G* của hai phân nhóm RSV. Lựa chọn trình tự tham khảo là các trình tự RSV-A và RSV-B trên thế giới và Việt Nam trong các năm gần đây. Sử dụng phần mềm BEAST v2.7.0 và phương pháp Bayesian Markov Chain Monte Carlo (MCMC) để xây cây phát sinh chủng loại theo thời gian và tính toán động lực tiến hóa của từng phân nhóm RSV.

2.6.7. Phân tích số liệu, đăng ký mã định danh

Thông tin người bệnh và các kết quả xét nghiệm được nhập vào hệ thống phần mềm quản lý mẫu bệnh phẩm Filemaker Pro. Phần mềm phân tích các thông số dịch tễ học Stata phiên bản 14.0, Microsoft Excel được sử dụng để phân tích các đặc điểm dịch tễ học và vẽ biểu đồ.

Trình tự toàn bộ hệ gen của 56 mẫu RSV-A và 50 RSV-B gồm cả chủng phân lập và mẫu lâm sàng có mã số từ EPI_ISL_16282709 đến EPI_ISL_16282764 (RSV-A), EPI_ISL_16289246 đến EPI_ISL_16289295 (RSV-B) trên cơ sở dữ liệu của GISAID.

Chương 3. KẾT QUẢ

3.1. Xác định sự lưu hành của virus hợp bào hô hấp trên bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh

3.1.1. Đặc điểm các mẫu bệnh phẩm hô hấp thu thập

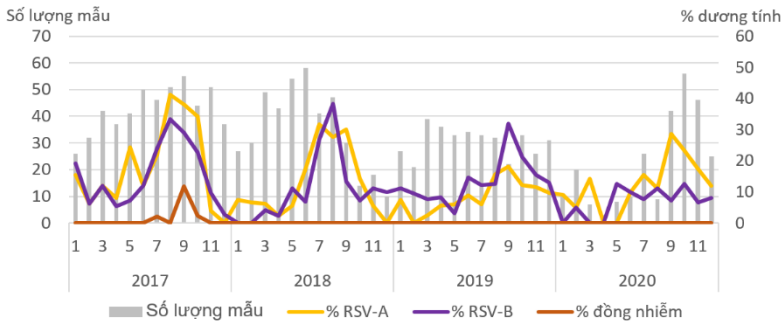
Tổng cộng 1563 mẫu đã được thu thập từ các bệnh nhân nhi bị viêm đường hô hấp cấp tính nặng. Trong đó tại bệnh viện Nhi Trung ương thu được 967 mẫu và tại bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh là 596 mẫu bệnh phẩm. Trong 4 năm nghiên cứu, số mẫu thu thập giảm dần theo từng năm. Kết quả phân bố giới tính của các mẫu trong nghiên cứu là nam nhiều hơn nữ 1,5 lần (929 nam so với 634 nữ).

3.1.2. Sự lưu hành của virus hợp bào hô hấp

Tỷ lệ dương tính chung của cả nghiên cứu là 28,02%. Tỷ lệ dương tính tại bệnh viện Nhi Trung ương là 33,3% và bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh là 19,46% ($p < 0,05$).

Tỷ lệ dương tính RSV là khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các năm thu mẫu và theo giới tính. Nhóm dưới 1 tuổi không chỉ có số lượng mẫu thu thập lớn mà tỷ lệ dương tính với RSV của nhóm này trong 4 năm nghiên cứu cũng cao hơn các nhóm khác (43,84%, $p < 0,05$).

Dịch do virus hợp bào hô hấp mang tính chu kỳ. Số lượng các trường hợp dương tính RSV được phát hiện gần như quanh năm nhưng tỷ lệ dương tính tăng lên từ tháng 6-11. RSV tạo đỉnh dịch hàng năm thường vào tháng 8 hoặc tháng 9 (Hình 3.5). Năm 2017 và 2018, hai nhóm RSV-A và RSV-B cùng lưu hành và có tỷ lệ dương tính gần như tương đương nhau. Đặc biệt năm 2020 tỷ lệ RSV-A/RSV-B là 2,14 lần. Ngược lại, năm 2019 là năm duy nhất tỷ lệ RSV-B cao hơn RSV-A với 60,3% so với 39,7%.

