

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO - BỘ Y TẾ  
VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG**



**NGUYỄN NHẬT CẨM**

**DỊCH TỄ HỌC PHÂN TỬ KHÁNG HOÁ CHẤT DIỆT CÔN TRÙNG  
CỦA MUỖI *Aedes Aegypti* TRUYỀN BỆNH SỐT XUẤT HUYẾT  
Ở MỘT SỐ TỈNH, THÀNH PHỐ VIỆT NAM, 2006 - 2009**

**CHUYÊN NGÀNH : DỊCH TỄ HỌC**

**MÃ SỐ : 62 72 70 01**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI - 2010**

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

*Hướng dẫn khoa học:*

- 1. PGS.TS VŨ SINH NAM**
- 2. PGS.TS NGUYỄN THUYẾT HOA**

**Phản biện 1: PGS.TS Nguyễn Đức Mạnh**

**Phản biện 2: PGS.TS Nông Văn Hải**

**Phản biện 3: GS.TSKH Nguyễn Văn Hiếu**

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Nhà nước họp tại:  
Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương, vào ngày 06 tháng 7 năm 2010

**Có thể tìm luận án tại:**

- Thư viện Quốc gia
- Thư viện Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương

## DANH SÁCH CÁC BÀI BÁO LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. Nguyễn Nhật Cảm, Đặng Thị Kim Hạnh, Vũ Sinh Nam, Nguyễn Thị Yên, Trịnh Xuân Tùng (2009), “Đánh giá độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* tại phường Thịnh Liệt và xã Trung Văn, Hà Nội, 2007”, *Tạp chí Y học thực hành*, số 1 (641+642), tr. 83-86.
2. Nguyễn Nhật Cảm, Vũ Sinh Nam, Nguyễn Thuý Hoa, Nguyễn Thị Yên, Phan Trọng Lân, Mary Chamber (2009), “Đánh giá độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* truyền bệnh sốt Dengue/sốt xuất huyết Dengue tại một số tỉnh miền Trung và Tây Nguyên Việt Nam, 2007-2008”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập XIX, số 7 (106), tr. 102-108.
3. Nguyễn Nhật Cảm, Vũ Sinh Nam, Nguyễn Thuý Hoa, Nguyễn Thị Yên, Nguyễn Thị Lan Anh, Phan Trọng Lân, Hilary Ranson, Emma Warr (2009), “Khảo sát đột biến gen kháng hoá chất diệt côn trùng *kdr Val1016Gly* ở một số quần thể muỗi *Ae. aegypti* bằng kỹ thuật HOLA”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập XIX, số 7 (106), tr. 109-115.



## DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

<i>Ae. aegypti</i>	: <i>Aedes aegypti</i>
<i>Ae. albopictus</i>	: <i>Aedes albopictus</i>
CDC	: Center for Disease Control and Prevention (Trung tâm Kiểm Soát Bệnh tật Hoa Kỳ)
cs	: Cộng sự
DDT	: Dichlorodiphenyltrichloroethane (Hoá chất diệt côn trùng thuộc nhóm Clo hữu cơ)
DNA	: Deoxyribonucleic Acid (Axít nhân)
GIS	: Geographic Information System (Hệ thống thông tin địa lý)
GPS	: Global Positioning System (Hệ thống định vị toàn cầu)
GST's	: Enzym Glutathione S-Transferases
HOLA	: Hot Oligonucleotide Ligation Assay (Phản ứng gắn chuỗi axit nucleic nóng )
<i>kdr</i>	: Knock Down Resistance (Kháng ngã gục)
P450's	: Cytochrome P450 monooxygenase
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Phản ứng khuếch đại gen)
SD	: Sốt dengue
SXHD	: Sốt xuất huyết dengue
WHO	: World Health Organization (Tổ chức Y tế Thế giới)

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt dengue/sốt xuất huyết dengue là bệnh nhiễm vi rút dengue cấp tính, gây dịch do muỗi truyền. Hiện nay bệnh trở thành vấn đề toàn cầu. Ở Việt Nam bệnh đã và đang trở thành vấn đề y tế nghiêm trọng. Những năm gần đây số ca mắc và chết do sốt dengue/sốt xuất huyết dengue có xu hướng tăng lên và là một trong 10 bệnh truyền nhiễm có số mắc và chết cao nhất.

Chưa có vắc xin, không có thuốc điều trị đặc hiệu, để phòng chống sốt dengue/sốt xuất huyết dengue diệt muỗi truyền bệnh vẫn là biện pháp chủ yếu. Có nhiều biện pháp phòng chống véc tơ nhưng chưa có biện pháp nào hiệu quả hơn biện pháp phun không gian hoá chất diệt côn trùng để dập dịch.

Tuy nhiên, do sử dụng hoá chất diệt côn trùng thiếu sự kiểm soát dẫn đến muỗi truyền bệnh kháng với hầu hết các loại hoá chất diệt ở mức độ rộng khắp với chiều hướng ngày càng gia tăng. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (2006), hiện nay có hơn 500 loài côn trùng có vai trò truyền bệnh đã kháng với hoá chất diệt, trong đó có hơn 50% số loài là véc tơ truyền bệnh sốt rét, sốt dengue/sốt xuất huyết dengue, giun chỉ,.....

Những nghiên cứu gần đây ở Việt Nam cho thấy, muỗi *Aedes aegypti* véc tơ chính truyền bệnh sốt dengue/sốt xuất huyết dengue ở Việt Nam đã kháng với nhiều loại hoá chất diệt ở nhiều vùng khác nhau của cả nước và có chiều hướng ngày càng gia tăng. Để sử dụng hoá chất diệt trong phòng chống sốt dengue/sốt xuất huyết dengue có hiệu quả cần phải biết thực trạng cũng như cơ sở phân tử liên quan đến kháng hoá chất diệt của quần thể muỗi tại thực địa. Theo dõi, giám sát tình trạng kháng bằng thử nghiệm sinh học có hệ thống để xây dựng bản đồ kháng, sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử nhằm góp phần tìm ra cơ chế kháng, mức độ kháng với các hoá chất diệt đã và đang sử dụng trong phòng chống sốt dengue/sốt xuất huyết dengue là nhu cầu cấp thiết hiện nay, với lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu "**Dịch tễ học phân tử kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* truyền bệnh sốt xuất huyết ở một số tỉnh thành phố Việt Nam, 2006 - 2009**", với 2 mục tiêu cụ thể sau:

- 1. Xác định mức độ và xây dựng bản đồ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* truyền bệnh sốt dengue/sốt xuất huyết dengue ở một số tỉnh, thành phố Việt Nam, 2006-2009.**
- 2. Xác định một số đặc điểm sinh học phân tử liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* tại một số địa điểm nghiên cứu.**

## **NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN**

- Lần đầu tiên ở Việt Nam nghiên cứu xác định mức độ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* ở các vùng miền khác nhau của cả nước với 56 điểm nghiên cứu thuộc 28 tỉnh, thành phố, với 5 loại hoá chất. Bước đầu xây dựng bản đồ dịch tễ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* trên qui mô toàn quốc.

- Lần đầu tiên ở Việt Nam nghiên cứu xác định một số đặc điểm phân tử nhằm sáng tỏ cơ sở di truyền phát sinh tính kháng hoá chất diệt của muỗi *Ae. aegypti*, góp phần xây dựng hệ thống giám sát dịch tễ học phân tử kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* truyền bệnh sốt dengue/sốt xuất huyết dengue tại Việt Nam.

## **BỐ CỤC CỦA LUẬN ÁN**

Luận án gồm 118 trang, 4 chương: Đặt vấn đề 2 trang, Chương 1 - Tổng quan 34 trang, Chương 2 - Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 17 trang, Chương 3 - Kết quả nghiên cứu 32 trang, Chương 4 - Bàn luận 30 trang, Kết luận 2 trang, Khuyến nghị 1 trang. 121 tài liệu tham khảo, trong đó tiếng Việt 30, tiếng Anh 91. 25 bảng, 3 biểu đồ, 19 hình, (Không kể phần phụ lục, phần mục lục, danh mục các chữ viết tắt, các bảng, hình vẽ trong phần phụ lục).

