ISSN 0868 - 2836

Tạp chí
Y HỌC DỰ PHÒNG

Vietnam Journal of Preventive Medicine

Tập 32, số 3 - 2022

HỘI Y HỌC DỰ PHÒNG VIỆT NAM XUẤT BẢN

HỘI Y HỌC DỰ PHÒNG VIỆT NAM
Tạp chí Y học dự phòng
Tập 32, số 3 - 2022
Diễn đàn khoa học của Hội Y học dự phòng Việt Nam

Tất cả các Công trình nghiên cứu và Tổng quan in trong Tạp chí Y học dự phòng đã được phản biện độc lập bởi 2 nhà khoa học

Mục lục - Contents **Trang - Page**

►CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU – ORIGINAL PAPERS

1. **Khảo sát độ tập trung fluor trong các nguồn nước uống ở Việt Nam giai đoạn 2016 - 2018** 9
The survey on fluoride concentration in drinking water resources in Vietnam, 2016 - 2018
Nguyễn Thị Hồng Minh, Trịnh Đình Hải, Nguyễn Ngọc Bích

2. **Một số yếu tố liên quan đến sự hài lòng của cha mẹ trẻ sinh non với chất lượng dịch vụ y tế tại bệnh viện Nhi Trung ương và Nhi Thanh Hóa, năm 2018** 15
Some factors associated to the satisfaction of preterm infants' parents with the quality of health services in Vietnam National Children's Hospital and Thanh Hoa Pediatric Hospital, 2018
Nguyễn Thị Bình An, Nguyễn Thị Huyền Trang

3. **Thực trạng suy giảm nhận thức ở người cao tuổi sống một mình tại huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế năm 2021** 24
Prevalence of cognitive impairment and related factors among the elderly living alone in Phu Vang district, Thua Thien Hue province in 2021
Đặng Thị Thanh Thủy, Lê Thị Hà, Lê Ngọc Ánh, Nguyễn Thị Xuân Thủy, Trần Thị Mai Liên

4. **Kiến thức, thái độ và thực hành liên quan đến kháng sinh và kháng kháng sinh trong chăn nuôi tại xã Yên Nam, tỉnh Hà Nam, 2019** 33
Knowledge, Attitude and Practices on Antibiotic and Antibiotic Resistance in Livestock in Yen Nam commune, Ha Nam Province, 2019
Nguyễn Thị Lan Phương, Trần Thị Mai Hưng, Lương Minh Tân, Phạm Duy Thái, Khương Thị Tâm, Nguyễn Thị Minh, Phạm Thị Thanh Duyên, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Trần Hiển, Đặng Đức Anh, Nguyễn Thị Thi Thơ, Trần Huy Hoàng

5. **Bước đầu đánh giá hiệu quả giảm triệu chứng và nồng độ vi rút cúm ở trẻ em viêm đường hô hấp khi sử dụng sản phẩm LiveSpo® Navax dạng xịt chứa bào tử lợi khuẩn *Bacillus*** 47
Effective symptomatic treatment and reduction of influenza viral load in children by nasal - spraying *Bacillus* spore probiotics (LiveSpo Navax)
Phùng Thị Bích Thủy, Trần Thanh Tú, Bùi Thị Huyền, Nguyễn Thị Thanh Phúc, Vũ Thị Tâm, Ngô Thị Phương Nga, Nguyễn Thị Mai, Đỗ Thị Hậu, Ngô Hồng Thủy, Phạm Thị Thu Trang, Đỗ Thu Hường, Bùi Thị Phương Anh, Nguyễn Thị Vân Anh, Nguyễn Hoà Anh

6. **Tình trạng dinh dưỡng và một số liên quan của trẻ dưới 2 tuổi nhiễm khuẩn hô hấp cấp tại Bệnh viện Sản nhi và Bệnh viện đa khoa tỉnh Vĩnh Phúc năm 2021** 59
Nutritional status of children under 2 years old with acute respiratory infection in Vinh Phuc Hospital in 2021
Nguyễn Thị Hoa, Phạm Văn Phú

7. **Kiến thức và thực hành tuân thủ điều trị dự phòng trước phơi nhiễm HIV bằng thuốc ARV (PrEP) ở nhóm nam quan hệ tình dục đồng giới tại tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu năm 2021 – 2022** 68
Knowledge and adherence to HIV pre-exposure prophylaxis with ARVs (PrEP) among men who have sex with men in Ba Ria Vung Tau province in 2021 - 2022
Nguyễn Thế Lâm, Lê Bảo Châu

8. **Tình trạng nhiễm *Escherichia coli* kháng colistin trên người khỏe mạnh tại Thái Bình và một số đặc điểm di truyền gen m*cr* ở các chủng vi khuẩn phân lập** 77
Colistin-resistant *Escherichia coli* infection in healthy residents in Thai Binh and some genetic characteristics of the *mcr* gene of isolated bacteria
Nguyễn Nam Thắng, Trần Thị Hòa, Phan Ngọc Quang, Khổng Thị Điệp

9. **Tình hình trầm cảm, lo âu, stress ở học sinh trung học phổ thông thành phố Huế năm học 2020 - 2021** 84
Depression, anxiety, stress among high school students in Hue city, 2020 - 2021
Ngô Thị Diệu Hường, Đào Thị Hồng Diễm, Võ Nữ Hồng Đức, Phùng Thị Thu Thủy, Tôn Thất Cảnh Trí

10. **Thực trạng xử lý chất thải nguy hại tại hộ gia đình của người dân thành phố Huế năm 2020** 92
Hazardous waste treatment by Hue city residents in 2020
Nguyễn Thị Cẩm Nhi, Cao Bá Thiên, Võ Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Hoàng Phương Yến, Nguyễn Minh Tú, Nguyễn Thị Nhật Hòa, Ngô Thị Diệu Hường

11. **Đánh giá nguy cơ lây nhiễm SARS-COV-2 tại hộ gia đình của ba tỉnh khu vực miền Trung năm 2021** 100
Risk assessment of SARS-CoV-2 in households of 3 provinces in central Vietnam, 2021
Đào Thế Anh, Nguyễn Kỳ Nhật Minh, Nguyễn Thị Miên Hạ, Hà Tuấn Anh, Lê Văn Đài, Nguyễn Đình Lượng, Lê Hoàng Thiệu, Hoàng Tiến Thanh, Lê Xuân Huy, Đỗ Thái Hùng

12. **Phân bố tác nhân gây nhiễm khuẩn bệnh viện và kháng kháng sinh của một số vi khuẩn tại bệnh viện K cơ sở Tân Triều, năm 2018 - 2020** 108
Distributions of nosocomial infection and antibiotic resistance of common bacteria at national cancer hospital - Tan Trieu campus, 2018-2020
Nguyễn Thị Ngọc Bích, Trần Thị Thoa, Trần Tuyết Mai, Bùi Thanh Thúy, Lê Anh Tuấn

13. **Kết quả thử nghiệm về khóa học trực tuyến quản lý điều trị tăng huyết áp và đái tháo đường cho cán bộ y tế xã** 116
Results of the pilot testing of a E-learning course on hypertension, and diabetes management for commune health workers
Trần Văn Đình, Nguyễn Thị Thi Thơ, Lê Văn Hiếu, Phan Thành Huy, Nguyễn Thị Thu Hà, Tạ Ngọc Hà, Nguyễn Thị Thanh Thủy, Lê Thị Hương Ly, Tạ Minh Khuê, Lại Đức Trường, Dương Thị Hồng

14. Thực trạng và một số yếu tố liên quan đến sức khỏe tâm thần của học sinh Trường trung học phổ thông Cờ Đỏ, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An năm 2022 **126**
Mental health status and related factors among students of Co Do high school, Nghia Dan district, in Nghe An province in 2022
Lê Minh Hoàng, Vi Thị Hương Thảo, Nguyễn Hồng Nhung, Nguyễn Thị Thu Thủy, Dương Nhật Ánh, Nguyễn Viết Hoàng, Nguyễn Thị Nga, Lê Anh Tuấn

