

ỨNG DỤNG PCR ĐA MÔI TRONG NGHIÊN CỨU SEROTYPE CỦA CÁC CHỦNG PHÉ CẦU PHÂN LẬP TỪ TRẺ EM TẠI TRƯỜNG TIỂU HỌC Ở THÁI NGUYÊN, HÀ GIANG, ĐẮK LẮK, BÌNH DƯƠNG NĂM 2020 - 2022

PHẠM VIỆT HÙNG ⁽¹⁾, HOÀNG ĐỨC HẬU ⁽¹⁾, LÊ THỊ LAN ANH ⁽¹⁾,
ĐẶNG MINH PHƯƠNG ⁽²⁾, HOÀNG VĂN TUÂN ⁽²⁾, DMITRIEV A.V. ⁽³⁾,
PCHELIN I.M. ⁽³⁾, KIREEVA A.G. ⁽³⁾, GONCHAROV A.E. ⁽³⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phế cầu (*Streptococcus pneumoniae*) là cầu khuẩn, Gram dương, khu trú tại đường hô hấp. Đây là nguyên nhân chính gây ra nhiều bệnh lý nghiêm trọng như viêm phổi cộng đồng, viêm tai giữa, viêm phổi, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não mủ với tỷ lệ mắc và tử vong cao ở trẻ em dưới 5 tuổi [1, 2, 3]. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), hằng năm có hàng triệu người nhiễm phế cầu, gây ra hàng trăm ngàn ca tử vong, chủ yếu là trẻ em dưới 5 tuổi. Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu đã cho thấy viêm phổi ở trẻ dưới 5 tuổi do căn nguyên phế cầu chiếm tỷ lệ cao. Nghiên cứu trên đối tượng trẻ dưới 5 tuổi bị viêm phổi tại Bệnh viện Nhi Thanh Hoá năm 2020 cho thấy tỷ lệ phân lập phế cầu là 34,5% [4].

Phế cầu có hơn 90 serotype khác nhau, được phân loại dựa trên cấu trúc kháng nguyên polysaccharid. Đây là yếu tố liên quan tới khả năng sinh lớp vỏ nhầy đề kháng thực bào, trốn thoát miễn dịch, tính đề kháng kháng sinh. Đồng thời, phế cầu cũng có khả năng kháng kháng sinh và trốn tránh áp lực vắc-xin nhờ tính linh hoạt qua trung gian tái tổ hợp [2]. Phế cầu có thể biến đổi gen tự nhiên, có được những đặc điểm mới bằng cách lấy DNA trần từ môi trường và kết hợp nó vào bộ gen của nó thông qua tái tổ hợp [3, 5]. Mỗi loại serotype có khả năng gây bệnh và kháng thuốc khác nhau, điều này gây khó khăn trong việc kiểm soát và điều trị các bệnh do phế cầu gây ra [6]. Trong việc xác định serotype của phế cầu, nuôi cấy phân lập kết hợp với phản ứng Quellung được coi là chuẩn vàng. Tuy nhiên phương pháp này cần chuyên gia có kinh nghiệm về vi sinh lâm sàng, cũng như có bộ kháng huyết thanh chuẩn làm tham chiếu. Trong thời gian gần đây, gen *cps* mã hóa cho vỏ polysaccharid của phế cầu đã được nghiên cứu cho xác định serotype bằng các kỹ thuật sinh học phân tử. Các kỹ thuật như PCR đa môi, phổ sinh học, giải trình tự gen *cps* đã đáp ứng được yêu cầu xác định serotype phế cầu, với độ chính xác cao [6, 8, 20]. Trong các kháng sinh điều trị viêm phổi cộng đồng, bao gồm phế cầu, thì erythromycin (macrolid) được chỉ định cho trẻ và người lớn [2, 6]. Nghiên cứu của Đặng Thị Soa giai đoạn 2017 - 2022 cho thấy phế cầu có tỷ lệ kháng kháng sinh cao với penicillin G/V, amoxicillin, macrolid [7]. Trong các gen liên quan đề kháng với macrolid thì *ermB* đóng vai trò chính, và được phát hiện với tỷ lệ cao trong chủng phế cầu từ lâm sàng trong các nghiên cứu gần đây [2, 6, 9]. Điều đó khẳng định tầm quan trọng của việc nghiên cứu, giám sát tác nhân gây bệnh phế cầu khuẩn ở Việt Nam để có những khuyến cáo kịp thời trong điều trị và phòng bệnh. Để dự phòng việc phát sinh trường hợp bệnh do phế cầu xâm nhập, tiêm chủng vắc-xin là phương pháp phổ biến và hiệu quả. Để lựa chọn chủng phế cầu phù hợp cho phát triển vắc-