## Chương 1

# TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. Tình hình sốt dengue/sốt xuất huyết dengue trên thế giới và Việt Nam

Bệnh sốt dengue/sốt xuất huyết dengue (SD/SXHD) là vấn đề mang tính toàn cầu. Bệnh lưu hành trên 100 nước, với khoảng 2,5 tỷ người sống trong vùng nguy cơ. Mỗi năm có khoảng 100 triệu trường hợp nhiễm dengue, 500.000 trường hợp sốt xuất huyết dengue. Tỷ lệ tử vong trung bình là 5%, với 24.000 trường hợp mỗi năm. Tại khu vực châu Á và Thái Bình Dương, bệnh là gánh nặng về y tế ở các nước có dịch lưu hành.

ở Việt Nam bệnh SD/SXHD là bệnh dịch lưu hành địa phương. Vụ dịch lớn gần đây nhất xảy ra vào năm 1998 với 234.920 trường hợp mắc và 377 trường hợp tử vong, những năm sau đó số mắc và chết tuy có giảm, nhưng từ năm 2004 đến nay số mắc và số tử vong do SD/SXHD có xu hướng gia tăng. Năm 2006 cả nước có 77.818 trường hợp mắc, 68 ca tử vong, năm 2007 tăng lên 104.464 trường hợp mắc, 88 ca tử vong.

Hiện chưa có vắc xin hiệu quả để phòng bệnh, không có thuốc điều trị đặc hiệu, vì vậy phòng chống SD/SXHD chủ yếu là phòng chống muỗi *Ae. aegypti* véc tơ chính truyền bệnh SD/SXHD trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

### 1.2. Véc tơ truyền bệnh sốt dengue/sốt xuất huyết dengue *Aedes aegypti* và các biện pháp kiểm soát

Muỗi *Ae. aegypti* sống trong nhà, ưa thích hút máu người, thích trú đậu ở nơi tối, ở các giá thể có màu sẫm như quần áo, gấm bàn, tủ,... Thích đẻ trứng trong các dụng cụ chứa nước trong và xung quanh nhà ở. Muỗi *Ae. aegypti* hút máu vào ban ngày, chủ yếu là sáng sớm và chiều tối. Muỗi *Ae. aegypti* khi bị nhiễm vi rút có khả năng truyền bệnh suốt đời. Có nghiên cứu chứng minh rằng, khả năng truyền vi rút dengue được duy trì sau 20 lần hút máu liên tiếp ở các vật chủ khác nhau.

Có nhiều biện pháp phòng chống véc tơ đã được nghiên cứu và áp dụng như: biện pháp hoá học, biện pháp làm giảm nguồn sinh sản của muỗi truyền bệnh, phòng cá nhân khỏi bị muỗi đốt, biện pháp điều khiển gen, sinh thái học, phòng chống sinh học. Song khi có dịch SD/SXHD thì phun không gian hoá chất diệt côn trùng vẫn là biện pháp hiệu quả nhất để dập dịch.



### 1.3. Các loại hoá chất diệt côn trùng

Có 4 nhóm hoá chất diệt côn trùng đã và đang được sử dụng để kiểm soát véc tơ truyền bệnh.

Nhóm Clo hữu cơ được sản xuất từ năm 1939, ban đầu là DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane), sau đó là dieldrin và lindan.

Nhóm Phốt pho hữu cơ được sản xuất từ năm 1951, bao gồm DDVP, malathion, parathion, diazinon, fenthion,....

Nhóm Carbamat chủ yếu gồm các hoá chất propoxur, bendiocarb được sản xuất từ năm 1961, được sử dụng ở những nơi côn trùng kháng với các hoá chất thuộc hai nhóm trên.

Nhóm Pyrethroid tổng hợp bao gồm permethrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, fedona,.... được sản xuất từ năm 1971, được sử dụng rộng rãi để kiểm soát muỗi truyền bệnh trong đó có muỗi *Ae. aegypti*, do nó tương đối an toàn với người sử dụng ở liều khuyến cáo. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây trên thế giới cũng như ở Việt Nam cho thấy, muỗi *Ae. aegypti* đã xuất hiện kháng với các hoá chất diệt nhóm Pyrethroid.

### 1.4. Tính kháng và cơ chế kháng hoá chất diệt côn trùng

Hiện tượng kháng được sinh ra khi một bộ phận quần thể côn trùng vẫn còn sống sót sau một thời gian dài tiếp xúc với hoá chất diệt côn trùng ở các liều thông dụng, trong khi những con nhạy cảm bị chết. Có nhiều cơ chế kháng đã được tìm ra ở côn trùng nói chung và muỗi nói riêng. Tuy nhiên có hai cơ chế kháng chính: kháng chuyển hoá và kháng do đột biến gen quy định protein ở vị trí đích của hoá chất diệt.

### 1.5. Các phương pháp giám sát kháng hoá chất diệt côn trùng

Hiện nay có 3 phương pháp được sử dụng để giám sát kháng hoá chất diệt côn trùng.

Phương pháp thử nghiệm sinh học: đây là phương pháp thường quy để xác định mức độ nhạy/kháng của quần thể muỗi trên thực địa, giúp cho việc lựa chọn hoá chất diệt có hiệu quả. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản, dễ thực hiện, nhưng không xác định được cơ chế làm phát sinh tính kháng.

Phương pháp thử nghiệm hoá sinh: xác định mức biểu hiện cao của các enzym giải độc, đánh giá bước đầu về cơ chế kháng.

Phương pháp sinh học phân tử: nghiên cứu cơ sở di truyền làm phát sinh tính kháng, giúp xây dựng chiến lược quản lý kháng có hiệu quả. Đây

là phương pháp tiên tiến, nhưng đòi hỏi phòng thí nghiệm côn trùng hiện đại và đội ngũ cán bộ có trình độ.

## **1.6. Chiến lược kiểm soát tình trạng kháng hoá chất diệt côn trùng**

Chiến lược dựa trên việc theo dõi, giám sát tình trạng kháng bằng thử nghiệm sinh học có hệ thống, xây dựng bản đồ kháng, sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử nhằm góp phần tìm ra cơ chế kháng, mức độ kháng với các hoá chất diệt đã và đang sử dụng trong phòng chống sốt dengue/sốt xuất huyết dengue. Trên cơ sở đó lựa chọn hoá chất diệt có hiệu quả, thay thế hoá chất đã kháng, hoặc luân phiên sử dụng hoá chất diệt để hạn chế mức độ kháng.

## **Chương 2**

### **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

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

##### **2.1.1. Đối tượng nghiên cứu**

Muỗi *Ae. aegypti* truyền bệnh SD/SXHD ở 4 khu vực miền Bắc, miền Trung, Tây Nguyên và miền Nam Việt Nam.

##### **2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Địa điểm: 31 tỉnh, thành phố thuộc 4 vùng của Việt Nam. Thời gian: Từ năm 2006 đến 2009.

#### **2.2. Thiết kế nghiên cứu**

Thiết kế nghiên cứu theo phương pháp dịch tễ học mô tả có phân tích; kết hợp nghiên cứu phòng thí nghiệm.

#### **2.3. Phương pháp chọn mẫu**

Chọn điểm nghiên cứu: áp dụng công thức tính toán cỡ mẫu cho nghiên cứu mô tả ước lượng một tỷ lệ, đơn vị chọn mẫu là điểm nghiên cứu:  $n=1,96^2 \cdot 0,2 \cdot 0,8/0,1^2= 61$  điểm. Chọn mẫu ngẫu nhiên 2 giai đoạn: chọn ngẫu nhiên 31 trong số 53 tỉnh, thành phố, mỗi tỉnh chọn 2 điểm, 1 điểm nông thôn, 1 điểm thành thị, tổng số 62 điểm.

Chọn mẫu cho nghiên cứu sinh học phân tử: tính toán cỡ mẫu theo công thức chọn mẫu cho nghiên cứu ước lượng một tỷ lệ, đơn vị chọn mẫu là muỗi *Ae. aegypti*,  $n=1,96^2 \cdot 0,5 \cdot 0,5/0,07^2= 196$  muỗi (làm tròn  $n=200$ )

#### **2.4. Phương pháp nghiên cứu**

##### **2.4.1. Nội dung nghiên cứu**

### **Mục tiêu 1**

- Xác định mức độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* theo phương pháp của WHO (WHO/CDC/CPC/MAL/98.12), với 5 hoá chất diệt thuộc 3 nhóm: Clo hữu cơ (DDT 4%), Phốt pho hữu cơ (malathion 5%) và Pyrethroid (permethrin 0,75%, deltamethrin 0,05%, lambda-cyhalothrin 0,05%).