15. Thực trạng tham gia và sử dụng thẻ bảo hiểm y tế hộ gia đình tại thành Phố Gia Nghĩa, tỉnh Đắk Nông, 2017 - 2019 **135**
Purchase and utilization of family-based health insurance in Gia Nghia city, Dak Nong province, 2017 - 2019
Phạm Văn Hậu, Trần Thị Lan Hương, Võ Thị Ái Liễu

16. Thực trạng sử dụng dịch vụ chăm sóc và điều trị một số bệnh không lây nhiễm của người cao tuổi tại trạm y tế phường 16, quận Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh, năm 2022 **142**
The situation of using care and treatment services at the health station for some non-communicable diseases of the elderly in Ward 16, Go Vap district, Ho Chi Minh City, in 2022
Hà Thị Lệ Hằng, Nguyễn Trung Hòa, Phạm Quỳnh Anh, Phan Thị Thúy Chinh

DOI: https://doi.org/10.51403/0868-2836/2022/638

BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ GIẢM TRIỆU CHỨNG VÀ NỒNG ĐỘ VI RÚT CÚM Ở TRẺ EM VIÊM ĐƯỜNG HÔ HẤP KHI SỬ DỤNG SẢN PHẨM LIVESPO® NAVAX DẠNG XỊT CHỨA BÀO TỬ LỢI KHUẨN *BACILLUS*

Phùng Thị Bích Thủy[1], Trần Thanh Tú[1], Bùi Thị Huyền[2,3], Nguyễn Thị Thanh Phúc[1], Vũ Thị Tâm[1], Ngô Thị Phương Nga[1], Nguyễn Thị Mai[1], Đỗ Thị Hậu[1], Ngô Hồng Thủy[1], Phạm Thị Thu Trang[1], Đỗ Thu Hường[1], Bùi Thị Phương Anh[2,3], Nguyễn Thị Vân Anh[3], Nguyễn Hoà Anh[2]*

[1]Bệnh viện Nhi Trung ương, Hà Nội

[2]Trung tâm Bào tử lợi khuẩn, Công ty TNHH ANABIO R&D, Hà Nội

[3]Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Hà Nội

TÓM TẮT

Vi rút cúm là nguyên nhân phổ biến gây bệnh đường hô hấp ở trẻ em và phương pháp điều trị chủ yếu là điều trị triệu chứng. Chúng tôi thực hiện thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng mù đánh giá hiệu quả hỗ trợ điều trị của LiveSpo® Navax chứa > 5 tỷ bào tử lợi khuẩn *Bacillus* dạng xịt trên trẻ viêm đường hô hấp do vi rút cúm tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Tổng cộng 30 bệnh nhân nhiễm cúm (n = 15/nhóm x 2 nhóm: Navax và chứng) tham gia nghiên cứu, được xịt mũi 3 lần/ngày kết hợp với thuốc điều trị thường quy tại bệnh viện. Kết quả cho thấy thời gian khỏi các triệu chứng sốt và xuất tiết mũi họng ở bệnh nhân nhóm Navax sớm hơn nhóm chứng tương ứng là 1 và 2 ngày, tương đương với hiệu quả điều trị tăng lên khoảng 53 - 90% ở nhóm Navax so với nhóm chứng. Sau 2 ngày điều trị, tải lượng vi rút cúm của nhóm Navax giảm khoảng 900 lần, hiệu quả hơn nhóm chứng 60 lần (nhóm chứng giảm 15 lần). Nhóm Navax không có dấu hiệu bất thường nào về rối loạn nhịp thở hay kích ứng niêm mạc mũi. Nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng bước đầu chứng minh được tính an toàn, giảm triệu chứng và nồng độ vi rút của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* dạng xịt mũi trên trẻ nhiễm vi rút cúm.

Từ khóa: LiveSpo® Navax; bào tử lợi khuẩn *Bacillus*; vi rút cúm; nhiễm trùng hô hấp; trẻ em

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi rút cúm, bao gồm cúm A (A/H1, A/H3, A/H5) và cúm B, có bản chất là ARN sợi đơn, là tác nhân gây bệnh phổ biến nhất gây nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính ở trẻ em, bao gồm bệnh viêm mũi họng, viêm phổi, viêm thanh quản, viêm tiểu phế quản, sốt cao, xuất tiết mũi họng. Bệnh có thể tiến triển nặng và nhanh với các dấu hiệu suy hô hấp khó thở, ran rít và ran ẩm [1, 2]. Vi rút cúm lưu hành quanh năm, với các đợt bùng phát hàng năm ở Việt Nam thường đỉnh điểm vào những thời điểm giao mùa đông – xuân (tháng 11 - 12). Trên thế giới, hàng năm bệnh cúm lây nhiễm cho khoảng 20% trẻ em [3]. Sự biến đổi khí hậu là một trong những nguyên nhân gây ra sự sai khác về mức độ và thời gian nhiễm đối với cả vi rút cúm [4]. Theo ước tính của CDC Hoa Kỳ, trong năm 2015 có 17,2 tỉ lượt ca mắc nhiễm khuẩn hô hấp trên trên toàn thế giới. Vi rút cúm rất dễ lây lan bằng cách xâm nhập qua mắt, mũi hoặc miệng, qua không khí theo giọt bắn đường hô hấp của người bị nhiễm bệnh như ho, hắt hơi

*Tác giả: Nguyễn Hòa Anh
Địa chỉ: Công ty TNHH ANABIO R&D
Điện thoại: 0776 969 825
Email: nguyenhoaanhbio@gmail.com

Ngày nhận bài: 22/04/2022
Ngày phản biện: 02/05/2022
Ngày đăng bài: 20/05/2022

hoặc nói chuyện [5, 6]. Theo số liệu báo cáo gần đây (11/2020), số lượng trẻ nhập viện do viêm đường hô hấp tại Bệnh viện Nhi Trung ương (Hà Nội) tăng cao gấp 2 lần bình thường, trong số này gần 10% là trẻ nhiễm vi rút cúm. Riêng tháng 11/2020 có khoảng 500 bệnh nhân nhiêm cúm nhập viện và tăng 10 - 20% so với trước. Trẻ thường nhập viện với biểu hiện khó thở, suy hô hấp, và biến chứng có thể gặp là viêm phổi, viêm tiểu phế quản, viêm tai giữa hay tái nhiễm vi rút [7].

Liên quan tới phòng ngừa và điều trị cúm, vắc xin dự phòng cúm đã được sử dụng từ nhiều năm nay và thuốc ostelamivir đạt được hiệu quả điều trị tốt. Tuy nhiên, vi rút cúm thường xuyên biến đổi, vì vậy đòi hỏi phải tiêm vắc xin nhắc lại hàng năm và vắc xin phòng ngừa cúm có thể gây ra các phản ứng phụ không mong muốn [8]. Việc điều trị bằng ostelamivir trên trẻ em cũng được khuyến cáo hạn chế cho những trường hợp nặng vì nguy cơ tác dụng phụ [9, 10]. Gần đây, điều trị dự phòng ngày càng được tăng cường, trong đó probiotic được coi là ứng cử viên có triển vọng trong việc hỗ trợ điều trị và giảm sự lệ thuộc vào kháng sinh [11, 12]. Probiotic là những vi sinh vật an toàn và có lợi cho sức khỏe của con người. Các nghiên cứu gần đây cho thấy bên cạnh vai trò là lợi khuẩn cho đường tiêu hoá, probiotic còn có khả năng phòng ngừa viêm nhiễm đường hô hấp do khả năng hấp phụ và bất hoạt vi rút, sinh tổng hợp các chất ức chế sự phát triển của vi rút, và kích thích hệ thống miễn dịch của người bắt giữ các vi rút xâm nhập. Tuy vậy, các sản phẩm probiotic phần lớn sử dụng qua đường uống và tác dụng thu được đối với bệnh đường hô hấp thường chậm, đạt được sau 3 - 12 tháng [13].