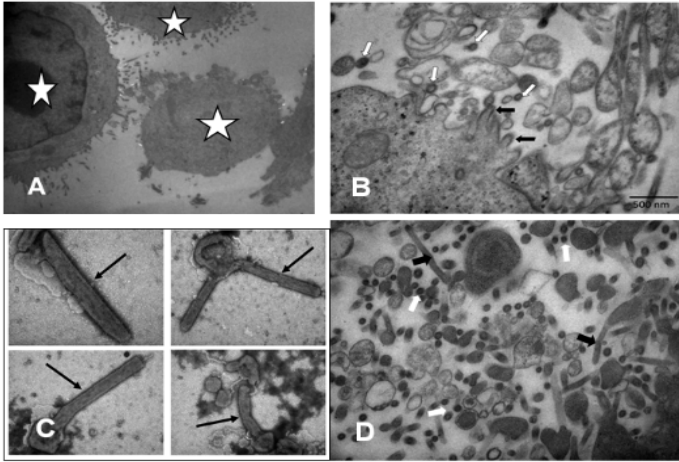


Hình 3.2. Sự lưu hành các phân nhóm RSV theo thời gian.

3.2. Đặc điểm sinh học phần tử của virus hợp bào hô hấp trên bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh

3.2.1. Kết quả phân lập virus hợp bào hô hấp

Tổng cộng có 25 chủng RSV được khuếch đại thành công (Hình 3.7). Tỷ lệ phân lập chung của cả nghiên cứu là 22,32% (25/112). Trong số 25 chủng phân lập được, có 18 chủng (72%) là RSV-A và 7 chủng (28%) RSV-B, có 22 chủng phân lập (88%) thu mẫu từ bệnh viện Nhi Trung ương và 3 chủng phân lập (12%) thu mẫu từ bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh.



Hình 3.7. Hình ảnh virus hợp bào hô hấp (RSV) trong dịch nổi phân lập virus trên dòng tế bào Hep-2 chụp dưới kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) với độ phóng đại từ 1.000-20.000 lần.

(A). Hình ảnh virus nhân lên trong tế bào, hòa màng các tế bào cạnh nhau tạo thành các dạng hợp bào (hình ngôi sao màu trắng). (B). Hình ảnh RSV nảy chồi ra khỏi màng tế bào Hep-2 và tạo thành các cấu trúc dạng thuôn dài (mũi tên màu đen). Các hạt virus được giải phóng hoàn toàn khỏi màng tế bào Hep-2 có cấu trúc hình cầu điển hình trong dịch nổi môi trường phân lập virus (mũi tên màu trắng). (C). Các hình dạng khác nhau của RSV sau khi nảy chồi từ màng tế bào Hep-2 khi được quan sát dưới kính hiển vi điện tử truyền qua. (D). Các hạt virus RSV được phân cắt hoàn toàn (mũi tên màu trắng) từ các cấu trúc nảy chồi ban đầu (mũi tên màu đen) và trở nên chiếm đa số trong môi trường dịch nuôi cấy virus.

3.2.2. *Kết quả giải trình tự gen virus hợp bào hô hấp*

Tổng cộng có 56 mẫu RSV-A và 50 mẫu RSV-B (chúng và bệnh phẩm lâm sàng) được tiến hành giải trình tự toàn bộ hệ gen bằng kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới. Trong số 56 mẫu RSV-A có 18 chủng phân lập và 38 mẫu

bệnh phẩm lâm sàng. RSV-B gồm 7 chủng phân lập và 43 bệnh phẩm lâm sàng được tiến hành giải trình tự gen NGS.

Dữ liệu giải trình tự toàn bộ hệ gen các mẫu RSV thu được sau 4 lần thực hiện trên hệ thống máy Illumina Miseq. Sau khi phân tích, mỗi mẫu đều có số lượng các đoạn đọc (reads) đủ lớn để phân tích (trên 500.000 reads/mẫu). Trung bình độ sâu bao phủ của các reads qua mỗi nucleotide đạt từ 2000X-3450X đối với RSV-A và từ 2330X-4010X đối với RSV-B. Tỷ lệ bao phủ >1000X của các mẫu đều đạt trên 95%. Tất cả các mẫu đều bao phủ toàn bộ chiều dài trình tự tham chiếu và không có khoảng trống nào trong hệ gen.

3.2.3. *Đặc điểm sinh học phân tử các trình tự thu được*

Tổng thể chiều dài hệ gen từ vị trí nucleotide đầu tiên của gen NS1 tới nucleotide cuối cùng của gen L của RSV-A là 14.885-14.889 nucleotide và của RSV-B là 14.958-14.967 nucleotide.

Dù có kích thước hệ gen khác nhau trong cùng một phân nhóm nhưng các trình tự đều có chiều dài từng gen giống nhau (trừ gen *G*). Trong nhóm RSV-A, gen *G* có hai chiều dài là 894 và 897 nucleotide, tương ứng với 298 axit amin và 299 axit amin. Trong nhóm RSV-B, gen *G* có hai chiều dài là 933 và 954 nucleotide, tương ứng với 311 axit amin và 318 axit amin. Các gen *SH*, *M2-1* và *L* của RSV-B cũng dài hơn RSV-A 3 nucleotide. Những gen còn lại ở cả hai phân nhóm có chiều dài giống nhau.