Đánh giá: Tỷ lệ muỗi chết từ 98-100%, muỗi nhạy cảm với hoá chất thử; tỷ lệ chết từ 80-97%, muỗi có khả năng kháng với hoá chất thử; tỷ lệ chết dưới 80%, muỗi kháng với hoá chất thử.

- Sử dụng thiết bị định vị toàn cầu GPS để xác định điểm nghiên cứu trên bản đồ, sử dụng phần mềm GIS để vẽ bản đồ kháng.

### **Mục tiêu 2**

- Giải trình tự trực tiếp một phân đoạn gen thuộc exon 21 của gen *kdr* để xác định đột biến điểm liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của một số chủng muỗi *Ae. aegypti*.

- Sử dụng kỹ thuật HOLA (Hot Oligonucleotide Ligation Assay) để sàng lọc đột biến gen *kdr* ở một số chủng muỗi *Ae. aegypti*.

- Sử dụng kỹ thuật microarray để phát hiện gen liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* theo cơ chế kháng chuyển hoá.

#### **2.4.2. Phương pháp thu thập mẫu**

Thu thập bọ gậy *Aedes* trong các dụng cụ chứa nước tại hộ gia đình, số hộ điều tra 1.830 hộ, số bọ gậy thu thập 32.500 con. Bọ gậy được nhân nuôi trong phòng thí nghiệm côn trùng Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương/Viện Pasteur khu vực, thu thập muỗi cái *Ae. aegypti* thế hệ F1, 1-2 ngày tuổi để nghiên cứu, tổng số muỗi 28.000 con.

#### **2.5. Phương pháp phân tích số liệu**

Sử dụng phần mềm EPI info v6.04, GENEPiX 5.1, PRIMEGENS, GENEPRING 6.1. Kiểm định Khi bình phương ( $\chi^2$ ), kiểm định t student ( $t_{\text{student}}$  test).

#### **2.6. Vấn đề đạo đức của nghiên cứu**

Nghiên cứu này tuân theo qui định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Hội đồng Y đức Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Nghiên cứu không vi phạm các qui định y đức trong nghiên cứu y sinh học.

### Chương 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Kết quả đánh giá độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti*

#### 3.1.1. Kết quả đánh giá độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* khu vực miền Bắc

Bảng 3.1. Độ nhạy cảm của muỗi *Aedes aegypti* với hoá chất diệt côn trùng khu vực miền Bắc (1 là điểm thành thị, 2 là điểm nông thôn)

TT	Địa điểm	Tỷ lệ muỗi chết (%)				
		DDT 4%	Malathion 5%	Permethrin 0,75%	Deltamethrin 0,05%	Lambda- cyhalothrin 0,05%
1	Hải Phòng1	84	100	100	100	100
2	Hải Phòng2	94	100	100	100	100
3	Nam Định1	92	100	100	100	100
4	Nam Định2	82	100	100	100	100
5	Hà Nội1	16	99	68	100	97
6	Hà Nội2	34	100	97	100	99
7	Hà Tây1	23	100	99	100	99
8	Hà Tây2	11	100	100	100	100
9	Hà Nam1	86	100	100	100	100
10	Hà Nam2	38	100	100	100	100
11	Thanh Hoá1	59	89	100	100	100
12	Thanh Hoá2	45	100	100	100	100
13	Nghệ An1	95	100	100	100	100
14	Nghệ An2	33	100	100	100	100
15	Hà Tĩnh1	97	100	100	100	100
16	Hà Tĩnh2	93	100	100	100	100

Dẫn liệu bảng 3.1 cho thấy, muỗi *Ae. aegypti* khu vực miền Bắc kháng hoặc có khả năng kháng với DDT ở 100% điểm nghiên cứu, với tỷ lệ chết từ 11-97%. Còn nhạy cảm với malathion và 3 hoá chất diệt nhóm Pyrethroid là permethrin, deltamethrin, lambda-cyhalothrin ở hầu hết các điểm nghiên cứu, lần lượt là: 93,7% (15/16 điểm), 87,5% (14/16), 100% (16/16), 93,7% (15/16). Hoá chất diệt côn trùng deltamethrin có hiệu quả diệt muỗi cao nhất.

### 3.1.2. Mức độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* khu vực miền Trung và Tây Nguyên

Bảng 3.2. Mức độ nhạy cảm của muỗi *Aedes aegypti* với hoá chất diệt khu vực miền Trung và Tây Nguyên (1 là thành thị, 2 là nông thôn)

TT	Địa điểm	Tỷ lệ muỗi chết (%)				
		DDT 4%	Malathion 5%	Permethrin 0,75%	Deltamethrin 0,05%	Lambda-cyhalothrin 0,05%
1	Quảng Bình1	62	85	100	100	100
2	Quảng Bình2	48	77	100	100	100
3	Thừa Thiên Huế1	12	100	72	100	97
4	Thừa Thiên Huế2	19	96	54	97	57
5	Đà Nẵng1	47	100	77	97	84
6	Đà Nẵng2	1	100	54	85	92
7	Quảng Ngãi1	44	52	62	85	67
8	Quảng Ngãi2	1	100	49	88	60
9	Phú Yên1	27	100	89	91	95
10	Phú Yên2	20	100	77	82	80
11	Khánh Hòa1	5	20	89	89	94
12	Khánh Hòa2	3	95	59	96	82
13	Bình Thuận1	4	5	43	70	52
14	Bình Thuận2	7	17	91	91	81
15	Gia Lai1	11	89	67	77	54
16	Gia Lai2	0	23	12	44	9
17	Đắk Lắk1	3	51	15	52	19
18	Đắk Lắk2	0	100	35	62	75
19	Đắk Nông1	0	88	60	65	58
20	Đắk Nông2	0	100	24	59	60

Theo bảng 3.2, muỗi *Ae. aegypti* truyền bệnh SD/SXHD khu vực miền Trung và Tây Nguyên kháng với DDT ở 100% điểm nghiên cứu, với tỷ lệ chết từ 0-48%. Nhạy cảm với malathion ở 8 điểm (40%), có khả năng kháng ở 5 điểm (25%), kháng ở 7 điểm (35%). Kháng hoặc có khả năng kháng với cả 3 loại hoá chất thuộc nhóm Pyrethroid ở hầu hết các điểm nghiên cứu tại nồng độ thử nghiệm, muỗi *Ae. aegypti* chỉ còn nhạy cảm với cả 3 loại hoá chất này ở 2 điểm của Quảng Bình.

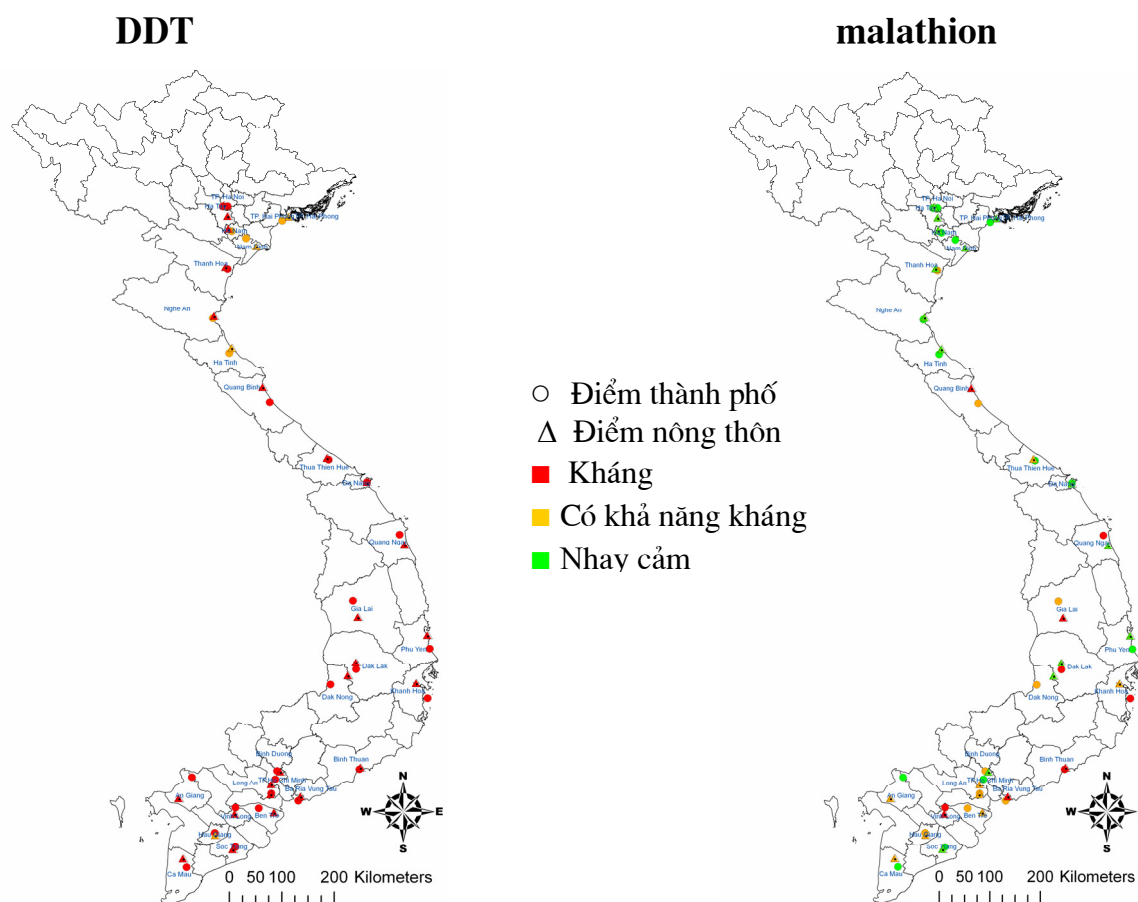
### 3.1.3. Kết quả đánh giá độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* khu vực miền Nam