xin, cần có hiểu biết về các serotype phổ biến trong cộng đồng [15, 16]. Hiện tại, các loại vắc-xin được sử dụng ở Việt Nam bao gồm Synflorix (GSK - Bỉ) bao phủ 10 serotype (PCV10): 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F và 23F. Vắc-xin Prevenar 13 (Pfizer - Mỹ) gồm 13 serotype (PCV13): 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F và 23F. Loại Pneumo 23 (Sanofi - Pháp) gồm 23 serotype (PPSV23): 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F. Do vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu xác định serotype của phế cầu phân lập tại cộng đồng ở Thái Nguyên, Hà Giang, Đắk Lắk, Bình Dương năm 2020 - 2022.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

- 108 chủng phế cầu phân lập được từ các mẫu dịch tỵ hầu trẻ em 6 -7 tuổi, thuộc trường tiểu học tại 4 tỉnh Hà Giang (26 chủng), Thái Nguyên (5 chủng), Đắk Lắk (64 chủng) và Bình Dương (13 chủng).

- Thời gian thu dịch tỵ hầu để phân lập chủng: Tháng 12/2020 đến 12/2022.

- Địa điểm thu mẫu: Thành phố Hà Giang, tỉnh Hà Giang; huyện Võ Nhai, tỉnh Thái Nguyên; huyện M'Đrăk, tỉnh Đắk Lắk; huyện Phú Giáo, tỉnh Bình Dương.

- Địa điểm phân tích: Viện Y sinh Nhiệt đới/ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

- Phương pháp phân tích trong phòng thí nghiệm:

Chủng vi khuẩn lưu tại phòng thí nghiệm được nuôi cấy tăng sinh trên môi trường thạch máu, điều kiện khí trường 5% CO₂, nhiệt độ 37°C, trong 12 - 24 giờ. Khuẩn lạc phế cầu được tách chiết ADN theo hướng dẫn của bộ sinh phẩm QIAamp DNA mini Kit của hãng Qiagen. Serotype của chủng phế cầu được xác định bằng kỹ thuật PCR đa môi phát hiện vùng gen *cps*, với bộ môi dựa trên trình tự gốc của Trung tâm kiểm soát dịch bệnh Hoa Kỳ [8] và tác giả Kensuke Nagai, Nhật Bản [9]. Chương trình nhiệt PCR như sau: 95°C trong 1 phút; tiếp theo 35 chu kỳ gồm: 95°C trong 20 giây, 58°C trong 20 giây, 72°C trong 25 giây; Giai đoạn kết thúc: 72°C trong 2 phút, giữ ở 4°C, thực hiện trên máy PCR Eppendorf. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% chứa chất huỳnh quang RedSafe, với hiệu điện thế 90V, trong 45 phút, bằng máy GelDoc.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được nhập số liệu vào phần mềm Excel 2019, phân tích bằng phần mềm IBM SPSS 20.0 theo phương pháp thống kê y sinh học. Kết quả thể hiện dưới dạng:

- Số mẫu (n), tỷ lệ phần trăm (%), và giá trị p.