Bảng 3.9 thể hiện kết quả so sánh các trình tự nghiên cứu so với chủng tham chiếu tương ứng. Các trình tự trong nghiên cứu có độ bao phủ axit amin 100% các gen của trình tự tham chiếu (trừ gen *G* và gen *F*).

Bảng 3.9. Các đột biến axit amin và vị trí tương ứng trong hệ gen RSV.

Gen mã hóa protein	Độ tương đồng (%)	Tỷ lệ axit amin được so	Số lượng biến thể axit amin	Danh sách các đột biến axit amin hay gặp
--------------------	-------------------	-------------------------	-----------------------------	--

		sánh (%)		
RSV-A				
Trình tự tham chiếu EPI_ISL_412866-hRSV/A/England/397/2017				
NS1	99,3-100	100	0-1	
NS2	99,2-100	100	0-1	
N	99,7	100	1	V352A
P	97,4-98,8	100	2-5	L55P
M	99,6-100	100	0-1	
SH	98,5-100	100	0-1	
G	94,9-97,6	92,5	31-37	Q261del, K262del, E263del, T264del, I265del, H266del, S267del, T268del, T269del, S270del, E271del, G272del, Y273del, P274del, S275del, P276del, S277del, Q278del, V279del, Y280del, T281del, T282del, S283del, D284del
F	99,7-100	100	0-2	
M2-1	99,0-99,5	100	1-2	S176P
M2-2	96,6-98,9	100	1-3	Y24C, S44N
L	99,6-99,7	99,8-100	6-11	P171L, R256K, L1438Q, N1723S, G1731D
RSV-B				
Trình tự tham chiếu RSV B là EPI_ISL_1653999-hRSV/B/Australia/VIC-RCH056/2019				
NS1	99,3-100	100	0-1	
NS2	99,2-100	100	0-1	
N	99,2-99,7	100	1-3	V97I
P	99,6-100	100	0-2	
M	100	100	0	
SH	98,5-100	100	0-1	D64N
G	95,8-98,8	99,7-100	1-13	A74V
F	99,5-100	100	0-3	
M2-1	99,5-100	100	0-1	
M2-2	97,8-99,8	100	1-2	I2T
L	99,6-99,9	99,6-100	3-8	T1987I

3.2.4. Cây phát sinh chủng loại gen G và sự khác biệt axit amin của RSV-A

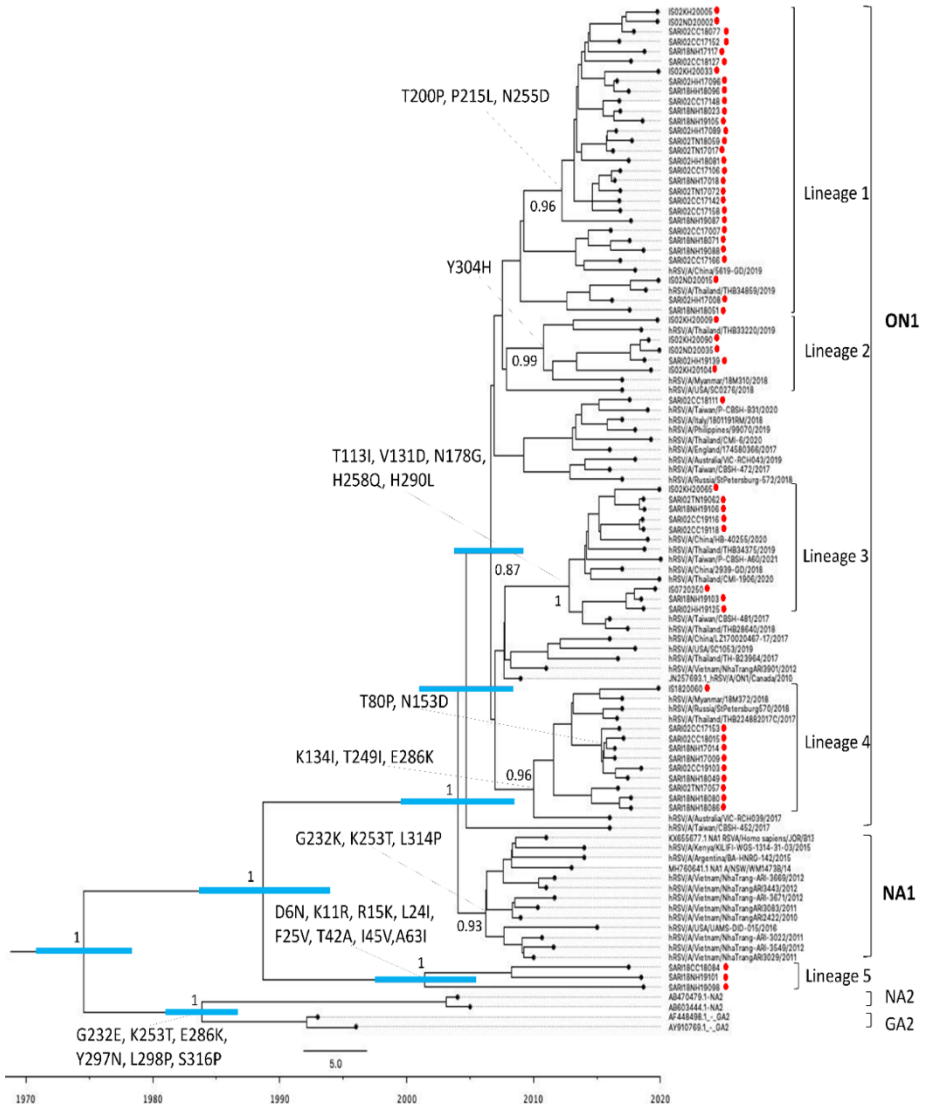
Trong số 56 chủng phân lập/bệnh phẩm lâm sàng của RSV-A thu thập tại miền Bắc Việt Nam giai đoạn 2017-2020 có 53 trình tự thuộc kiểu gen RSV-A ON1 và 3 trình tự thuộc kiểu gen RSV-A non-ON1 (Hình 3.12). Trong đó 53 trình tự thuộc kiểu gen RSV-A ON1 được chia thành 4 lineage (lineage 1-4).