Sản phẩm probiotic LiveSpo® Navax dạng xịt mũi, chứa 5 tỷ bào tử sống của hai chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* ANA4 và *B. clausii* ANA39/5mL, đã được nhóm nghiên cứu của chúng tôi thử nghiệm trên trẻ em nhiễm vi rút hợp bào hô hấp (RSV) và kết quả cho thấy có tác dụng rút ngắn thời gian điều trị triệu chứng 1 ngày và giảm nồng độ RSV xuống 300 lần ở ngày thứ 3 của quá trình điều trị [14]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục đánh giá tính an toàn và tác dụng hỗ trợ điều trị triệu chứng viêm đường hô hấp ở trẻ em nhiễm vi rút cúm đang điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương của LiveSpo® Navax trong 6 ngày điều trị. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng đánh giá mức độ giảm nồng độ vi rút cúm và sự có mặt của vi khuẩn *B. subtilis* ANA4 và *B. clausii* ANA39 trong dịch tỵ hầu của bệnh nhân.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân nhi có độ tuổi từ 4 - 60 tháng tuổi, tình nguyện tham gia nghiên cứu, được chẩn đoán viêm tiểu phế quản có kết quả dương tính vi rút cúm.

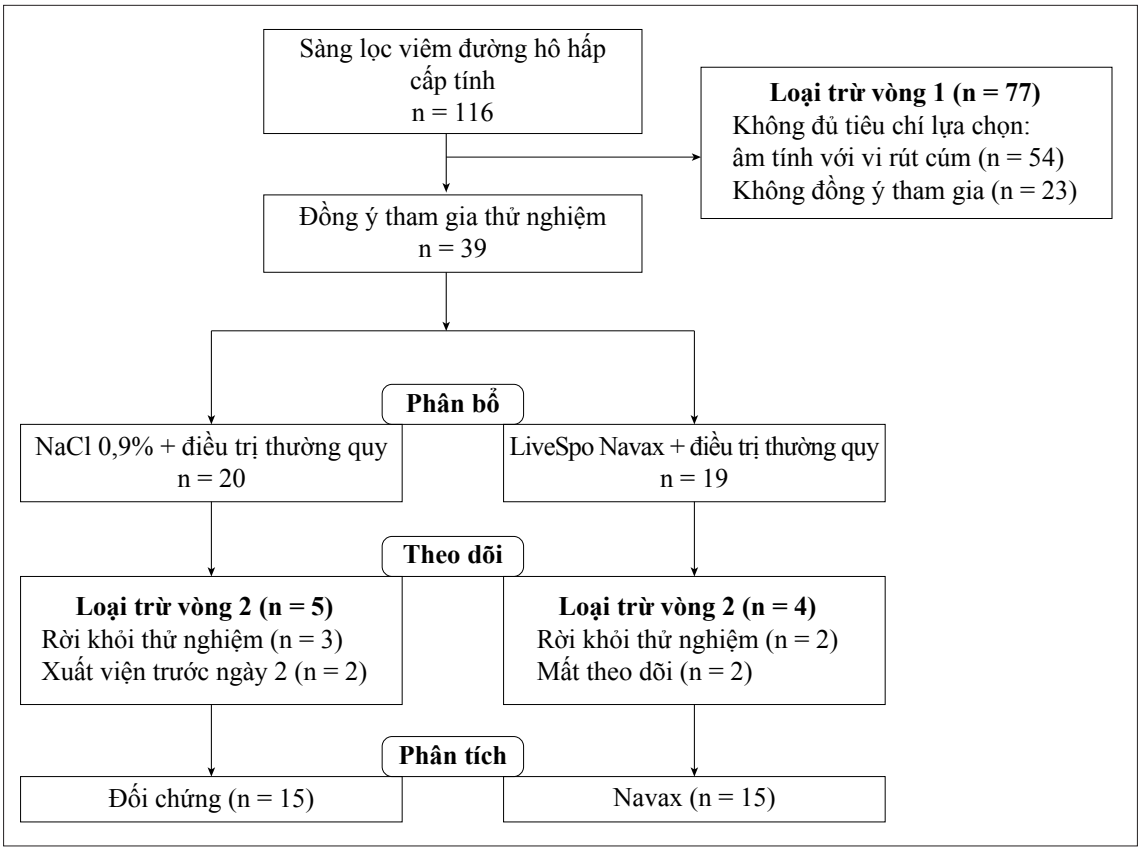
Sản phẩm LiveSpo® Navax chuyên dụng (Số XNCB: 210001337/PCBA-HN) của công ty TNHH LiveSpo® Pharma được bào chế dưới dạng hỗn dịch nước muối sinh lý NaCl 0,9% chứa bào tử lợi khuẩn của hai chủng vi khuẩn *B. subtilis* ANA4 và *B. clausii* ANA39 ở dạng tinh khiết, nồng độ cao 5 tỷ CFU/5mL, sử dụng ở dạng xịt vào mũi, họng.

2.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thưc hiện tại Trung tâm Quốc tế S và Khoa Sinh học phân tử các bệnh truyền nhiễm, Bệnh viện Nhi Trung ương trong thời gian từ ngày 15/3/2021 đến 30/12/2021.

2.3 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng mẫu mù trên hai nhóm bệnh nhân được trình bày theo sơ đồ ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ thu thập, theo dõi, và phân tích kết quả của bệnh nhân tham gia nghiên cứu

2.4 Cỡ mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu của thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên hai nhóm được tính toán dựa trên kỳ vọng LiveSpo® Navax làm giảm các triệu chứng lâm sàng của viêm đường hô hấp do nhiễm cúm hiệu quả hơn 35%, trong đó 95% bệnh nhân sử dụng kết hợp LiveSpo® Navax (nhóm Navax) so với 60% bệnh nhân trong nhóm đối chứng không còn triệu chứng ở ngày thứ 3 hoặc thứ 4 của can thiệp (tùy theo triệu chứng). Dựa trên giả thuyết này, kích thước mẫu nghiên cứu được tính toán dựa trên công thức sau:

$$n = \frac{\left[z_\alpha\sqrt{2p(1-p)} + z_\beta\sqrt{p_1(1-p_1) + p_2\,(1-p_2)}\right]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Trong đó Z_α = 1,96 (α = 0,05); Z_β = 0,84 (power level = 0,8); p_1 của nhóm đối chứng = 0,60, p_2 của nhóm Navax = 0,95, p = (p_1 + p_2)/2 = 0,775; n_1 của nhóm đối chứng and n_2 của nhóm Navax là bằng nhau, n_2/n_1 = 1. Cỡ mẫu ước tính cần thiết cho mỗi nhóm là 21 x 2 nhóm, tương đương với 42 bệnh nhân nhiễm vi rút cúm cần thu thập. Do tỷ lệ trẻ nhập viện tại Trung tâm Quốc tế S, Bệnh viện Nhi Trung ương do các bệnh hô hấp cấp tính có kết quả dương tính nhiễm vi rút cúm là khoảng 30%, ước tính có khoảng 116 bệnh nhân tham gia sàng lọc. Tuy nhiên, thời điểm nghiên cứu trùng với đại dịch COVID-19 nên số lượng bệnh nhân nhiễm cúm nhập viện rất ít, tổng cộng chỉ có 39 bệnh nhân được thu thập, trong đó 20 và 19 bệnh nhân được phân chia ngẫu nhiên tương ứng vào nhóm đối chứng và nhóm Navax. Trong quá trình tham gia nghiên cứu, một số bệnh nhân đã bỏ giữa chừng và số bệnh nhân tham gia tới ngày cuối cùng của thử nghiệm là 15 bệnh nhân/mỗi nhóm. Sơ đồ nghiên cứu được mô tả theo hình 1.