- So sánh tỷ lệ dùng kiểm định χ^2 Mantel-Haenszel hoặc Fisher-exact, giá trị khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Cha mẹ, người giám hộ của trẻ em 6-7 tuổi được giải thích về mục đích và nội dung của nghiên cứu trước khi thu mẫu, và chỉ tiến hành khi có sự chấp nhận tham gia của cha mẹ/người giám hộ bằng phiếu chấp thuận tham gia nghiên cứu. Thông tin cá nhân về đối tượng nghiên cứu được lưu giữ theo quy định của Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga. Nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức trong Nghiên cứu Y sinh học Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga chấp thuận với mã số 22/2020/VREC, tại văn bản số 4340/CN-HĐĐĐ (18/12/2020), 1099/CN-HĐĐĐ (21/4/2022).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

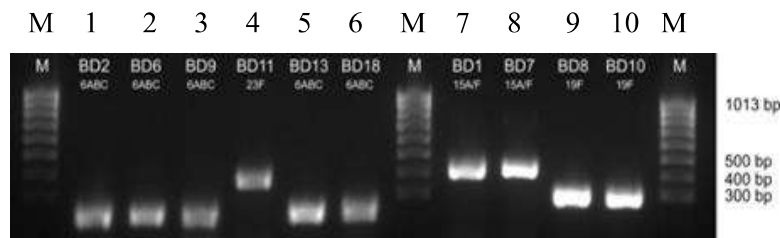
Bảng 1. Kết quả xác định serotype của các chủng phế cầu

Tỉnh Serotype	Hà Giang n	Thái Nguyên n	Bình Dương n	Đắk Lắk n (%)	Tổng n (%)
3	1	0	0	1 (1,6)	2 (1,8)
5	2	0	0	0	2 (1,8)
6ABC	4	1	5	17 (26,6)	27 (25,0)
11A/D	1	1	0	0	2 (1,8)
13	0	0	0	1 (1,6)	1 (0,9)
14	3	0	0	1 (1,6)	4 (3,7)
15A/F	2	0	1	2 (3,1)	5 (4,6)
15B/C	0	0	0	2 (3,1)	2 (1,8)
19A	0	0	0	6 (9,4)*	6 (5,6)
19F	6	2	2	5 (7,8)	15 (13,9)
23A	1	0	0	7 (10,9)	8 (7,4)
23F	0	0	1	5 (7,8)	6 (5,6)
39F	0	0	0	5 (7,8)	5 (4,6)
Xác định	20	4	9	52	85
Chưa xác định	6	1	4	12 (18,8)	23 (21,3)
Tổng	26	5	13	64	108
* p = 0,046, so sánh giữa Đắk Lắk với toàn bộ các chủng còn lại					

Trong số các serotype được phát hiện, 6ABC chiếm tỷ lệ cao nhất (25%), tiếp theo là 19F (13,9%), 23A (7,4%), 19A (5,6%), 23F (5,6%), còn lại các serotype khác chiếm tỷ lệ thấp hơn, như chi tiết trong Bảng 1. Với serotype 19F, có xu hướng phát hiện với tỷ lệ thấp hơn ở Đắk Lắk (7,8%) so với tỷ lệ trung bình (13,9%). Tuy nhiên, tỉnh Đắk Lắk lại có điểm nổi bật là phát hiện được những serotype không có ở tỉnh khác như 13, 15B/C, 19A, 39F; hoặc phát hiện rất ít ở tỉnh khác như 23A, 23F. Sự khác biệt nói trên chưa được xác định rõ lý do phát sinh, và cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn trong tương lai để nắm được nguồn gốc tính đa dạng chủng địa phương. Cũng

tương tự, trên địa bàn thành phố Hà Giang, serotype 5 không phát hiện được ở nơi khác, hoặc serotype 14 ít được phát hiện tại các tỉnh còn lại. Tuy nhiên, do hạn chế của số chủng phân lập tại các địa phương, nên xu hướng khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, mà chỉ mang tính chất mô tả cá biệt của nghiên cứu này.