Lineage 1 gồm 29 trình tự, trong đó 22 trình tự có chung 3 đột biến đặc trưng T200P, P215L, N255D. Lineage 2 gồm 5 trình tự, phân tách với các trình tự khác trên cây phát sinh chủng loại bằng đột biến Y304H. Sự thay đổi nucleotide làm bộ ba kết thúc chuyển thành Glycin (G) (stop322G) rồi sau đó mới xuất hiện mã kết thúc làm cho các mẫu trong lineage 2 không chỉ thêm 1 axit amin ở C terminal của gen *G* so với trình tự so sánh mà còn dài hơn 1 axit amin so với 51 trình tự còn lại của RSV-A.

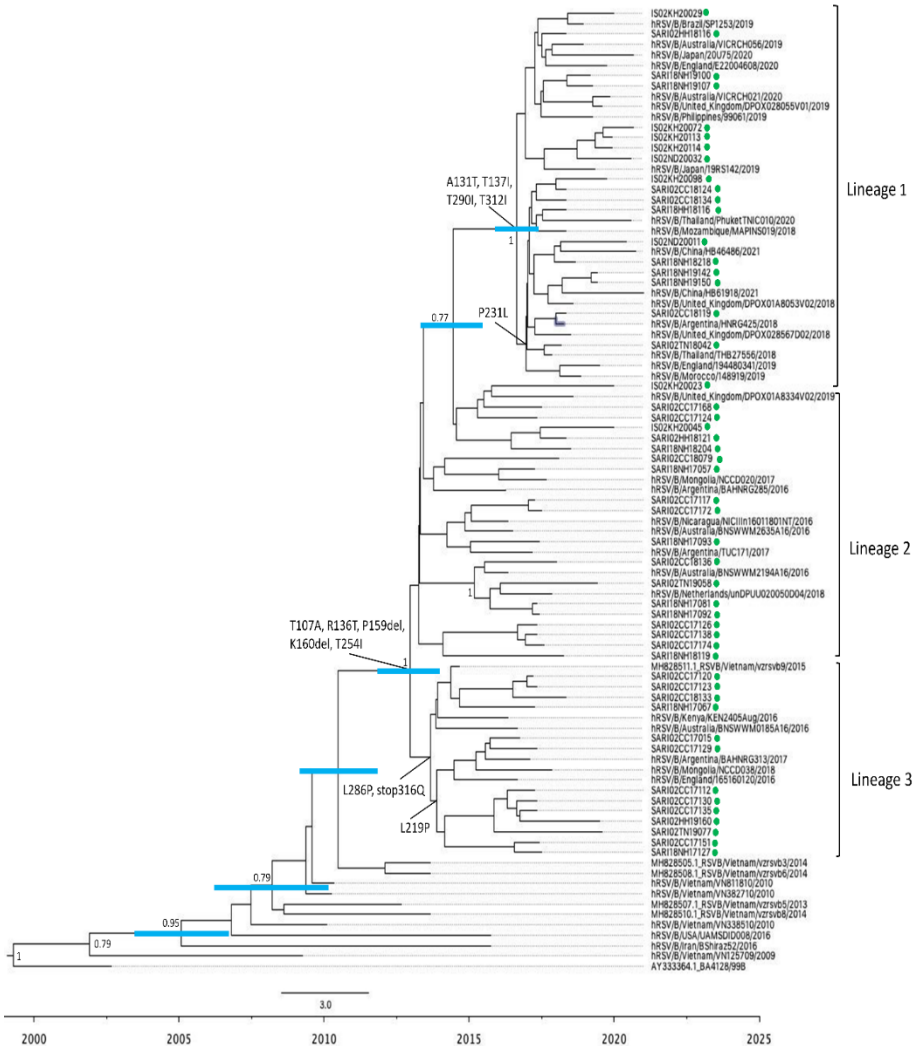
Lineage 3 gồm 9 trình tự và có các đột biến điển hình để phân biệt lineage này là T113I, V131D, N178G, H25Q và H290L. Lineage 4 gồm 10 trình tự với các thay đổi axit amin đặc trưng là K134I, E286K.