Bảng 3.3. Độ nhạy cảm của muỗi *Aedes aegypti* với hoá chất diệt côn trùng khu vực miền Nam (1 là thành thị, 2 là nông thôn)

TT	Địa điểm	Tỷ lệ muỗi chết (%)				
		DDT 4%	Malathion 5%	Permethr in 0,75%	Deltameth rin 0,05%	Lambda- cyhalothrin 0,05%
1	Hồ Chí Minh1	76	99	100	100	100
2	Hồ Chí Minh2	14	92	36	71	54
3	Bình Dương1	4	96	22	64	60
4	Bình Dương2	0	99	0	13	0
5	BR V. Tàu1	8	81	42	76	67
6	BR V. Tàu2	1	66	35	72	33
7	Long An1	19	96	69	91	95
8	Long An2	31	88	90	99	87
9	An Giang1	0	100	0	64	8
10	An Giang2	0	94	78	97	99
11	Vĩnh Long1	0	66	3	51	12
12	Vĩnh Long2	18	68	71	99	80
13	Hậu Giang1	48	91	49	83	71
14	Hậu Giang2	88	92	84	97	93
15	Bến Tre1	8	91	65	99	83
16	Bến Tre2	5	96	75	100	99
17	Sóc Trăng1	9	100	87	97	99
18	Sóc Trăng2	8	100	97	100	100
19	Cà Mau1	0	99	24	71	62
20	Cà Mau2	11	96	39	72	46

Dẫn liệu bảng 3.3 cho thấy, ở khu vực miền Nam muỗi *Ae. aegypti* kháng hoặc tăng tính kháng với DDT ở 100% điểm nghiên cứu. Nhạy cảm với malathion ở 6 điểm (30%), có khả năng kháng ở 11 điểm (55%), kháng ở 3 điểm (15%). Hầu hết các điểm nghiên cứu muỗi *Ae. aegypti* đã kháng hoặc có khả năng kháng với cả 3 loại hoá chất diệt nhóm Pyrethroid ở nồng độ thử nghiệm. Phần lớn các điểm nghiên cứu hoá chất diệt deltamethrin có tỷ lệ muỗi chết cao hơn so với permethrin và lambda-cyhalothrin.

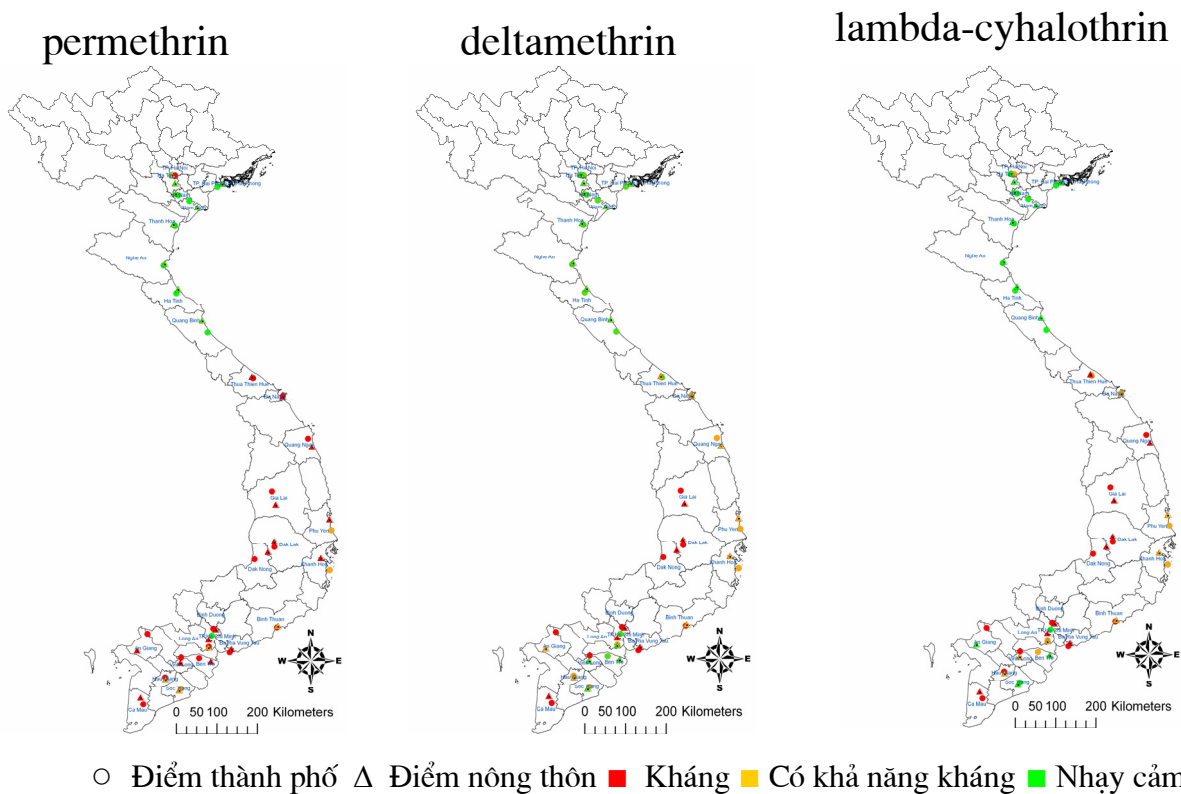
### 3.2. Kết quả xây dựng bản đồ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* ở một số tỉnh, thành phố Việt Nam, 2006-2009



Hình 3.1. Bản đồ kháng hoá chất diệt côn trùng DDT và malathion của muỗi *Aedes aegypti* ở một số tỉnh, thành phố Việt Nam, 2006- 2009

Theo hình 3.1, muỗi *Ae. aegypti* có khả năng kháng hoặc kháng với DDT ở tất cả các điểm nghiên cứu trên phạm vi cả nước. Xu thế kháng tăng từ Bắc vào Nam.

Với malathion muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm ở 29 điểm nghiên cứu phân bố khắp cả nước, chiếm 51,8%, kháng ở 10 điểm (17,9%), có khả năng kháng ở 17 điểm (30,3%). Mức độ nhạy cảm với malathion của muỗi *Ae. aegypti* ở các khu vực rất khác nhau, khu vực miền Bắc cao hơn các khu vực còn lại và giảm dần từ Bắc vào Nam.



Hình 3.2. Bản đồ kháng hoá chất diệt côn trùng permethrin, deltamethrin và lambda-cyhalothrin của muỗi *Aedes aegypti* ở một số tỉnh, thành phố Việt Nam, 2006- 2009

Theo hình 3.2, muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm với permethrin ở 17 điểm nghiên cứu (30,3%), kháng ở 31 điểm (55,4%), có khả năng kháng ở 8 điểm (14,3%). Tình trạng kháng permethrin có xu hướng tăng từ Bắc vào Nam.