Về đặc điểm của các serotype, theo một nghiên cứu tại Trung Quốc cho thấy serotype 3 có độc lực cao hơn, còn 14, 19A, 19F và 23F có độc lực thấp hơn [17]. Trong đó serotype 3 có mang đặc thù về lớp vỏ polysaccharid đề kháng mạnh với thực bào và các cơ chế miễn dịch dịch thể, giảm hiệu lực của vắc-xin, đồng thời gây tỷ lệ tử vong cao trên động vật thực nghiệm [17]. Như vậy với các chủng được phân lập trong nghiên cứu này, chỉ có 01 chủng serotype 3 từ Hà Giang, còn lại chiếm đa số là các chủng có độc lực thấp. Điều này cũng phù hợp vì nguồn mẫu là từ trẻ em tại trường tiểu học, có tình trạng sức khỏe bình thường, không có dấu hiệu bệnh lý nhiễm khuẩn hô hấp.



Hình 1. Kết quả điện di phát hiện serotype trên một số mẫu đại diện
M: thang ADN, BD: mẫu từ Bình Dương; 1-10: vị trí các mẫu đại diện;
6ABC, 15A/F, 19F, 23F: tên serotype; Sản phẩm PCR rõ ràng sắc nét.

Hiện tại, còn 23 chủng chưa xác định được serotype, theo các công bố trước đây, chủng phế cầu loại này thường không mang vỏ polysaccharid, là một trong các yếu tố xác định độc lực. Do đó, chủng không xác định được serotype thường ít xâm nhiễm và không gây ra bệnh lý nghiêm trọng [19]. Tuy nhiên, trong tương lai, nghiên cứu cần áp dụng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới để xác định chính xác hơn về đặc điểm serotype của các chủng nói trên.

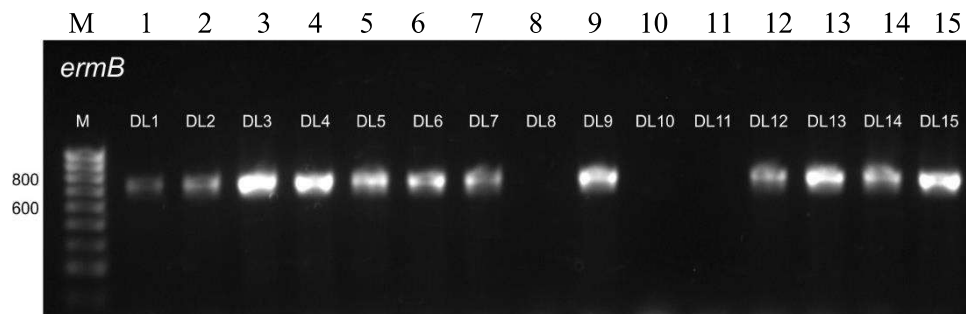
Trong các nghiên cứu khác tại Việt Nam, hầu hết các tác giả phân tích mẫu trên đối tượng trẻ nhập viện vì các nhiễm khuẩn sâu do phế cầu, như viêm phổi, viêm màng não. Do đó, việc so sánh tỷ lệ, loại serotype phế cầu cũng mang tính chất tương đối do đối tượng nghiên cứu khác nhau. Trong một nghiên cứu tiến hành năm 2020-2022 ở 160 trẻ em dưới 5 tuổi, mắc viêm phổi và điều trị tại Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An, cho thấy có 12 type huyết thanh phế cầu đang lưu hành, phổ biến nhất có 19F (69,5%), 19A (7,5%), 9V (4,4%), 9A (3,8%), 6A (2,5%) [1]. Ngoài 6A, 19A, 19F là có sự tương đồng về mức phổ biến so với nghiên cứu của chúng tôi, tại Nghệ An có thêm 9A, 9V, đây có thể là một dấu hiệu về tính khác biệt giữa đối tượng tại cộng đồng so với trẻ nhập viện. Trong một nghiên cứu ở 228 trẻ em mắc viêm màng não mủ, điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương, năm 2015-2021, đã xác định được 17 serotype, phổ biến là 6A/B (27,6%), 14 (20,6%), 23F (13,6%), 19F (6,1%) [10]. Điểm đáng lưu ý là tính phổ biến của 6A/B, 19F giống như nghiên cứu này, nhất là so với mẫu từ Đắk Lắk, gợi ý rằng địa phương này cần lưu tâm trong giám sát và dự phòng dịch bệnh do phế cầu. Trong báo cáo tại Bệnh viện Nhi Trung ương

[10] nhận thấy serotype 14 phổ biến hơn so với nghiên cứu của chúng tôi và nhóm viêm phổi tại Nghệ An, đây cũng là một chỉ dấu về sự khác biệt giữa phế cầu trong viêm màng não mủ với các đối tượng khác.