Lineage 5 gồm 3 trình tự thuộc kiểu gen non-ON1 và lineage này tách biệt so với kiểu gen ON1, NA1, NA2 hay GA2 của RSV-A bằng 8 đột biến D6N, K11R, R15K, L24I, F25V, T42A, I45V, A63I.

Dù thuộc kiểu gen RSV-A ON1 hay RSV-A non-ON1 thì tất cả các mẫu RSV-A thu thập ở miền Bắc Việt Nam năm 2017-2020 đều không có 72 nucleotide lặp lại (tương ứng với 24 axit amin) trên vùng HVR của gen *G*.



Hình 3.12. Cây phát sinh chủng loại gen G phân nhóm RSV-A của các mẫu thu thập tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2017-2020.



Hình 3.13. Cây phát sinh chủng loại kiểu gen BA9 gen G phân nhóm RSV-B của các mẫu thu thập tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2017-2020.

3.2.5. Cây phát sinh chủng loại gen G và sự khác biệt axit amin của RSV-B

Tất cả 50 chủng/mẫu bệnh phẩm lâm sàng RSV-B được giải trình tự gen NGS trong nghiên cứu được thu thập tại miền Bắc Việt Nam giai đoạn 2017-2020 đều thuộc kiểu gen RSV-B BA9 (Hình 3.13). Các trình tự này được chia thành 3 lineage: lineage 1- 3.

Lineage 1 gồm 18 trình tự và có 4 thay đổi axit amin đặc trưng là A131T, T137I, T290I, T312I. Lineage 2 gồm 19 trình tự thu thập chủ yếu năm 2017-2018 và không có thay đổi axit amin đặc trưng cho lineage này. Các mẫu thuộc lineage 1 và lineage 2 có chiều dài 312 axit amin, ngắn hơn so với trình tự chủng chuẩn BA 3 axit amin.

Lineage 3 gồm 13 trình tự và có hai đột biến axit amin đặc trưng cho lineage này là L286P và Stop316Q. Các mẫu thuộc lineage này có chiều dài 319 axit amin thay vì 315 axit amin như trình tự chủng chuẩn BA do xuất hiện đột biến từ stop codon thành Glutamin (stop316Q).

3.2.6. Động lực tiến hóa

Khoảng cách di truyền giữa 4 lineage từ lineage 1 đến lineage 4 giao động từ 0,0185-0,0315. Trong khi đó, lineage 5 lại có khác biệt di truyền lớn hơn hẳn so với 4 lineage còn lại với p-distance = 0,0761-0,0876. Tại điểm node của lineage 5 trên cây phát sinh chủng loại, giá trị xác suất hậu nghiệm bằng 1 chứng tỏ sự khác biệt giữa lineage này với các kiểu gen khác trên cây phát sinh chủng loại.

Tốc độ tiến hóa tổng thể của RSV-A gen *G* ở miền Bắc Việt Nam giai đoạn 2017-2020 theo ước tính là $1,32 \times 10^{-3}$ thay thế/vị trí/năm [95% HPD: $8,81 \times 10^{-4}$ - $1,74 \times 10^{-3}$]. Cây phát sinh chủng loại MCC gen *G* phân nhóm RSV-A được chia tỷ lệ theo thời gian đã chứng minh rằng thời gian xuất hiện tổ tiên chung gần nhất trên cây (tMRCA) được ước tính là vào khoảng năm 2007 (95% HPD: 2004-2009) đối với kiểu gen ON1. Còn đối với kiểu gen non-ON1 (lineage 5), thời gian xuất hiện tổ tiên chung gần nhất trên cây ước tính vào năm 2002 (95% HPD: 1998-2006).