2.5 Phương pháp chọn mẫu

Bệnh nhân được lựa chọn và chia ngẫu nhiên vào 2 nhóm bằng cách bốc thăm số 0 và 1: Nhóm bốc thăm số 0 thuộc nhóm đối chứng sử dụng nước muối sinh lý NaCl 0,9% (gọi tắt là nhóm chứng) và nhóm bốc thăm số 1 thuộc nhóm thử nghiệm (đặt tên là nhóm Navax) sử dụng LiveSpo® Navax.

2.6 Biến số nghiên cứu

Các biến số nghiên cứu bao gồm:

Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: Nhóm tuổi, giới tính;

Đặc điểm lâm sàng trước khi điều trị: Xuất tiết mũi họng, sốt, mạch nhanh, nhịp thở nhanh;

Đặc điểm cận lâm sàng: Chụp X-quang tim phổi, các chỉ số huyết học, CRP, nồng độ vi rút cúm.

2.7 Quy trình nghiên cứu

Chẩn đoán nhiễm vi rút cúm từ bệnh phẩm dịch ngoáy tỵ hầu bằng phương pháp test nhanh sử dụng que thử "BD Veritor System for rapid ditection of Flu A + B (Becton Dickison), xét nghiệm máu, chỉ số protein phản ứng C (CRP) và số lượng bạch cầu giúp xác định mức độ viêm nhiễm, chụp X-quang tim phổi ở ngày 0 được thực hiện tại Trung tâm Quốc tế S, Bệnh viện Nhi Trung ương; chẩn đoán vi rút cúm bằng phương pháp real time RT-PCR TaqMan Probe từ dịch tỵ hầu theo xét nghiệm thường quy tại khoa Sinh học phân tử các bệnh truyền nhiễm - Bệnh viện Nhi Trung ương (xét nghiệm đạt chứng nhận theo tiêu chuẩn ISO 15189).

Nghiên cứu được tiến hành song song trên 2 nhóm bệnh nhân được phát thuốc xịt LiveSpo® Navax và nước muối sinh lý NaCl 0,9% mã hoá dưới dạng mẫu mù để đảm bảo tính khách quan của nghiên cứu. Sản phẩm được chỉ định cho bệnh nhân sử dụng ngay sau khi phân nhóm và được điều trị song song cùng với phác đồ thông thường ở bệnh viện. Vì sản phẩm LiveSpo® Navax không mùi không vị và được đựng trong ống xịt nhựa đục nên điều dưỡng viên khi xịt cho bệnh nhân không phân biệt được probiotic và giả dược. Điều dưỡng được hướng dẫn sử dụng xịt với liều lượng khoảng 50µl/lần x 3 lần/ngày trực tiếp vào hốc mũi liên tục trong 6 ngày sản phẩm xịt song song với các thuốc điều trị thường quy tại bệnh viện bao gồm các thuốc uống: paracetamol hạ sốt (Efferegant®); long đờm Carbocysteine (Carbothiol®); Oseltamivir phosphate kháng vi rút (Tamiflu®) hay thuốc kháng sinh, như cefotaxim (Goldcefo®), Amoxicillin/axit clavulanic (Augmentin®) trong trường hợp bệnh nhân có bội nhiễm vi khuẩn dựa trên kết quả thử nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh. Như vậy, mỗi 50µl LiveSpo® Navax chứa $\geq 2,5 \times 10^8$ CFU tổng cộng *B. subtilis* ANA4 và *B. clausii* ANA39. Trong quá trình điều trị, bệnh nhân được theo dõi các triệu chứng lâm sàng điển hình của viêm đường hô hấp do cúm bao gồm: Xuất tiết mũi, sốt, ran rít, ran ẩm, mạch, nhịp thở hàng ngày trong 6 ngày; bệnh nhân ở 2 nhóm được lấy mẫu như nhau bằng que tăm bông lấy mẫu dịch tỵ hầu PurFlock Ultra (Puritan, Mỹ). Sau đó tăm bông được ngâm vào 1ml nước muối sinh lý NaCl 0,9% và vortex đều để thu được dịch chứa vi rút cúm trong dịch tỵ hầu ở 2 thời điểm: Ngày 2 (sau 48 giờ kể từ khi điều trị thường quy kết hợp với xịt sản phẩm) so sánh với ngày 0 (thời điểm bắt đầu tham gia nghiên cứu) bằng phương pháp real time RT-PCR sử dụng Taqman probe. Sự có mặt của *Bacillus subtilis* ANA4 và *Bacillus clausii* ANA39 trong dịch tỵ hầu ở ngày 2 được phát hiện bằng phương pháp real time PCR SYBR Green sử dụng mồi đặc hiệu với *B. subtilis* và *B. clausii*, đã được tối ưu theo chuẩn ISO 17025 tại Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên. Thông tin trình tự mồi và probe đặc hiệu chẩn đoán cúm, *B. subtilis, B. clausii*, và gen nội chuẩn (β-actin) được trình bày theo bảng 1.

Hiệu quả của LiveSpo® Navax được đánh giá dựa trên các kết quả xét nghiệm bán định lượng mức độ giảm tải lượng vi rút cúm sau 2 ngày điều trị và mức độ giảm các triệu chứng trên lâm sàng và cận lâm sàng. Trong đó, mức độ giảm tải lượng vi rút cúm được tính theo công thức $2^{\Delta Ct}$ trong đó $\Delta C_t = C_t$ ngày 2 - C_t ngày 0 [15]; C_t là giá trị chu kỳ ngưỡng của real

time RT-PCR Taqman probe đặc hiệu cho các chủng vi rút cúm. Sự có mặt nhiều hay ít của *B. subtilis* và *B. clausii* trong dịch tỵ hầu được thể hiện bởi giá trị C_t của real time PCR SYBR Green đặc hiệu cho hai loài lợi khuẩn này. Để khẳng định tín hiệu huỳnh quang SYBR Green tạo ra từ phản ứng là do sản phẩm PCR đặc hiệu, đường cong nóng chảy (Metlting Curves) và nhiệt độ nóng chảy (Melting temperature, T_m) của từng mẫu được phân tích và tính toán, và so sánh với T_m của mẫu chuẩn *B. subtilis* (85°C ± 1) và *B. clausii* (84°C ± 1).

Bảng 1. Cặp mồi và probe đặc hiệu cho vi rút cúm, gen nội chuẩn của real-time RT-PCR Taqman probe (CDC) và cặp mồi cho *B. subtilis* và *B. clausii* của real-time PCR SYBR Green

Mồi/ mẫu dò	Trình tự (5' - 3')	Lượng (pmol/pứ)
Cúm		
A-Fw	GAC CRA TCC TGT CAC CTC TGA C	5
A-Rv	AGG GCA TTY TGG ACA AAK CGT CTA	5
A-FAM probe	/56FAM/-TGC AGT CCT CGC TCA CTG GGC ACG-(BHQ1)	1
B-Fw	TCC TCA ACT CAC TCT TCG AGC G	5
B -Rv	CGG TGC TCT TGA CCA AAT TGG	5
B-JOE probe	(JOE)-CCA ATT CGA GCA GCT GAA ACT GCG GTG-(BHQ1)	1
H1N1-Fw	AAG CAA CAA AAA TGR AGG CAA TAC TA	5
H1N1-Rv	TCT GTT GAA TTG TTC GCA TGA TAA	5
H1N1-FAM probe	/56FAM/-TTR CAA CCG CAA ATG CAG ACA CAT TAT G-(BHQ1)	1
H3N2-Fw	AAG CAT TCC YAA TGA CAA ACC	5
H3N2-Rv	ATT GCR CCR AAT ATG CCT CTA GT	5
H3N2-JOE probe	(JOE)-CAG GAT CAC ATA TGG GSC CTG TCC CAG-(BHQ1a)	1
H5N1-Fw	ACATGCCCAAGACATACTGGAA 130	5
H5N1-Rv	GAATTCGTCACACATTGGGTTTC	5
H5N1-Cy5 probe	Cy5/CAC ACA ACG/TAO/GGA AGC TCT GCG ATC T/3IABkFQ/	1
Nội chuẩn		
β-actin-Fw	GATGTCCACGTCACACTT CA	5
β-actin-Rv	ATGCCTGAGAGGGAAATGAGGGC	5
β-actin-ROX probe	5'-HEX-ATGCCTGAGAGGGAAATG AGG GC-BHQ2-3	1
Bacillus		
subtilis-Fw	ACCATTGCGGTAGGTGCG	5
subtilis-Rv	GCGTTTGTCCAAGTCGGG	5
clausii-Fw	AATTTTTACCGCCCCTCAAG	5
clausii-Rv	ACTTTTGGAACATGCCGAAC	5