Trong một nghiên cứu trên trẻ em tại cộng đồng, tại Thái Lan năm 2013 [11], tác giả đã báo cáo các serogroup/serotype phổ biến gồm 6 (6A, 6B, 6C) (46,1%), 23 (23F, 23A, 23B) (14,6%), 19 (19F, 19A, 19B, 19C) (8,5%), 15 (15F, 15A, 15B, 15C) (6,9%), và 14 (6,1%). Như vậy trên đối tượng trẻ em ở khu vực Đông Nam Á gồm Thái Lan và Việt Nam có sự tương đồng về các serotype phổ biến. Nghiên cứu trên quy mô lớn tại Trung Quốc (2022) cho thấy serotype phổ biến nhất là 23F, 19F, 19A, 14 và 3 [17]. Nghiên cứu của tác giả Amani El-Kholy tại Ai Cập xác định được serotype phế cầu phổ biến nhất bao gồm 6ABC, 19F và thêm serotype 5, 18ABC là khác biệt so với khu vực châu Á [6]. Sự khác biệt của các serotype có thể do sự khác biệt tự nhiên theo yếu tố địa lý hoặc do tiêm chủng vắc-xin [12, 13, 14], do đó khi trẻ em hay các đối tượng có tiếp xúc với chủng phế cầu tại khu vực địa lý mới cần lưu ý tiêm phòng bổ sung để giảm nguy cơ phát sinh bệnh nhiễm khuẩn.

Bảng 2. Tỷ lệ phát hiện gen *ermB* trên serotype 14, 15, 19, 23

Serotype	14 (n = 4)	15 (n = 7)	19 (n = 21)	23 (n = 14)	N = 36
Mang <i>ermB</i>	0	3	13	2	17
Tỷ lệ	0	42,9%	61,9%	14,2%	47,2%



Hình 2. Kết quả điện di phát hiện gen *ermB* trên một số mẫu đại diện
M: thang ADN, DL: mẫu từ Đắc Lắc; 1-15: vị trí các mẫu đại diện;

Theo các công bố trước đây, các serotype cũng có liên quan tới tính kháng kháng sinh, trong đó serotype 14, 15, 19, 23 được thông kê nhiều trong các tài liệu khác nhau [17, 18]. Trong nghiên cứu này thì các serotype 14, 15, 19, 23 chiếm tổng số 36 chủng (33,3%), và được phân tích bổ sung bằng phương pháp PCR phát hiện gen *ermB* liên quan tới tính kháng erythromycin, theo quy trình của Kensuke Nagai [9]. Kết quả cho thấy 17/36 (47,2%) chủng có mang gen *ermB*, trong đó serotype 19 có tỷ lệ cao nhất là 61,9%, còn serotype 14 không phát hiện được gen *ermB*. Như vậy trong nghiên cứu này, serotype 19 có liên quan nhiều tới kháng erythromycin. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, do số lượng chủng còn nhỏ, nên số liệu chỉ mang tính chất xu hướng, chưa có ý nghĩa rõ rệt, chi tiết như Bảng 2.

So sánh sự phát hiện của chúng tôi với các vắc-xin PCV10, PCV13, PPSV23 thấy hầu hết đã chứa các serotype phổ biến. Tuy nhiên, serotype 15 A/F và 39F lại không được bao phủ bởi các vắc-xin nói trên. Điều này có lẽ liên quan tới tính độc lực của serotype cụ thể khi được lựa chọn đưa vào vắc-xin, có thể lý giải khi so sánh với các đối tượng mắc bệnh viêm phổi [1], hay viêm màng não mủ [10], cũng không phát hiện được serotype 15F và 39F. Mặc dù vậy, trong tương lai, các nghiên cứu mới vẫn cần được tiến hành để giám sát nguy cơ của các serotype chưa bao phủ bởi vắc-xin.