Khác biệt tiến hóa của các mẫu trong nghiên cứu với các mẫu tham khảo trên thế giới cùng thuộc một kiểu gen BA9 là không cao, $p\text{-distance} = 0,0236$.

Theo tính toán về tốc độ tiến hóa phân tử theo thời gian của gen G phân nhóm RSV-B các trình tự của Việt Nam giai đoạn 2017-2020 là $8,29 \times 10^{-4}$ thay thế/vị trí/năm [95% HPD: $1,96 \times 10^{-4} - 1,47 \times 10^{-3}$]. Dựa vào ước tính trên cây phát sinh chủng loại, thời điểm xuất hiện tổ tiên chung gần nhất của các trình tự RSV-B Việt Nam kiểu gen BA9 trong nghiên cứu là khoảng năm 2013 (95%HPD: 2012-2014).

Chương 4. BÀN LUẬN

4.1. Sự lưu hành của virus hợp bào hô hấp trên bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh

Tỷ lệ dương tính RSV trong nghiên cứu này là tương tự như các nghiên cứu ở Philippin (28,1%), Myanmar (24,5%), Trung Quốc (23,7%). Tuy nhiên, tỷ lệ này lại cao hơn so với các báo cáo tại Thái Lan (13,2%), Colombia (12,02%), Mỹ (7,7%) và thấp hơn so với Lào (41%), Brazil (56%), Châu Âu (46%). Điều này cho thấy, không có sự tương đồng về tỷ lệ nhiễm RSV tại các quốc gia trong cùng thời điểm. Dù có cùng vị trí địa lý và điều kiện khí hậu nhưng tỷ lệ dương tính RSV lại mang tính cục bộ, các quốc gia khác nhau có tỷ lệ nhiễm RSV khác nhau

Nhìn chung, tỷ lệ dương tính với RSV phụ thuộc chủ yếu vào độ tuổi. Phân tích chi tiết tỷ lệ nhiễm RSV theo các nhóm tuổi trong 4 năm nghiên cứu, nhóm dưới 1 tuổi không chỉ có số lượng mẫu thu thập lớn mà tỷ lệ dương tính với RSV của nhóm này cũng cao hơn hẳn các nhóm khác.

4.2. Đặc điểm sinh học phân tử của virus hợp bào hô hấp trên bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh

4.2.1. Phân lập virus hợp bào hô hấp

Việc sử dụng tế bào Hep-2 để phân lập là phù hợp với thực tế nghiên cứu do có hiệu quả phân lập cao. Tuy nhiên, rất khó để đưa ra tỷ lệ phân lập thành công chung RSV của tất cả các nghiên cứu. Nếu không lựa chọn mẫu mà tất cả các mẫu dương tính realtime RT-PCR với RSV đều được phân lập, không quan tâm tới tải lượng virus cao hay thấp và lựa chọn dòng tế bào khác Hep-2 thì tỷ lệ phân lập thành công sẽ giảm xuống rất nhiều.

Một vấn đề khác là tỷ lệ phân lập thành công giữa hai phân nhóm RSV có sự khác biệt đáng kể. Số lượng mẫu lâm sàng của hai phân nhóm thực hiện phân lập gần như tương đương nhau nhưng số chủng thu được lại rất khác nhau. Sự khác nhau về tỷ lệ phân lập thành công này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đã cho thấy phân lập RSV-A có hiệu suất cao hơn RSV-B.

4.2.2. Giải trình hệ gen thế hệ mới

Hiện nay xu hướng sử dụng các mẫu lâm sàng để xác định trình tự bộ gen đang ngày càng phát triển và dần thay thế phương pháp phân lập. Những đột biến/thay đổi về nucleotide trên hệ gen virus có thể xảy ra trong quá trình phân lập, do đó, giải trình tự gen trực tiếp từ bệnh phẩm giúp phân tích chính xác hệ gen hơn.

Trong phạm vi phát triển vaccine phòng RSV, các chủng phân lập không phải lựa chọn hàng đầu của các nhà nghiên cứu. Từ thực tế trên, cùng với kết quả phân lập với tỷ lệ không cao, sự không tương xứng giữa các chủng RSV theo phân nhóm, địa điểm, độ tuổi nghiên cứu, sự lựa chọn kết hợp giải trình tự cả chủng virus phân lập và mẫu bệnh phẩm lâm sàng là phù hợp để phục vụ cho các nghiên cứu sinh học phân tử.

Lần đầu tiên trình tự gen virus RSV tại Việt Nam thu thập sau năm 2015 được giải trình tự và công bố quốc tế. Dù có vị trí mở đầu và kết thúc không giống nhau nhưng chiều dài các gen *NS1*, *NS2*, *N*, *P*, *M*, *F* và *M2-2* của hai phân nhóm đều giống nhau. Gen *SH*, *M2-1* và *L* của phân nhóm RSV-B nhiều

hơn 3 nucleotide so với RSV-A. Đây là xu hướng bình thường do RSV-A và RSV-B thuộc các kiểu gen khác nhau.