100% điểm nghiên cứu khu vực miền Bắc muỗi còn nhạy cảm với deltamethrin, ngược lại muỗi đã kháng hoặc có khả năng kháng với deltamethrin ở hầu hết các điểm khu vực miền Trung và Tây Nguyên.

Hầu hết các điểm khu vực miền Bắc muỗi còn nhạy cảm với lambda-cyhalothrin, trong khi ở khu vực miền Nam chỉ có rất ít điểm còn nhạy cảm. Miền Trung và Tây Nguyên không có điểm nào muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm với lambda-cyhalothrin.

### 3.3. Kết quả nghiên cứu một số đặc điểm phân tử liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti*

3.3.1. Kết quả nghiên cứu đột biến gen *kdr* liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* ở một số điểm nghiên cứu



Bảng 3.4. Kết quả phát hiện đột biến gen *kdr Val1016Gly* ở một số chủng muỗi *Aedes aegypti*, năm 2008

Chủng muỗi	Thế hệ muỗi	Đột biến		Kiểu đột biến			
				Dị hợp tử		Đồng hợp tử	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
HCM1	F2 (n=35)	0	0	0	0	0	0
HCM2	F2 (n=35)	4	11,4	4	100	0	0
	F8 (n=35)	34	97,1	31	91,2	3	8,8
BeTr2	F2 (n=35)	2	5,7	2	100	0	0
	F8 (n=35)	33	94,3	32	97,0	1	3,0

Bảng 3.5. Kết quả khảo sát đột biến gen *kdr Val1016Gly* ở một số chủng muỗi *Aedes aegypti* theo phương pháp HOLA, năm 2009 (1: điểm thành thị, 2: điểm nông thôn)

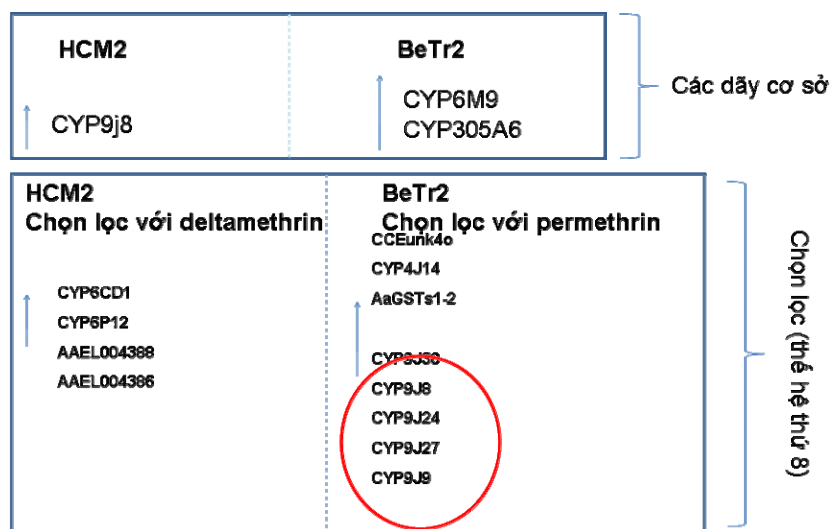
TT	Chủng muỗi	Số mẫu	Đột biến		Kiểu đột biến			
					Dị hợp tử		Đồng hợp tử	
			Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Hà Nội1	20	20	100	18	90	2	10
2	Nghệ An1	20	3	15	3	15	0	0
3	Huế 2	20	11	55	11	55	0	0
4	Khánh Hoà2	20	0	0	0	0	0	0
5	Bình Thuận1	20	0	0	0	0	0	0
6	Gia Lai2	20	0	0	0	0	0	0
7	Bình Dương2	20	4	20	4	20	0	0
8	Bến Tre2	20	1	5	1	5	0	0
9	Vĩnh Long1	20	2	10	2	10	0	0
10	Cà Mau1	20	6	30	6	30	0	0
<b>Tổng cộng</b>		<b>200</b>	<b>47</b>	<b>23,5</b>	<b>45</b>	<b>95,7</b>	<b>2</b>	<b>4,3</b>

Dẫn liệu bảng 3.4 cho thấy, chủng muỗi *Ae. aegypti* ở Thành phố Hồ Chí Minh điểm thành thị (HCM1) nhạy cảm với permethrin và deltamethrin (bảng 3.3), không thấy có mẫu muỗi nào có đột biến, trong khi chủng muỗi *Ae. aegypti* điểm nông thôn (HCM2) kháng với

deltamethrin có 4 mẫu có đột biến gen *kdr Vall016Gly* chiếm 11,4%, tăng lên 34 mẫu (F8), chiếm 97,1% (34/35), trong đó có 3 mẫu muỗi mang kiểu gen đồng hợp tử kháng (8,5%). Tương tự, chủng muỗi ở Bến Tre điểm nông thôn (BeTr2) kháng permethrin, ở thế hệ thứ 2 (F2) có 2 mẫu có đột biến (5,7%), tăng lên 33 mẫu ở thế hệ thứ 8 (F8), chiếm 94,3% (33/35), trong đó xuất hiện 1 mẫu có kiểu gen đồng hợp tử kháng (2,9%).

Dẫn liệu bảng 3.5 cho thấy, muỗi *Ae. aegypti* ở 70% điểm nghiên cứu (7/10 điểm) xuất hiện đột biến gen *kdr Vall016Gly*. Trong đó 6 chủng xuất hiện kiểu đột biến gen dạng dị hợp tử, 1 chủng muỗi xuất hiện cả 2 kiểu gen đồng hợp tử và dị hợp tử kháng (Hà Nội). Tỷ lệ đột biến dạng dị hợp tử là chủ yếu, chiếm 95,7% (45/47 mẫu muỗi).

### 3.3.2. Kết quả nghiên cứu phát hiện gen liên quan đến cơ chế kháng chuyển hoá, ở một số chủng muỗi *Aedes aegypti*



Hình 3.3. Kết quả phát hiện gen liên quan đến kháng chuyển hoá của muỗi *Aedes aegypti* tại một số điểm nghiên cứu, 2008

Theo hình 3.3, sử dụng chip DNA để so sánh mức độ biểu hiện gen giữa chủng nhạy (HCM1) và 2 chủng kháng (HCM2 và BeTr2), phát hiện 3 gen P450 có mức biểu hiện cao, bao gồm CYP9j8 (HCM2), CYP6M9 và CYP305A6 (BeTr2). Đến thế hệ thứ 8 (F8), phát hiện mức biểu hiện cao của một số gen P450s đặc biệt là gen CYP9.

## Chương 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Mức độ và bản đồ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* ở một số tỉnh, thành phố Việt Nam, 2006-2009

Chúng tôi thu thập bọ gậy *Aedes* tại thực địa ở 62 điểm nghiên cứu của 31 tỉnh, thành phố thuộc 4 khu vực là miền Bắc, miền Trung, Tây Nguyên và miền Nam. Có 28 tỉnh, thành phố (56 điểm), có muỗi *Ae. aegypti*, 3 tỉnh (6 điểm) chỉ thấy muỗi *Ae. albopictus* (Quảng Ninh, Hải Dương và Hoà Bình). Tiến hành thử nghiệm sinh học nhằm xác định mức độ kháng hoá chất diệt của muỗi *Ae. aegypti* và xây dựng bản đồ kháng với 5 loại hoá chất diệt côn trùng thuộc 3 nhóm Clo hữu cơ (DDT), Phốt pho hữu cơ (malathion) và Pyrethroid (permethrin, deltamethrin, lambda-cyhalothrin). Bước đầu tìm hiểu sự khác nhau về độ nhạy cảm với hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* giữa khu vực thành thị và khu vực nông thôn.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, muỗi *Ae. aegypti* không còn nhạy cảm với DDT ở tất cả các điểm nghiên cứu trên cả nước, kháng ở 47 điểm (84%) ở cả 4 khu vực, có khả năng kháng ở 9 điểm trong đó có 8 điểm ở miền Bắc và 1 điểm ở miền Nam, chiếm 26% (hình 3.1). Xu thế kháng tăng từ Bắc vào Nam. Không thấy có sự khác nhau về mức độ kháng với DDT của muỗi *Ae. aegypti* giữa 2 khu vực nông thôn và thành thị. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu những năm gần đây ở Việt Nam của một số tác giả cho thấy, muỗi *Ae. aegypti* đã kháng với DDT ở tất cả các điểm nghiên cứu ở các khu vực khác nhau ở Việt Nam. DDT là một trong những hoá chất diệt côn trùng đầu tiên được sử dụng rộng rãi dẫn đến thắng lợi trong phòng chống sốt rét vì DDT có hiệu lực diệt muỗi trú đậu trong nhà cao khi phun hoá chất tồn lưu trên tường hoặc vách, có giá thành thấp. Chính vì vậy từ năm 1960-1990, DDT là hoá chất chính dùng trong phòng chống muỗi truyền bệnh sốt rét và SD/SXHD ở Việt Nam. Sau đó các véc tơ này nhanh chóng phát triển tính kháng lại hoá chất DDT. Hiện