Nghiên cứu này còn tồn tại một số hạn chế, trong đó có việc địa điểm nghiên cứu chỉ là một huyện trong các tỉnh được lựa chọn thu mẫu. Tuy các tỉnh đã gồm các loại hình hành chính địa lý khác nhau, nhưng chưa đại diện được các vùng miền của Việt Nam. Mặt khác, số chủng phân lập trên thực tế còn hạn chế, do đó cũng ảnh hưởng tới việc thống kê về tỷ lệ các serotype, ngoại trừ Đắk Lắk có số mẫu đủ lớn (64), còn các địa phương khác mới dừng ở mức mô tả hiện trạng. Vì vậy trong tương lai cần có nghiên cứu với quy mô lớn hơn, cũng như áp dụng các phương pháp phân tích gen thế hệ mới để số liệu có tính cập nhật và hiện đại hơn.

4. KẾT LUẬN

Trong giai đoạn 2020-2022, chúng tôi đã xác định được 12 serotype từ 85/108 chủng phế cầu có nguồn gốc từ dịch tỵ hầu trẻ em tại các trường tiểu học ở tỉnh Đắk Lắk, Hà Giang, Bình Dương và Thái Nguyên. Các serotype xác định được bao gồm 3, 5, 6ABC, 11A/D, 13, 14, 15A/F, 15B/C, 19A, 19F, 23A, 23F, 39F. Trong đó, serotype 6ABC (25%) và 19F (13,9%) chiếm tỷ lệ cao nhất. Đắk Lắk là địa phương có tính đa dạng serotype cao nhất và là nơi duy nhất có phát hiện serotype 19A, tỉnh Hà Giang cũng có tính đa dạng cao với đặc thù serotype 5. Trong số các chủng thuộc serotype 14, 15, 19, 23 gen *ermB* liên quan kháng erythromycin được phát hiện nhiều nhất ở serotype 19 (13/19 chủng). Các serotype chủ yếu phát hiện được có thành phần tỷ lệ khá tương đồng với các nước khu vực châu Á nói chung, và đều được bao phủ bởi các vắc-xin hiện có tại Việt Nam. Nghiên cứu còn hạn chế trong quy mô cỡ mẫu và địa điểm nghiên cứu, do đó mới dừng ở mức mô tả hiện trạng chưa có thể nhận định chính xác về xu hướng dịch tễ học. Tuy nhiên nghiên cứu cũng đã nêu được các serotype đại diện lưu hành trong cộng đồng và tương thích với các vắc-xin sẵn có.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Anh Sơn, Dương Đình Chinh, Tăng Xuân Hải, Lê Thị Hồng Hanh, và Trần Văn Anh, *Khảo sát sự phân bố các type huyết thanh của phế cầu gây viêm phổi ở trẻ em dưới 5 tuổi tại Nghệ An năm 2020 -2022*”, Tạp Chí Y học Cộng đồng, 2022, **63**(3). DOI: 10.52163/yhc.v63i8.522
2. Beheshti M, Jabalameli F, Feizabadi MM, Hahsemi FB, Beigverdi R, Emaneini M, *Molecular characterization, antibiotic resistance pattern and capsular types of invasive Streptococcus pneumoniae isolated from clinical samples in Tehran, Iran*, BMC Microbiol, 2020, **20**:167. DOI: 10.1186/s12866-020-01855-y