Các thông tin chung, tiền sử nhập viện, dinh dưỡng, tiền sử dùng thuốc… của bệnh nhân được thu thập bằng bộ câu hỏi trong hồ sơ bệnh án của bệnh nhân. Ngoài ra, các triệu chứng lâm sàng trong 6 ngày điều trị (xuất tiết mũi họng, nhiệt độ cơ thể, mạch và nhịp thở, nôn và tiêu chảy (nếu có), độ bão hoà oxy trong máu SpO_2), và các chỉ số cận lâm sàng ở các mốc thời gian nhất định (X-quang tim phổi, bạch cầu tổng số, CRP, C_t của virút cúm, lợi khuẩn *B. subtilis,*

B. clausii) được theo dõi và được điền vào hồ sơ bệnh án của bệnh nhân. Các thông tin trong bệnh án của từng bệnh nhân được điền vào một bảng tổng hợp dữ liệu của các bệnh nhân tham gia nghiên cứu trên file excel để phục vụ xử lý và phân tích số liệu.

2.8 Xử lý và phân tích số liệu

Phân tích và xử lý số liệu theo phương pháp thống kê y học. Phân tích bảng sự khác biệt về nhân khẩu học và các đặc điểm lâm sàng/cận lâm sàng trước điều trị của 2 nhóm bằng cách sử dụng kiểm định Fisher's Exact Test khi giá trị kỳ vọng của bất kỳ biến nào dưới 5 (Bảng 2). Phân phối của dữ liệu được xác định bằng kiểm định Nomality test và QQ plot. Sử dụng Mann-Whitney test để kiểm định sự khác biệt giá trị median giữa các biến độc lập (Hình 2A; Hình 3). Các phân tích thống kê và đồ họa được thực hiện trên phần mềm GraphPad Prism v8.4.3 (GraphPad Software, Mỹ). Mức ý nghĩa của tất cả các phân tích được đặt ở mức $p < 0,05$ với *$p < 0,05$, *** $p < 0,001$ và **** $p < 0,0001$.

2.9 Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được phê duyệt bởi hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y học của Bệnh viện Nhi Trung ương theo số quyết định 441/BVNTW-VNCSKTE ngày 11/3/2021.

III. KẾT QUẢ

3.1 Đặc điểm nhóm nghiên cứu trước khi điều trị

Số liệu thu thập được trên 30 bệnh nhân dương tính với cúm trước khi điều trị cho thấy, trên lâm sàng ở cả hai nhóm có: (i) 100% (15/15) trường hợp có triệu chứng xuất tiết mũi họng, (ii) 77% trường hợp có triệu chứng sốt, 80% có triệu chứng mạch nhanh, và 16,7% có triệu chứng nhịp thở nhanh. Về các chỉ số cận lâm sàng, có tới 70% bệnh nhân có chỉ số CRP cao (> 6mg/L) và khoảng 57% bệnh nhân có số lượng bạch cầu cao (> 10,0g/L). Kết quả chụp X-quang cho thấy phần lớn các bệnh nhân (87%) có tổn thương ở phổi (nốt, ứ khí…). Các triệu chứng lâm sàng và các chỉ số cận lâm sàng của bệnh nhân thuộc hai nhóm Navax và nhóm chứng được trình bày ở bảng 2 cho thấy đối tượng nghiên cứu là bệnh viêm tiểu phế quản và có đặc điểm tương đồng nhau (không có sự khác biệt về mặt thống kê, $p > 0,05$).

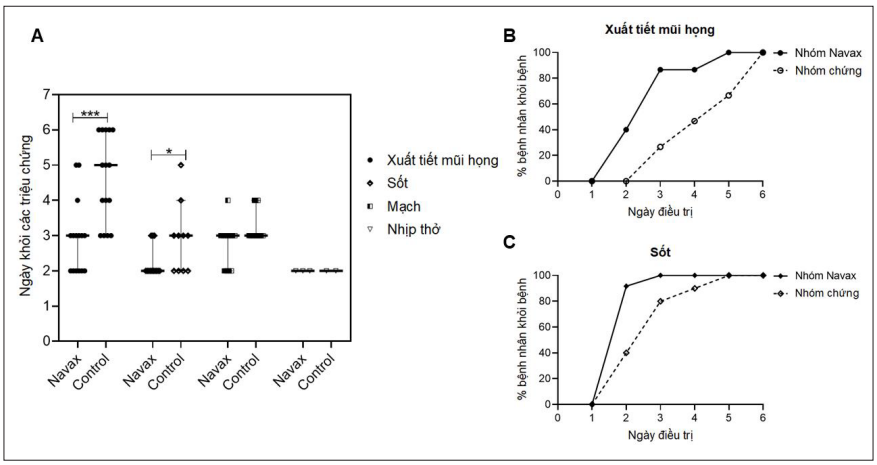
Bảng 2. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của trẻ em nhiễm vi rút cúm trước khi tham gia điều trị

Các chỉ số	Bệnh nhân nhiễm vi rút cúm		p
	Nhóm sử dụng Navax (n = 15)	Nhóm chứng (n = 15)	
Tuổi (tháng) n (%)			
≥ 4 -12	2 (13,33)	4 (26,67)	0,37
> 12	13 (86,67)	11 (73,33)	
Giới tính n (%)			
Nam	9 (60)	11 (73,33)	0,44
Nữ	6 (40)	4 (26,67)	
Đặc điểm lâm sàng n (%)			
Xuất tiết mũi họng	15 (100)	15 (100)	1,00
Mạch nhanh (nhịp/phút)			
≥ 4 - 12 tháng (> 140). n (%)	1 (6,67)	1 (6,67)	1,00
> 12 tháng (> 120). n (%)	11 (73,33)	11 (73,33)	1,00
Nhịp thở nhanh (nhịp/phút)			
≥ 4 - 12 tháng (> 40). n (%)	0 (0,00)	(0,00)	1,00
> 12 tháng (> 32). n (%)	3 (20)	2 (13,33)	0,63
Sốt (> 37,5°C)	13 (86,67)	10 (66,67)	0,21
Ngày nhập viện trung bình	2,3	3,0	0,11
Đặc điểm cận lâm sàng n (%)			
X-quang tim phổi có nốt/ứ khí/...	13 (86,67)	13 (86,67)	1,00
Bạch cầu tổng số > 10,0 G/L	7 (46,67)	10 (66,67)	0,27
Chỉ số CRP > 6,0 mg/L	9 (60)	12 (80)	0,24