nay, muỗi *Ae. aegypti* đã kháng với DDT ở hầu hết mọi nơi trên thế giới trừ một số nước ở châu Phi. Brengues. C và cs, (2003), cũng đã chứng minh tính kháng rộng rãi của muỗi *Ae. aegypti* ở 13 địa điểm nghiên cứu thuộc nhiều nước khác nhau trên khắp thế giới từ năm 1995-1998 như Braxin, Guiana, Polynesia thuộc Pháp, Indonesia, Thái Lan và Việt Nam.

Với malathion muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm ở 28 điểm nghiên cứu (50%), kháng ở 10 điểm (17,9%), có khả năng kháng ở 18 điểm (32,1%), (hình 3.1). Mức độ nhạy cảm với malathion của muỗi *Ae. aegypti* ở các khu vực rất khác nhau, khu vực miền Bắc cao hơn các khu vực khác và giảm dần từ Bắc vào Nam. Hầu hết các điểm nghiên cứu ở khu vực miền Bắc muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm với malathion (15/16), trong khi các khu vực khác chỉ khoảng 1/3 số điểm muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm, 2/3 số điểm có khả năng kháng hoặc kháng với malathion.

Sau khi côn trùng truyền bệnh xuất hiện kháng DDT ở nhiều nước, gây độc cho động vật và người nên các hoá chất thuộc nhóm Phốt pho hữu cơ được phát hiện từ thập kỷ 50 của thế kỷ XX đã dần thay thế DDT. Phổ biến là malathion và fenitrothion. Malathion là hoá chất diệt thuộc nhóm Phốt pho hữu cơ rẻ nhất và an toàn nhất khi sản xuất theo chỉ tiêu kỹ thuật của WHO nên nó được sử dụng phổ biến để phun tồn lưu phòng chống sốt rét và SD/SXHD trên khắp thế giới. Việc mở rộng sử dụng malathion trong chương trình phòng chống muỗi *Ae. aegypti* ở Mỹ La Tinh, người ta thấy hiện tượng kháng với loại hoá chất này ở loài *Culex quinquefasciatus* nhưng không thấy kháng ở loài *Ae. aegypti*. Chúng *Ae. aegypti* nghiên cứu ở Cuba, Venezuela, Costa Rica và Jamaica vẫn nhạy cảm với malathion. Ở Việt Nam năm 2002, nghiên cứu tại 22 điểm thuộc 11 tỉnh, thành phố, Vũ Đức Hương và cs, cho thấy muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm với malathion ở hầu hết các điểm nghiên cứu. Trong nghiên cứu của chúng tôi ở 28 tỉnh, thành phố (2006-2009) cho thấy có 50% số điểm muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm với loại hoá chất này. Việc thay đổi sự nhạy cảm của muỗi

*Ae. aegypti* với malathion cần được tiếp tục nghiên cứu thêm.

Nghiên cứu mức độ nhạy cảm của muỗi *Ae. aegypti* với các hoá chất diệt nhóm Pyrethroid, những hoá chất hiện đang được sử dụng phổ biến trong phòng chống SD/SXHD trên thế giới cũng như ở Việt Nam cho thấy, ở khu vực miền Bắc muỗi *Ae. aegypti* còn nhạy cảm với permethrin ở phần lớn các điểm nghiên cứu (14/16), trong khi ở khu vực miền Nam, Tây Nguyên và miền Trung, muỗi *Ae. aegypti* hầu hết đã có khả năng kháng hoặc kháng với permethrin (38/40). Tình trạng kháng permethrin cũng có xu hướng tăng dần từ Bắc vào Nam. Tương tự, muỗi *Ae. aegypti* kháng hoặc có khả năng kháng với deltamethrin và lambda-cyhalothrin ở hầu hết các điểm nghiên cứu thuộc khu vực miền Trung và Tây Nguyên (hình 3.2).

Với ưu điểm là tương đối an toàn, ít gây tác dụng phụ cho người tham gia phun hoá chất và hiệu quả diệt muỗi cao, các hoá chất diệt côn trùng nhóm Pyrethroid được dùng rộng rãi trong nhiều năm nay để dập dịch SD/SXHD trên phạm vi cả nước, đồng thời cũng là loại hoá chất được dùng phổ biến để tẩm vào màn ngủ phòng chống bệnh sốt rét. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sử dụng hoá chất diệt permethrin để phòng chống SD/SXHD ở khu vực miền Trung, Tây Nguyên và miền Nam hiện nay là không hiệu quả, cần thay thế bằng loại hoá chất khác có hiệu lực diệt muỗi tốt hơn để dập dịch ở các địa phương này.

Như vậy, tình trạng kháng hoá chất diệt côn trùng tại Việt Nam hiện nay ở mức khá trầm trọng, cao nhất ở khu vực Tây Nguyên, tiếp theo là miền Trung, miền Nam và miền Bắc. Mức độ kháng hoá chất diệt của muỗi *Ae. aegypti* tăng dần từ Bắc vào Nam và cao nhất ở khu vực Tây Nguyên. Sự khác nhau về mức độ kháng giữa các khu vực có thể do sử dụng hoá chất diệt ở các khu vực khác nhau, mức độ kháng tăng theo mức độ sử dụng hoá chất diệt. Ở khu vực miền Bắc có mùa đông với nhiệt độ thấp không thuận lợi cho côn trùng phát triển, vì vậy việc sử dụng hoá chất diệt cũng giảm đi. Trong khi khu vực miền Trung, Tây Nguyên và miền Nam quanh năm ẩm áp với nhiệt độ trung bình luôn cao hơn 20 độ C, thuận lợi

cho côn trùng phát triển trong đó có các loại muỗi truyền bệnh như sốt rét, SD/SXHD, dẫn đến việc sử dụng nhiều hơn các loại hoá chất diệt trong các lĩnh vực nông nghiệp gia dụng và phòng chống dịch bệnh. Đối với khu vực Tây Nguyên SD/SXHD không trầm trọng như khu vực miền Trung và miền Nam, nhưng muỗi truyền bệnh SD/SXHD *Ae. aegypti* ở đây lại có mức độ kháng hoá chất diệt cao nhất cả nước. Do khu vực Tây Nguyên có bệnh sốt rét lưu hành nặng, để phòng chống dịch chúng ta đã sử dụng quá nhiều hoá chất diệt côn trùng DDT trước đây và sau đó là các hoá chất diệt nhóm Pyrethroid. Muỗi kháng với DDT có thể kháng chéo với Pyrethroid do có cùng vị trí tác động, vì vậy muỗi kháng với DDT có thể sẽ kháng với cả Pyrethroid.

Muỗi *Ae. aegypti* véc tơ chính truyền bệnh SD/SXHD ở Việt Nam đã kháng với hoá chất diệt côn trùng ở mức độ cao và rộng khắp nói lên khả năng thích ứng nhanh chóng của loài muỗi này trước sức ép chọn lọc khi tiếp xúc trường diễn với hoá chất. Đây cũng chính là hậu quả của việc sử dụng hoá chất thiếu sự quản lý, thậm chí không có sự kiểm soát. Không có hệ thống giám sát và quản lý kháng có hiệu quả cũng là nguyên nhân làm phát sinh nhanh chóng các quần thể muỗi kháng do sử dụng hoá chất không đúng liều lượng, phun không đúng kỹ thuật, thậm chí sử dụng cả hoá chất diệt đã bị kháng mà không biết.