3. Straume D, Stamsås GA, Håvarstein LS. *Natural transformation and genome evolution in Streptococcus pneumoniae*, Journal of Molecular epidemiology and Evolutionary genetics in Infectious diseases, 2015, **33**:371-380. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.10.020
4. Trịnh Thị Ngọc, *Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và điều trị bị viêm phổi ở trẻ dưới 5 tuổi tại Khoa Hô hấp Bệnh viện Nhi Thanh Hóa*, Tạp Chí Nghiên cứu Và Thực hành Nhi Khoa, 2020, **1**:65-72. DOI:10.25073/jprp.v4i1.146
5. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC, *Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion*, Nature Reviews Microbiology, 2018, **16**(6):355-367. DOI: 10.1038/s41579-018-0001-8
6. El-Kholy A, Badawy M, Gad M, Soliman M, *Serotypes and antimicrobial susceptibility of nasopharyngeal isolates of streptococcus pneumoniae from children less than 5 years old in Egypt*, Infection and Drug Resistance, 2020, **13**:3669-3677. DOI: 10.2147/IDR.S250315
7. Đặng Thị Soa, Vũ Thị Thủy, Trần Thị Oanh, Hồ Thị Dung, Hoàng Thị Thùy Dương, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Hắc Thị Ánh, và Đinh Thị Hào, *Tổng quan về tình hình kháng kháng sinh của một số vi khuẩn thường gây bệnh trên lâm sàng tại Việt Nam từ 2017- 2022*, Tạp Chí Y học Việt Nam, 2022, **519**(1):309-313. DOI: 10.51298/vmj.v519i1.3576
8. Maria da Gloria Carvalho and et al., *Revisiting pneumococcal carriage by use of broth enrichment and PCR techniques for enhanced detection of carriage and serotypes*, Journal of Clinical Microbiology, 2010, **48**(5):1611-1618. DOI: 10.1128/JCM.02243-09
9. Kensuke Nagai, Yumi Shibasaki, Keiko Hasegawa, Todd A. Davies, Michael R. Jacobs, Kimiko Ubukata, Peter C. Appelbaum, *Evaluation of PCR primers to screen for Streptococcus pneumoniae isolates and beta-lactam resistance, and to detect common macrolid resistance determinants*, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001, **48**(6):915-918. DOI: 10.1093/jac/48.6.915
10. Nguyễn Thị Bích Liên và cộng sự, *Đặc điểm dịch tễ và phân tıp huyết thanh các trường hợp viêm màng não do vi khuẩn Streptococcus pneumoniae ở trẻ dưới 5 tuổi điều trị tại bệnh viện Nhi Trung ương năm 2015 - 2021*, Tạp Chí Y học Dự phòng, 2023, **33**(2):120-128. DOI: 10.51403/0868-2836/2023/1041
11. Wangirapan A., Ayuthaya S. I. N., Katip W., Kasatpibal N., Mektrirat R., Anukool U., Oberdorfer P., *Serotypes and vaccine coverage of Streptococcus pneumoniae colonization in the nasopharynx of Thai children in congested areas in Chiang Mai*, Pathogens (Basel, Switzerland), 2020, **9**(12):988. DOI: 10.3390/pathogens9120988