3.2 An toàn và tác dụng hỗ trợ điều trị triệu chứng lâm sàng trên trẻ em nhiễm vi rút cúm của LiveSpo® Navax

Kết quả thử nghiệm trên 15 bệnh nhân sử dụng LiveSpo® Navax trong 6 ngày điều trị đều không ghi nhận bất kỳ trường hợp nào liên quan đến các thay đổi bất thường chỉ số về nhịp thở, mạch, nhiệt độ, độ bão hòa oxy trong máu (SpO_2) trước và sau xịt; các giá trị nhịp thở, mạch, nhiệt độ và SpO_2 của cả hai nhóm chỉ dao động trong khoảng lần lượt là 1 và 3 nhịp/phút, 0,5°C, 0,5% và tất cả các chỉ số sinh tồn đều nằm trong giới hạn cho phép. 100% bệnh nhân tham gia thử nghiệm không có bất cứ dấu hiệu kích ứng niêm mạc mũi và cũng không có biểu hiện gì về rối loạn tiêu hoá (nôn, tiêu chảy) trong suốt quá trình điều trị cho thấy việc sử dụng xịt bào tử lợi khuẩn *Bacillus* không gây bất cứ tác dụng phụ nào cho trẻ em nhiễm cúm trong 6 ngày điều trị. Nhóm Navax có biểu hiện giảm các triệu chứng trên lâm sàng nhanh hơn nhóm chứng. Cụ thể, với 95% CI của giá trị median, kết quả thể hiện ở Hình 2A cho thấy thời gian khỏi các triệu chứng xuất tiết mũi họng (median Navax/NaCl 0,9% là 3 ngày/5 ngày; 95% CI: 2 - 3 ngày/3 - 6 ngày), sốt (median Navax/NaCl 0,9% là 2 ngày/3 ngày; 95% CI: 2 - 3 ngày/2 - 4 ngày) ở bệnh nhân nhóm Navax sớm hơn tương ứng là 2 và 1 ngày so với nhóm chứng. Nghiên cứu cũng chỉ ra ngày điều trị khi 50% bệnh nhân khỏi bệnh (Day of Treatment, DT_{50}) đối với 2 triệu chứng xuất tiết mũi họng và sốt quan sát được ở nhóm Navax lần lượt là 2,2 ngày và 1,5 ngày (Hình 2B), ngắn hơn so với nhóm đối chứng

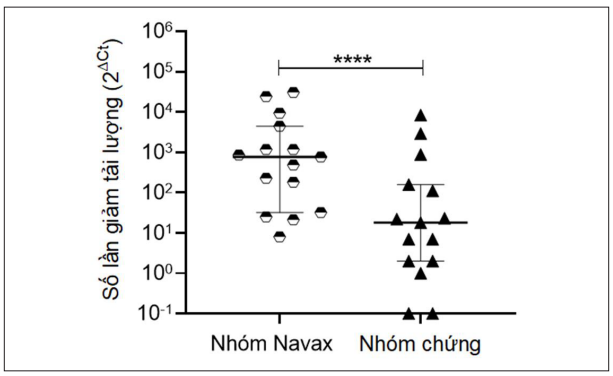
lần lượt là 4,2 ngày và 2,3 ngày (Hình 2C), tương đương với hiệu quả điều trị tăng lên ở nhóm Navax so với nhóm chứng là khoảng 53 - 90%. Chúng tôi kết luận rằng bào tử *Bacillus* dạng xịt qua đường mũi làm giảm bớt các triệu chứng nhiễm cúm chính sớm từ 1 đến 2 ngày và hiệu quả hơn 53 - 90%. Sự khác biệt về thời gian khỏi 2 triệu chứng này có ý nghĩa thống kê (*p < 0,05). Với 2 triệu chứng còn lại là mạch nhanh (median Navax/NaCl 0,9% là 3 ngày/3 ngày; 95% CI: 2 - 3 ngày/3 - 4 ngày) và nhịp thở nhanh (Navax/NaCl 0,9% là 2 ngày/2 ngày), LiveSpo® Navax chưa cho thấy có tác dụng rút ngắn thời gian điều trị.



Hình 2. Số ngày điều trị khỏi các triệu chứng lâm sàng của nhóm Navax và nhóm đối chứng (Control) (*p < 0,05; *** p < 0,001)

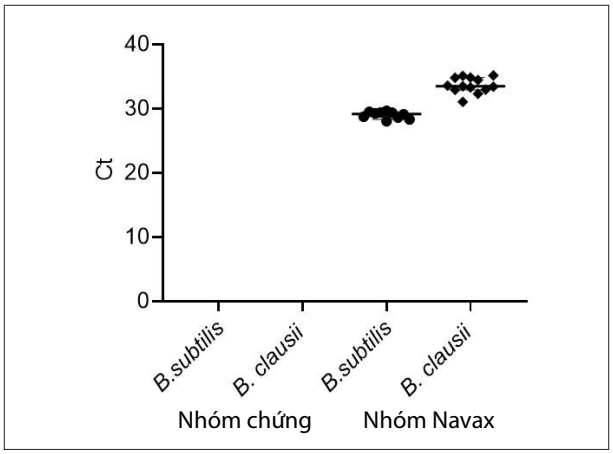
3.3 Tác dụng giảm nồng độ vi rút cúm trong dịch tỵ hầu của LiveSpo® Navax

Kết quả phân tích thống kê so sánh giá trị $2^{\Delta Ct}$ phản ánh mức độ giảm tải lượng vi rút cúm trong dịch tỵ hầu của bệnh nhân 2 ngày sau khi sử dụng Navax kết hợp với các điều trị khác, so với trước điều trị trên 30 bệnh nhân ở 2 nhóm nghiên cứu cho thấy nhóm Navax thể hiện mức độ giảm đáng kể nồng độ vi rút cúm, giảm khoảng 900 lần (95% CI: 32 - 4421). Trong khi đó, nhóm chứng có mức độ giảm nồng độ vi rút chỉ đạt khoảng 15 lần (95% CI: 2 - 158) (Hình 3). Như vậy, LiveSpo® Navax thể hiện hiệu quả giảm tải lượng vi rút cúm gấp khoảng 60 lần so với nước muối sinh lý, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (****p < 0,0001).



Hình 3. Số lần giảm tải lượng vi rút cúm sau 2 ngày điều trị của nhóm Navax và nhóm chứng (**p < 0,0001)**

Theo kết quả trình bày ở hình 4, các bào tử *Bacillus subtilis* và *B. clausii* đều được phát hiện thấy trong dịch tỵ hầu của các bệnh nhân nhóm Navax ở ngày 2 sử dụng với giá trị C_t *B. subtilis* trong khoảng 28,0 – 29,6 và giá trị T_m trong khoảng 85°C ± 1; C_t *B. clausii* trong khoảng 31,0 – 35,2 và giá trị T_m trong khoảng 84°C ± 1. Trong khi đó không phát hiện thấy trường hợp nào có mặt bào tử *B. subtilis* hay *B. clausii.* ở nhóm đối chứng. Kết quả này chứng tỏ bệnh nhân ở hai nhóm nghiên cứu tuân thủ việc xịt đúng loại sản phẩm và giả dược được phát.



Hình 4. Giá trị chu kỳ ngưỡng (Ct) của real time PCR SYBR Green phát hiện sự có mặt của bào tử lợi khuẩn *B. subtilis* và *B. clausii* trong dịch tỵ hầu (1mL) của bệnh nhân nhóm Navax so sánh với nhóm chứng