Việc sử dụng hoá chất diệt côn trùng một cách rộng rãi trong các lĩnh vực nông nghiệp, lâm nghiệp, gia dụng và phòng chống dịch bệnh đã làm cho tính kháng phát triển nhanh chóng trong các quần thể côn trùng truyền bệnh nói chung, muỗi *Ae. aegypti* nói riêng, hiện nay tình trạng này đã trở nên phổ biến và có tính chất toàn cầu. Nuananong Jirakanjanakit và cộng sự (2007), đã tiến hành nghiên cứu xu hướng kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* ở Thái Lan trong thời kỳ 2003-2007, đưa ra nhận xét: mặc dù sử dụng temephos có hiệu quả cao trong nhiều vùng của Thái Lan để kiểm soát muỗi truyền bệnh SD/SXHD, nhưng xu hướng muỗi *Ae. aegypti* có khả năng kháng hoặc kháng với hoá chất này ở nhiều địa điểm

được nghiên cứu cho thấy để kiểm soát muỗi truyền bệnh *Ae. aegypti* có hiệu quả, cần phải áp dụng theo chu kỳ luân phiên các phương pháp thay thế. Cũng theo tác giả này, khi nghiên cứu đánh giá mức độ nhạy cảm của muỗi *Ae. aegypti* với các hoá chất diệt côn trùng deltamethrin, permethrin, fenitrothion, và propoxur tại Thái Lan cùng thời kỳ 2003-2005, hầu hết tất cả muỗi *Ae. aegypti* thu được ở các điểm nghiên cứu đều đã xuất hiện tình trạng từ có khả năng kháng đến kháng với các hoá chất diệt côn trùng deltamethrin và permethrin. Tác giả nhận thấy hầu hết muỗi *Ae. albopictus* đều nhạy cảm với các hoá chất diệt côn trùng được thử nghiệm ở cùng một liều chẩn đoán như với muỗi *Ae. aegypti*. Tình trạng kháng với các hoá chất diệt côn trùng thuộc nhóm Pyrethroid (permethrin và deltamethrin) đã phát triển ở muỗi *Ae. aegypti* trên hầu hết các vùng được nghiên cứu ở Thái Lan. Trên cơ sở đó, tác giả đề xuất ý kiến là có thể sẽ phải lựa chọn các hoá chất diệt côn trùng thay thế, hoặc áp dụng các biện pháp kiểm soát khác đối với muỗi truyền bệnh.

Năm 2007, tác giả Rodriguez. M. M và cs., đã công bố kết quả nghiên cứu về mức độ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* ở một số nước Mỹ La Tinh, với 6 hoá chất diệt côn trùng thuộc nhóm Phốt pho hữu cơ bao gồm temephos, fenthion, pirimiphos-methyl, fenitrothion, và chlorpirifos và 4 hoá chất diệt côn trùng thuộc nhóm Pyrethroid là deltamethrin, lambda-cyhalothrin, betacypermethrin và cyfluthrin. Thử nghiệm sinh học cho thấy đa số các chủng muỗi kháng với temephos và pirimiphos-methyl từ mức trung bình tới mức cao. Thử nghiệm trên muỗi trưởng thành chứng minh rằng tất cả các chủng muỗi đều kháng DDT và kháng đa số các hoá chất diệt côn trùng thuộc nhóm Pyrethroid. Với kết quả trên tác giả đưa ra kết luận muỗi *Ae. aegypti* kháng hoá chất diệt côn trùng là một vấn đề nghiêm trọng đối với các hoạt động kiểm soát muỗi và yêu cầu phải có các chiến lược kiểm soát thống nhất, nhằm giúp phòng ngừa hoặc trì hoãn tình trạng kháng temephos ở bọ gậy và kháng hoá chất nhóm Pyrethroid ở muỗi trưởng thành.

#### 4.2. Đặc điểm phân tử liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* truyền bệnh sốt dengue/sốt xuất huyết dengue

Kháng vị trí đích là một trong hai cơ chế kháng hoá chất diệt côn trùng chính ở muỗi *Ae. aegypti*. Kênh natri kiểm soát hiệu điện thế qua khe sinap thần kinh của muỗi là đích mà cả hai nhóm hoá chất diệt côn trùng DDT và Pyrethroid gắn vào. Khi gen mã hoá kênh này (gen *kdr*) có đột biến làm cho hoá chất diệt côn trùng không gắn được vào vị trí đích này nữa, dẫn đến muỗi không bị quỵ hay còn gọi là kháng ngã gục (knock down resistance- *kdr*). Người ta đã phát hiện được đột biến ở vị trí 1016 thuộc exon 21 của gen *kdr* có liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Ae. aegypti* ở châu Mỹ La tinh và châu Á.

Để góp phần làm sáng tỏ cơ sở phân tử của cơ chế kháng vị trí đích của quần thể muỗi *Ae. aegypti* ở Việt Nam, chúng tôi áp dụng các kỹ thuật sinh học phân tử để xác định liệu quần thể muỗi *Ae. aegypti* ở Việt Nam có mang gen kháng *kdr Val1016Gly* hay không, chúng tôi cũng tìm hiểu xem tần suất xuất hiện gen này có liên quan như thế nào với tình trạng kháng ở một số quần thể muỗi tại thực địa.

Chúng tôi đã phát hiện được đột biến gen *kdr Val1016Gly* ở 2 chủng muỗi kháng Pyrethroid tại Việt Nam là HCM2 và BeTr2. Như vậy, ở châu Mỹ La tinh, vị trí 1016 của exon 21 trên gen *kdr*, axit amin thay thế valine là isoleucine (*Val1016Iso*), trong khi ở châu Á và Việt Nam valine lại được thay thế bằng glycine (*Val1016Gly*).

Tiến hành khảo sát đột biến gen *kdr Val1016Gly*, chúng tôi đã phát hiện được 7/10 (70%) chủng muỗi *Ae. aegypti* có mang đột biến gen *kdr Val1016Gly*. Đặc biệt tần suất xuất hiện đột biến *kdr Val1016Gly* rất cao ở chủng muỗi *Ae. aegypti* tại Hà Nội, với 90% số muỗi thử nghiệm có mang đột biến dạng dị hợp tử, 10% còn lại mang đột biến dạng đồng hợp tử. Kết quả này phù hợp với kết quả thử độ nhạy cảm theo phương pháp giấy tẩm hoá chất của WHO, cho thấy muỗi *Ae. aegypti* ở Hà Nội (điểm Thịnh Liệt) đã kháng với permethrin và có khả năng kháng với deltamethrin. Trong khi



đó muỗi *Ae. aegypti* ở Nghệ An (khu vực miền Bắc), còn nhạy cảm với các loại hoá chất diệt nhóm Pyrethroid ở nồng độ thử nghiệm (bảng 3.1), nhưng kết quả khảo sát đột biến gen *kdr Val1016Gly* cho thấy có 3 mẫu muỗi (15%), xuất hiện đột biến ở dạng dị hợp tử (bảng 3.5). Như vậy, phát hiện sớm các alen kháng hoá chất diệt ngay khi nó còn ở tần suất thấp là rất quan trọng. Khi đã phát hiện được alen kháng ở quần thể muỗi tại thực địa mà vẫn tiếp tục sử dụng hoá chất diệt sẽ làm tính kháng phát triển nhanh chóng, nguy cơ xuất hiện chủng muỗi kháng là rất cao. Điều này đã được chứng minh trong nghiên cứu của chúng tôi được trình bày ở bảng 3.4 cho thấy, tần suất xuất hiện gen kháng tăng lên 8,5 lần ở chủng kháng deltamethrin (HCM2) và 16,5 lần ở chủng kháng permethrin (BeTr2) sau 6 thế hệ tiếp xúc liên tục với hoá chất (tương ứng 11,4% so với 97,1 và 5,7% so với 94,3%).

Việc phát hiện một số chủng muỗi *Ae. aegypti* kháng Pyrethroid có đột biến gen *kdr Val1016Gly*, với tần suất xuất hiện không đồng đều giữa các chủng, là những thông tin hữu ích làm sáng tỏ cơ sở di truyền làm phát sinh tính kháng của muỗi *Ae. aegypti* ở Việt Nam, đồng thời làm phong phú thêm bản đồ dịch tễ gen kháng trên thế giới, góp phần xây dựng chiến lược quản lý kháng hoá chất diệt côn trùng có hiệu quả trong phòng chống SD/SXHD.