12. Hoàng Quốc Tường, *Chủ động tư vấn chủng ngừa vắc xin phế cầu cho trẻ em*, Hội nghị KH thường niên Liên chi hội Hen-Dị ứng- Miễn dịch lâm sàng TPHCM, 2023.
13. Eric S. Donkor, *Understanding the pneumococcus: transmission and evolution*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2013, **3**. DOI:10.3389/fcimb.2013.00007
14. Jeffrey N. Weiser, Daniela M. Ferreira, and James C. Paton, *Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion*, Nature Reviews Microbiology, 2018, **16**(6):355-367. DOI: 10.1038/s41579-018-0001-8
15. Azarian T. and et al., *The impact of serotype-specific vaccination on phylodynamic parameters of Streptococcus pneumoniae and the pneumococcal pan-genome*, PLOS Pathogens, 2018, **14**(4):e1006966. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006966
16. Duke JA, Avci FY., *Emerging vaccine strategies against the incessant pneumococcal disease*, NPJ Vaccines, 2023, **8**(1):122. DOI: 10.1038/s41541-023-00715-w
17. Zhou M, Wang Z, Zhang L, Kudinha T, An H, Qian C, Jiang B, Wang Y, Xu Y, Liu Z, Zhang H, Zhang J., *Serotype distribution, antimicrobial susceptibility, multilocus sequencing type and virulence of invasive Streptococcus pneumoniae in China: A six-year multicenter study*, Frontier in Microbiology, 2022, **13**(12):798750. DOI: 10.3389/fmicb.2021.798750
18. Sia SB, Lagrada ML, Gayeta JM, Masim MAL, Abad JP, Magbanua MA, Ablola FB., *Serotype distribution and antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae in the Philippines, 2012-2018*, Western Pacific Surveill Response Journal, 2021, **12**(4):1-8. DOI: 10.5365/wpsar-2021.12.4.834
19. Mohale T, Wolter N, Allam M, Ndlangisa K, Crowther-Gibson P, du Plessis M, von Gottberg A., *Genomic analysis of nontypeable pneumococci causing invasive pneumococcal disease in South Africa, 2003-201*, BMC Genomics, 2016, **17**:470. DOI: 10.1186/s12864-016-2808-x
20. Sari, R. F., Fadilah, F., Maladan, Y., Sarassari, R., Safari, D., *A narrative review of genomic characteristics, serotype, immunogenicity, and vaccine development of Streptococcus pneumoniae capsular polysaccharide*, Clinical and experimental vaccine research, 2024, **13**(2):91-104. DOI: 10.7774/cevr.2024.13.2.91

SUMMARY

APPLICATION OF MULTIPLEX PCR IN STUDY ON THE SEROTYPE OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE STRAINS ISOLATED FROM CHILDREN IN PRIMARY SCHOOLS AT THAI NGUYEN, HA GIANG, DAK LAK, BINH DUONG IN 2020 - 2022

Objectives: To identify the serotypes of *Streptococcus pneumoniae* strains those were isolated from children in primary schools at Thai Nguyen, Ha Giang, Dak Lak, and Binh Duong province, in 2020 - 2022. **Methods:** This is a descriptive study that was conducted on 108 *S. pneumoniae* strains isolated from nasopharyngeal samples of children aged 6 to 7 years. Laboratory investigation was including bacterial culture and multiplex PCR for serotyping of *S. pneumoniae* strains. **Results:** 12 serotypes of *S. pneumoniae* were identified among 85/108 strains, of them 23 (21.3%) were non-typeable pneumococci. Definitive serotype was included 3, 5, 6ABC, 11A/D, 13, 14, 15A/F, 15B/C, 19A, 19F, 23A, 23F, and 39F. Serotypes 6ABC (25%) and 19F (13.9%) were the most prevalent, primarily distributed in Dak Lak, Ha Giang, and Binh Duong. Dak Lak is site with the highest diversity of *S. pneumoniae* serotypes and only place where serotype 19A was detected. Ha Giang province also had high diversity with the typical serotype 5. Among strains belonging to serotypes 14, 15, 19, 23, the *ermB* gen related to erythromycin resistance was detected most frequently in serotype 19 (13/19 strains). The mainly detected serotypes have similar proportions to those in Asian countries, and were covered by existing vaccines in Vietnam such as PVC10, PVC13. The study is still limited in sample size and study sites, and needs to be expanded in the future, and new techniques should be applied for further research. **Conclusion:** The study has described the majority serotypes of representative circulating *S. pneumoniae* strains among 6 -7 years old children in Thai Nguyen, Ha Giang, Dak Lak, Binh Duong, during the period 2020-2020. The composition of the serotypes is still compatible with the vaccines available in Vietnam.

Keywords: *S. pneumoniae*, serotype, vaccine, vắc-xin.

⁽¹⁾ Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽²⁾ Trường Đại học Phenika

⁽³⁾ Viện Y học Thực nghiệm Saint Peterburg

Nhận bài ngày 18 tháng 9 năm 2024

Phản biện xong ngày 06 tháng 11 năm 2024

Hoàn thiện ngày 11 tháng 12 năm 2024

Liên hệ: **Phạm Việt Hùng**

Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 63 đường Nguyễn Văn Huyền, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

Điện thoại: 0989099086; Email: vhnhi44@gmail.com