Sự khác nhau rõ rệt giữa hai phân nhóm được thấy trên gen *G*. RSV-A có gen *G* dài 894 hoặc 897 nucleotide trong khi RSV-B có chiều dài là 933 hoặc 954 nucleotide. Lý giải cho sự khác biệt này là do RSV-A trong nghiên cứu thuộc kiểu gen ON1 và non-ON1 đều không có 72 nucleotide lặp lại ở vùng HVR. Ngược lại, RSV-B thuộc kiểu gen BA9, có 60 nucleotide lặp lại ở vùng HVR.

4.2.3. Đặc điểm sinh học phân tử và tiến hóa của virus hợp bào hô hấp

Lineage 5 là lineage duy nhất không thuộc kiểu gen ON1 mà thuộc kiểu gen non-ON1 và có 8 khác biệt axit amin so với trình tự chủng chuẩn kiểu gen ON1. Tuy nhiên các thay đổi này thuộc N-terminal và đều nằm trên vị trí xuyên màng virus mà không phải thuộc vùng ectodomain ngoại bào. Do đó không ảnh hưởng tới chức năng lây nhiễm của virus. Tuy nhiên, nếu chỉ phân tích vùng ectodomain hoặc HVR của gen *G* như đại đa số nghiên cứu đang thực hiện thì 3 trình tự của lineage này sẽ tương tự như các trình tự khác của Việt Nam chỉ có khác biệt đáng kể ở 72 nucleotide lặp lại. Vì vậy 3 trình tự này sẽ được phân loại trên cây phát sinh chủng loại là kiểu gen ON1. Điều này cho thấy sự khác biệt khi xem xét đặc tính di truyền của RSV trên một phần gen *G* và trên toàn bộ chiều dài gen *G* là rất khác nhau.

Khoảng cách di truyền giữa lineage 5 và các lineage/nhóm còn lại là đủ lớn để xác định là một kiểu gen mới dựa trên giá trị trung bình khoảng cách di truyền và giá trị xác suất hậu nghiệm. Điều này chứng tỏ sự khác biệt di truyền tương đối lớn và có ý nghĩa giữa 3 mẫu của Việt Nam thuộc lineage 5 so với các kiểu gen còn lại trên cây phát sinh chủng loại.

Khác với RSV-A, các trình tự thuộc RSV-B phân tách thành ít nhóm hơn, số lượng các biến đổi axit amin đặc trưng cho từng lineage cũng ít hơn.

Điều này cho thấy tính ổn định về mặt di truyền của RSV-B là tương đối tốt hơn so với RSV-A

Thông thường tại các quốc gia, tốc độ tiến hóa của RSV-A và RSV-B thường tương đương nhau hoặc lệch nhau không nhiều. Tuy nhiên các trình tự RSV thu thập tại miền Bắc Việt Nam có tốc độ tiến hóa của gen *G* của RSV-A nhanh hơn của RSV-B 1,6 lần. Đa số các nghiên cứu đều đưa ra tốc độ tiến hóa của RSV-B nhanh hơn ở Việt Nam và tương đương với RSV-A trong cùng nghiên cứu. Như vậy, tốc độ tiến hóa phân tử của gen *G* RSV-B kiểu gen BA9 ở Việt Nam nhìn chung là chậm hơn so với các nước xung quanh.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Từ các kết quả của nghiên cứu có thể đưa ra một số kết luận sau:

Các kết quả của mục tiêu 1:

1. Đã có bộ dữ liệu về tỷ lệ dương tính RSV trên bệnh nhân nhi viêm đường hô hấp cấp tính nặng tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2017-2020 là 28,02%. Nhóm dưới 1 tuổi có nguy cơ nhiễm RSV cao hơn các nhóm tuổi khác. Nam giới có xu hướng nhiễm RSV cao hơn nữ giới trong thời gian nghiên cứu.

2. Đã xác định được sự lưu hành của hai phân nhóm RSV-A và RSV-B tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh theo thời gian. RSV được phát hiện gần như quanh năm, mùa dịch thường từ tháng 6 đến tháng 11, đỉnh dịch vào tháng 8 - tháng 9 hàng năm. Năm 2020 là năm duy nhất chỉ có RSV-A tạo đỉnh dịch còn RSV-B lưu hành rải rác trong năm.

Các kết quả của mục tiêu 2:

3. Đã phân lập được 25 chủng (18 chủng RSV-A và 7 chủng RSV-B) tại hai điểm nghiên cứu. Giải trình tự toàn bộ hệ gen 25 chủng và 81 mẫu bệnh phẩm hô hấp thuộc hai phân nhóm (56 trình tự RSV-A và 50 trình tự RSV-B).