Tình trạng kháng hoá chất diệt côn trùng do tăng hoạt tính của các enzym giải độc hay còn gọi là kháng chuyển hoá tỏ ra phức tạp hơn nhiều, so với tính kháng hoá chất diệt côn trùng bởi các đột biến ở vị đích hay còn gọi là kháng vị trí đích. Có 3 nhóm enzym chính có khả năng giải độc các hoá chất diệt côn trùng (các enzym glutathione transferase, các enzym carboxylesterase và cytochrome P450). Việc xác định từng enzym riêng biệt có tác dụng giải độc hoá chất diệt côn trùng, sau đó xác định cơ sở di truyền làm tăng hoạt tính giải độc này ở các côn trùng kháng hoá chất diệt là một quá trình lâu dài và phức tạp.

Với những thành tựu trong việc giải mã đầy đủ bộ gen của muỗi, Strode. C và cs. (2008), đã tiến hành nghiên cứu phân tích các gen giải độc

trong bộ gen của muỗi *Ae. aegypti* và phát triển một chip DNA để phát hiện những gen có liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng ở loài muỗi *Ae. aegypti* theo phương pháp microarray. Chúng tôi sử dụng chip DNA này để nghiên cứu phát hiện những gen liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng nhóm Pyrethroid ở một số điểm nghiên cứu.

Kết quả (hình 3.3) cho thấy, khi so sánh mức độ biểu hiện gen giữa chủng nhạy (HCM1) và 2 chủng kháng hoá chất nhóm Pyrethroid (HCM2 và BeTr2), chúng tôi đã phát hiện được 3 gen P450 có mức biểu hiện cao, bao gồm CYP9j8 (HCM2), CYP6M9 và CYP305A6 (BeTr2). Tiếp tục nghiên cứu 2 chủng kháng hoá chất nhóm Pyrethroid (HCM2 và BeTr2) ở thế hệ thứ 8 (F8), phát hiện mức biểu hiện cao của một số gen P450s đặc biệt là gen CYP9, và một số gen ô xy hoá khác. Kết quả này tương tự như kết quả của Strode. C và cs, (2008), khi phân tích vi dãy sơ bộ các gen giải độc ở 2 chủng muỗi *Ae. aegypti* kháng hoá chất nhóm Pyrethroid ở Chiềng Mai, Thái Lan và Isla Mujeres, Mexico, đã phát hiện được hai họ gen P450 CYP9 (trong họ siêu gen cytochrome P450) và GTS Epsilon (trong họ siêu gen glutathione S-transferase), được cho là có góp phần vào tính kháng hoá chất diệt côn trùng ở loài muỗi *Ae. aegypti*. Như vậy, với mức biểu hiện cao của các gen mã hoá enzym P450 CYP9 đã được phát hiện ở những chủng muỗi kháng hoá chất nhóm Pyrethroid ở Việt Nam, gợi ý rằng ngoài cơ chế kháng vị trí đích, kháng chuyển hoá cũng có vai trò làm phát sinh tính kháng hoá chất nhóm Pyrethroid ở một số chủng muỗi tại Việt Nam. Cần tiếp tục nghiên cứu chức năng của các gen này trong việc quyết định tính kháng hoá chất nhóm Pyrethroid nhằm phát triển một kỹ thuật PCR đơn giản để sàng lọc phát hiện sớm các quần thể muỗi kháng Pyrethroid ở thực địa một cách thường qui.

## KẾT LUẬN

### 1. Mức độ và bản đồ kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti* ở một số tỉnh, thành phố Việt Nam, 2006-2009

#### - Khu vực miền Bắc

Muỗi *Aedes aegypti* đã kháng hoặc có khả năng kháng với DDT ở 100% điểm nghiên cứu, với tỷ lệ chết từ 11-97%, nhưng còn nhạy cảm với malathion ở hầu hết các điểm nghiên cứu (15/16 điểm). Muỗi *Aedes aegypti* còn nhạy cảm với cả 3 loại hoá chất thuộc nhóm Pyrethroid (permethrin, deltamethrin, lambda-cyhalothrin) ở tất cả các điểm nghiên cứu của 7 tỉnh khu vực miền Bắc, trừ Hà Nội.

#### - Khu vực miền Trung và Tây Nguyên

Muỗi *Aedes aegypti* kháng với DDT ở 100% điểm nghiên cứu. Nhạy cảm với malathion ở 8 điểm (40%), có khả năng kháng ở 4 điểm (20%) và kháng ở 8 điểm (40%). Kháng hoặc có khả năng kháng với cả 3 loại hoá chất thử nghiệm thuộc nhóm Pyrethroid ở 90% điểm nghiên cứu.

#### - Khu vực miền Nam

Muỗi *Aedes aegypti* kháng hoặc có khả năng kháng với DDT ở 100% điểm nghiên cứu. Nhạy cảm với malathion ở 6 điểm (30%), có khả năng kháng ở 11 điểm (55%), kháng ở 3 điểm (15%). Kháng hoặc có khả năng kháng với 3 loại hoá chất thử nghiệm thuộc nhóm Pyrethroid ở hầu hết các điểm nghiên cứu.

- **Bản đồ kháng DDT:** muỗi *Aedes aegypti* kháng hoặc có khả năng kháng với DDT ở tất cả các điểm nghiên cứu trên phạm vi cả nước.

- **Bản đồ kháng malathion:** mức độ nhạy cảm với malathion của muỗi *Aedes aegypti* ở các khu vực rất khác nhau, khu vực miền Bắc cao hơn các khu vực còn lại và giảm dần từ Bắc vào Nam.

- **Bản đồ kháng với 3 hoá chất thuộc nhóm Pyrethroid (permethrin, deltamethrin và lambda-cyhalothrin):** hầu hết các điểm nghiên cứu ở khu

vực miền Bắc (14/16 điểm) và một số điểm của miền Nam muỗi còn nhạy cảm với 3 hoá chất thuộc nhóm Pyrethroid, trong khi miền Trung và Tây Nguyên hầu hết các điểm muỗi *Aedes aegypti* kháng hoặc có khả năng kháng với 3 loại hoá chất này (17/20 điểm).

## **2. Đặc điểm phân tử liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng của muỗi *Aedes aegypti***

- Phát hiện 2 chủng muỗi *Aedes aegypti* ở thành phố Hồ Chí Minh (HCM2) và Bến Tre (BeTr2) có mang đột biến gen *kdr Val1016Gly*. Khảo sát đột biến gen *kdr Val1016Gly* bằng kỹ thuật HOLA, 7/10 (70%) chủng muỗi nghiên cứu xuất hiện đột biến và chủ yếu ở dạng dị hợp tử (95,7%). Tần suất xuất hiện đột biến gen *kdr Val1016Gly* không đồng đều ở các điểm nghiên cứu, không tương xứng với tình trạng kháng các hoá chất nhóm Pyrethroid phát hiện bằng phương pháp giấy tẩm hoá chất của Tổ chức Y tế Thế giới.

- Gen liên quan đến kháng hoá chất diệt côn trùng theo cơ chế kháng chuyển hoá: 3 gen P450 có mức biểu hiện cao ở chủng muỗi kháng với hoá chất nhóm Pyrethroid, bao gồm CYP9j8 (HCM2), CYP6M9 và CYP305A6 (BeTr2).

## **KHUYẾN NGHỊ**

1. Căn cứ vào mức độ nhạy cảm của muỗi *Aedes aegypti* để lựa chọn hoá chất diệt muỗi hiệu quả nhất trong phòng chống sốt dengue/sốt xuất huyết dengue tại những địa điểm nghiên cứu.
2. Tiếp tục nghiên cứu để xác định toàn diện hơn cơ sở phân tử làm phát sinh tính kháng hoá chất diệt ở các chủng muỗi *Aedes aegypti* khác nhau trên phạm vi cả nước.
3. Hoàn thiện hệ thống giám sát kháng hoá chất diệt bằng phương pháp thử sinh học có hệ thống và sử dụng kỹ thuật phân tử để phát hiện sớm tình trạng kháng, mức độ kháng, góp phần xây dựng chiến lược kiểm soát kháng hoá chất diệt côn trùng tại Việt Nam.

24,1,2,23,22,3,4,21,20,5,6,19,18,7,8,17,16,9,10,15,14,11,12,13