IV. BÀN LUẬN

Đây là nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng mẫu mù về an toàn và tác dụng của sản phẩm probiotic dạng xịt LiveSpo® Navax được thực hiện bước đầu trên tổng số 30 bệnh nhân nhi có kết quả dương tính cúm điều trị nội trú tại Trung tâm Quốc tế S, Bệnh viện Nhi Trung ương. Kết quả sàng lọc bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu cho thấy bệnh nhân có những dấu hiệu bất thường về các triệu chứng lâm sàng và các chỉ số cận lâm sàng của viêm tiểu phế quản. 100% trẻ đều ghi nhận triệu chứng xuất tiết mũi họng, 77% trường hợp có triệu chứng sốt, 80% có triệu chứng mạch nhanh, và 16,7% có triệu chứng nhịp thở nhanh. Kết quả chụp X-quang tim phổi cho thấy 26/30 bệnh nhân (87%) đều phát hiện có những tổn thương ở phổi, chủ yếu là nốt hoặc cả nốt và ứ khí 2 bên. Xét nghiệm chỉ số bạch cầu tổng số và chỉ số CRP cũng cho thấy mức độ viêm nhiễm cao ở các bệnh nhân, lên tới 57 - 70%. Như vậy, các bệnh nhân được lựa chọn đều đủ tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu. Các nghiên cứu gần đây cho cho thấy việc sử dụng probiotic là một trong những liệu pháp tiềm năng để ngăn ngừa nhiễm vi rút và giảm triệu chứng của bệnh. Nghiên cứu của Chiba và cộng sự (2013) thực hiện trên mô hình chuột cho thấy việc sử dụng probiotic bằng đường uống có chứa *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 với nồng độ 10^8CFU/ chuột/ngày liên tục trong 5 ngày có hiệu quả làm giảm nồng độ vi rút hợp bào hô hấp RSV khoảng 32 lần trong phổi ở ngày thứ 4 và bảo vệ tế bào phổi thông qua khả năng kích thích hệ thống miễn dịch sinh tổng hợp IFN-γ và IL10 [16]. Một nghiên cứu khác sử dụng *Lactobacillus rhamnosus* GG cũng đã chỉ ra tác dụng giảm triệu chứng và phòng ngừa viêm đường hô hấp thông qua điều hoà các cytokine như TNF-α, IL-6, IL-8 [17, 18]. Mặc dù các vi khuẩn thuộc loài *Lactobacillus* có lịch sử an toàn lâu đời và có các nghiên cứu chứng minh về tác dụng trên đường hô hấp, tuy nhiên các sản phẩm probiotic của loài vi khuẩn này không bền nhiệt trong quá trình bảo quản dẫn tới độ sống bị giảm đáng kể theo thời gian

và làm giảm tác dụng của sản phẩm. Ngoài ra, sản phẩm chỉ sử dụng qua đường uống nên thời gian tác dụng lâu và khó phát huy được hiệu quả cao nhất trong việc ức chế/diệt trực tiếp vi rút, vi khuẩn gây bệnh trên đường hô hấp trên.

Gần đây, nhóm nghiên cứu của chúng tôi đã đánh giá tác dụng của sản phẩm LiveSpo Navax ttrong việc giảm triệu chứng viêm đường hô hấp do nhiễm RSV và kết quả cho thấy bệnh nhân sử dụng nhóm Navax có thời gian khỏi các triệu chứng xuất tiết mũi, khó thở, ran rít, ran ẩm, rút lõm lồng ngực sớm hơn nhóm đối chứng 1 ngày. Sau 3 ngày điều trị, tải lượng RSV ở ở dịch tỵ hầu của bệnh nhân nhóm Navax giảm khoảng 300 lần, trong khi nhóm đối chứng chỉ giảm 15 lần, tương đương với 20 lần hiệu quả hơn trong việc giảm tải lượng RSV [14]. Tiếp nối nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục thử nghiệm trên đối tượng trẻ em nhiễm vi rút cúm thì cũng thu được hiệu quả tương tự. Cụ thể là các bệnh nhân nhóm Navax có thời gian khỏi triệu chứng xuất tiết mũi sớm 2 ngày và triệu chứng sốt sớm 1 ngày so với nhóm đối chứng. Sau 2 ngày điều trị, tải lượng vi rút cúm ở dịch tỵ hầu của bệnh nhân nhóm Navax giảm khoảng 900 lần, trong khi nhóm đối chứng chỉ giảm 15 lần, tương đương với 60 lần hiệu quả hơn trong việc giảm tải lượng vi rút cúm. Hong và cộng sự (2019) cũng đã chỉ ra rằng nhỏ mũi bằng bào tử *B. subtilis* giúp làm giảm nồng độ vi rút cúm gấp 4 - 5 lần ở chuột bằng cách cải thiện chức năng kháng vi rút của đại thực bào phế nang. Tuy nhiên, nghiên cứu này mới tiến hành trên mô hình chuột mà chưa thử nghiệm trên người [19]. Vậy thì cơ chế nào có thể giải thích về tác dụng của sản phẩm LiveSpo® Navax? Nghiên cứu ở điều kiện *in-vitro* bằng kỹ thuật hiển vi huỳnh quang đồng tụ công bố bởi Song và cộng sự [20] đã chỉ ra bề mặt bào tử lợi khuẩn *B. subtilis* khi được tinh sạch có khả năng hấp phụ rất tốt các hạt vi rút cúm H5N1. Khi vi rút bị hấp phụ trên bề mặt bào tử lợi khuẩn *B. subtilis,* chúng sẽ có khả năng bị "bất hoạt" và không còn khả năng xâm nhiễm vào tế bào và gây bệnh.

Kết quả real time PCR SYBR Green cho thấy đã phát hiện sự có mặt của *Bacillus subtilis* và *Bacillus clausii* trong niêm mạc mũi của tất cả các bệnh nhân sử dụng xịt LiveSpo® Navax và không phát hiện thấy hai loài vi khuẩn này trong nhóm đối chứng, cho thấy các bệnh nhân tham gia nghiên cứu ở hai nhóm thử nghiệm và đối chứng được cung cấp đúng sản phẩm thử nghiệm, được hướng dẫn đúng và tuân thủ quy trình xịt mũi và 2 loại bào tử này cùng có khả năng bám dính lên niêm mạc mũi bệnh nhân. Kết quả cũng cho thấy sản phẩm hoàn toàn an toàn đối với trẻ em dưới 5 tuổi, với liều dùng thử nghiệm khuyến cáo cho bệnh nhân xịt mũi 3 lần/ngày trong vòng 6 ngày liên tục, kết hợp theo dõi và đánh giá các chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng. Trong suốt quá trình thử nghiệm đều không ghi nhận bất kỳ biểu hiện nào liên quan đến các bất thường về nhịp thở, mạch, nhiệt độ, và SpO_2, cũng như không có sự thay đổi bất thường về chỉ số CRP và số lượng bạch cầu phản ánh mức độ viêm của người tham gia thử nghiệm. 100% bệnh nhân sử dụng LiveSpo® Navax không cho thấy bất cứ dấu hiệu bất thường về tiêu hoá (nôn hay tiêu chảy) hay kích ứng niêm mạc mũi. Do đại dịch COVID-19 xảy ra trong toàn bộ thời gian tiến hành nghiên cứu dẫn đến số lượng bệnh nhân cúm nhập viện điều trị nội trú tại Trung tâm Quốc tế S, bệnh viện Nhi Trung ương rất ít và một số bệnh nhân bỏ không tiếp tục tham gia nghiên cứu dẫn tới số lượng bệnh nhân còn lại tới ngày cuối của thử nghiệm chỉ còn 15 bệnh nhân/nhóm, mới đạt được 71% (15/21) cỡ mẫu trong thiết kế nghiên cứu, do vậy chưa đánh giá được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với tác dụng rút ngắn thời gian điều trị đối với các triệu chứng mạnh nhanh và nhịp thở nhanh. Với cỡ mẫu hạn chế này, nhóm nghiên cứu cũng chưa có điều kiện đánh giá hiệu quả của sản phẩm trên các nhóm tuổi khác nhau, và mức độ triệu chứng khác nhau. Tuy vậy, kết quả bước đầu của nghiên cứu đã chỉ ra nhóm Navax có thời gian khỏi hai triệu chứng xuất tiết mũi và sốt sớm hơn, cũng như có mức độ giảm nồng độ vi rút mạnh hơn so với nhóm chứng, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Trong tương lai, nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng cần mở rộng với cỡ mẫu lớn hơn và đánh giá thêm mức độ thay đổi của các chỉ số

cytokine tiền viêm như IL-6, IL-8 và TNF-α để đánh giá toàn diện hơn nữa mức độ an toàn và tác dụng của LiveSpo® Navax trong giảm triệu chứng lâm sàng và điều hòa sự tiết quá mức các cytokine tiền viêm, làm cơ sở khoa học cho việc phát triển thành thuốc xịt mũi có tác dụng phòng ngừa và hỗ trợ điều trị bệnh đường hô hấp do nhiễm vi rút cúm.

V. KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng đối chứng mẫu mù đánh giá an toàn và tác dụng của probiotic bào tử lợi khuẩn *Bacillus* ở dạng xịt trực tiếp vào mũi trên trẻ em nhiễm vi rút cúm. Mặc dù cỡ mẫu còn hạn chế, kết quả bước đầu thu nhận được có sự khác biệt mang tính thống kê giữa nhóm Navax và nhóm đối chứng, cho thấy sản phẩm probiotic LiveSpo® Navax dạng nước chứa bào tử lợi khuẩn của hai chủng *Bacillus subtilis* ANA4 và *Bacillus clausii* ANA39 khi sử dụng dưới dạng xịt an toàn với trẻ em trong suốt 6 ngày thử nghiệm, có tác dụng hỗ trợ rút ngắn thời gian trẻ bị sốt 1 ngày và xuất tiết mũi 2 ngày; và làm giảm nồng độ vi rút cúm trong mũi bệnh nhân hiệu quả hơn gấp 60 lần so với nước muối sinh lý. Kết quả bước đầu thu được là cơ sở khoa học mở rộng cỡ mẫu lớn hơn trong thử nghiệm lâm sàng tiếp theo, và tiếp tục đánh giá tác dụng của probiotic bào tử lợi khuẩn *Bacillus* dạng xịt mũi trong hỗ trợ điều trị và phòng ngừa nhiễm vi rút và vi khuẩn đường hô hấp ở trẻ em.

Lời cảm ơn: Đề tài được tài trợ bởi Quỹ Nghiên cứu Khoa học của Công ty TNHH ANABIO R&D, mã số ANABIO/RG-2021-01. Sản phẩm LiveSpo® Navax được sản xuất và cung cấp bởi Công ty TNHH LiveSpo Pharma.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Paules C, Subbarao K. Influenza. Lancet. 2017; 390 (10095): 697 – 708.
2. Peteranderl C, Herold S, Schmoldt C. Human Influenza virus Infections. Semin Respir Crit Care Med. 2016; 37 (4): 487 – 500.
3. Eccles R. Understanding the symptoms of the common cold and influenza. Lancet Infect Dis. 2005; 5 (11): 718 – 725.
4. Morgan AL, Maria W, Jasmine C. Climate change and influenza: A scoping review. The Journal of Climate Change and Health. 2022; 5.
5. NBC. Health New: Influenza might be spread simply by breathing, study finds. Accessed 31/3/2022. https://www.nbcnews.com/health/health-news/influenza-might-spread-air-study-finds-n839166.
6. Angela MB, Caporuscio J, Pharm D. The flu: Is it contagious? Medical new todays, 2020. Accessed 31/3/2022. https://healthgrade.info.dyndns.tv/articles/is-the-flu-contagious.
7. Mani CS. Acute Pneumonia and Its Complications. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition). 2018; 238 – 249.e4.
8. Mousa HA. Prevention and Treatment of Influenza, Influenza-Like Illness, and Common Cold by Herbal, Complementary, and Natural Therapies. J Evid Based Complementary Altern Med. 2017; 22 (1): 166 – 174.
9. CDC review 2019. Prevent Flu: Flu Vaccine Safety Information. Accessed 31/3/2022. https://www.cdc.gov/flu/prevent/general.htm.
10. Oo C, Barrett J, Hill G, et al. Pharmacokinetics and dosage recommendations for an oseltamivir oral suspension for the treatment of influenza in children. Paediatr Drugs. 2001; 3 (3): 229 - 236.
11. Kaźmierczak-Siedlecka K, Skonieczna-Żydecka K, Hupp T, et al. Next-generation probiotics - do they open new therapeutic strategies for cancer patients? Gut microbes. 2022; 14 (1): 2035659.
12. Singh TP, Natraj BH. Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine. Crit Rev Microbiol. 2021; 47 (4): 479 – 498.
13. Lehtoranta L, Pitkaranta A, Korpela R. Probiotics in respiratory virus infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014; 33: 1289 – 1302.
14. Trần Thanh Tú, Phùng Thị Bích Thủy, Bùi Thị Huyền, cộng sự. LiveSpo® Navax chứa bào tử lợi khuẩn Bacillus hỗ trợ hiệu quả điều trị triệu chứng và giảm nồng độ vi rút hợp bào hô hấp (RSV) ở trẻ em. Tạp chí Nhi Khoa. 2021; 14 (2): 35 - 43.
15. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. Nat Protoc. 2008; 3 (6): 1101 – 1108.
16. Chiba E, Tomosada Y, Guadalupe MVP, et al. Immunobiotic Lactobacillus rhamnosus improves resistance of infant mice against respiratory syncytial virus infection. Int Immunopharmacol. 2013; 17: 373 – 382.

17. Rautava S, Salminen S, Isolauri E. Specific probiotics in reducing the risk of acute infections in infancy-a randomised, double-blind, placebo-controlled study. Br J Nutr. 2009; 101: 1722 - 1726.
18. Harata G, He F, Hiruta N, et al. Intranasal administration of Lactobacillus rhamnosus GG protects mice from H1N1 influenza virus infection by regulating respiratory immune responses. Lett Appl Microbiol. 2010; 50: 597 - 602.
19. Hong JE, Kye YC, Park SM, et al. Alveolar macrophages treated with Bacillus subtilis spore protect mice infected with respiratory syncytial virus A2. Front Microbiol. 2019; 10: 447.
20. Song M, Hong HA, Huang JM, et al. Killed Bacillus subtilis spores as a mucosal adjuvant for an H5N1 vaccine. Vaccine. 2012; 30: 3266 - 3277.

EFFECTIVE SYMPTOMATIC TREATMENT AND REDUCTION OF INFLUENZA VIRAL LOAD IN CHILDREN BY NASAL-SPRAYING BACILLUS SPORE PROBIOTICS (LIVESPO NAVAX)

Phung Thi Bich Thuy[1], Tran Thanh Tu[1], Bui Thi Huyen[2,3], Nguyen Thi Thanh Phuc[1], Vu Thi Tam[1], Ngo Thi Phuong Nga[1], Nguyen Thi Mai[1], Do Thi Hau[1], Ngo Hong Thuy[1], Pham Thi Thu Trang[1], Do Thu Huong[1], Bui Thi Phuong Anh[2,3], Nguyen Thi Van Anh[3], Nguyen Hoa Anh[2]

[1]Vietnam National Children's Hospital, Hanoi
[2]Spobio Research Center, ANABIO R&D Ltd. Company, Hanoi
[3]Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, VNU University of Sciences, Vietnam National University, Hanoi

The influenza virus is a common cause of respiratory tract infections, and treatment of the disease remains symptomatic reduction. We conducted a randomized and blind clinical trial to investigate the symptomatic treatment effects of LiveSpo® Navax containing > 5 billion *Bacilus* spores in children with acute respiratory diseases caused by the influenza virus at the Vietnam National Children's Hospital. A total of 30 influenza-infected patients (n = 15/ group x 2 groups: Navax and Control) were sprayed into their noses 3 times per day in conjunction with standard hospital drug therapy. As a result, recovery time for fever and nasal secretion in the Navax group were 1 - 2 day shorter than the control group, equivalent to about 53 - 90% higher effects obtained in Navax group than in the control group. After 2 days of treatment, the Navax group had about a 900-fold reduction, which was 60-fold more effective than the control group (the control group had a 15-fold reduction). The Navax group showed no signs of abnormal breath nor irritation of the nasal mucosa. This primary clinical study demonstrates the safety, symptomatic-reduction, and viral load-lowering effects of *Bacillus* spore probiotics as nasal sprays in children infected with the influenza virus.

Keywords: LiveSpo® Navax; *Bacillus* spore probiotics; influenza virus; respiratory infection; children