4. Đã nghiên cứu và xác định được toàn bộ trình tự hệ gen RSV của các chủng phân lập và một số mẫu đại diện, từ đó tìm ra đặc điểm sinh học phân tử của hệ gen RSV trong nghiên cứu. Các trình tự RSV-A thuộc kiểu gen ON1 và kiểu gen non-ON1. Các trình tự RSV-B thuộc kiểu gen BA9. Tất cả các trình tự RSV-A trong nghiên cứu đều không có 72 nucleotide lặp lại trên vùng siêu biến đổi thứ 2 trên gen *G*.

5. Đã đánh giá được tốc độ tiến hoá phân tử gen *G* của RSV tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2017-2020 là $1,32 \times 10^{-3}$ thay thế/vị trí/năm (RSV-A) và $8,29 \times 10^{-4}$ thay thế/vị trí/năm (RSV-B). Tốc độ tiến hoá của RSV-A là tương tự như nhiều quốc gia. Tốc độ tiến hoá của RSV-B là chậm hơn so với các quốc gia khác.

Tính mới của đề tài

- Đã xác định được đặc điểm lưu hành, tính mùa vụ, phân nhóm lưu hành của các chủng RSV tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2017-2020.

- Đã nghiên cứu và xác định được toàn bộ trình tự hệ gen RSV của một số mẫu đại diện và từ đó tìm ra các đặc điểm sinh học phân tử của hệ gen ở các chủng nghiên cứu. Đã ước tính được tốc độ tiến hoá phân tử của gen *G* của RSV tại Bệnh viện Nhi Trung ương và Bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh giai đoạn 2017-2020.

KIẾN NGHỊ

Cần tiếp tục phân tích các biến đổi di truyền và tiến hoá trên gen *F* và *SH* của các chủng và bệnh phẩm hô hấp đã được giải trình tự gen trong nghiên cứu này. Các kết quả sẽ phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu phát triển vaccine và kháng thể đơn dòng của RSV trong tương lai.

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Ung Thi Hong Trang**, Hoang Vu Mai Phuong, Nguyen Huy Hoang, Nguyen Vu Son, Le Thi Thanh, Nguyen Le Khanh Hang, Vuong Duc Cuong, Tran Thi Thu Huong, Nguyen Thi Hien, Nguyen Phuong Anh, Le Quynh Mai, “Circulation of human respiratory syncytial virus and new ON1 genotype in northern Viet Nam, 2017–2020”, *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, vol. 14, no. 4, pp. 1–9, 2023.
2. **Ung Thi Hong Trang**, Hoang Vu Mai Phuong, Nguyen Huy Hoang, Le Thi Thanh, Nguyen Vu Son, Nguyen Co Thach, Vuong Duc Cuong, Tran Thi Thu Huong, Pham Thi Hien, Nguyen Phuong Anh, Nguyen Thi Sang, Nguyen Le Khanh Hang, Le Quynh Mai, “Molecular characteristics of respiratory syncytial virus (RSV) isolated in the North Vietnam, 2017-2018”, *Academia Journal of Biology*, vol. 44, no. 4, pp. 101–100, 2022.
3. **Ứng Thị Hồng Trang**, Hoàng Vũ Mai Phương, Nguyễn Huy Hoàng, “Dịch tễ học phân tử của vi rút hợp bào hô hấp”, *Tạp chí Y học Dự phòng*, Tập 32, số 2, trang 20–31, 2022.
4. Nguyễn Thị Sang, Nguyễn Vũ Sơn, **Ứng Thị Hồng Trang**, Vương Đức Cường, Phạm Thị Hiền, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Phương Anh, Lê Thị Thanh, Nguyễn Cơ Thạch, Hoàng Vũ Mai Phương, Lê Thị Quỳnh Mai, Nguyễn Lê Khánh Hằng, “Tác nhân vi rút gây viêm đường hô hấp cấp tính nặng (SARI) trên các bệnh nhân nội trú tại bệnh viện Đa khoa tỉnh Quảng Ninh, 2018-2019”, *Tạp chí Y học Dự phòng*, Tập 32, số 2, trang 129-138, 2022.
5. **Thi Hong Trang Ung**, Vu Mai Phuong Hoang, Huy Hoang Nguyen, Le Khanh Hang Nguyen, Phuong Anh Nguyen, Quynh Mai Le, “Molecular epidemiology of human Respiratory Syncytial virus in Viet Nam National Children’s Hospital”, *International Conference on Health Science and Technology (ICHST-2023)*, Viet Nam, pp. 1-5, 2024.