

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ CHẠM SẠCH KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT SAU ĐIỀU TRỊ 3 NGÀY VỚI PHÁC ĐỒ DHA-PPQ TRÊN BỆNH NHÂN SỐT RÉT *PLASMODIUM FALCIPARUM* KHÔNG BIẾN CHỨNG Ở HUYỆN HƯỚNG HOÁ, TỈNH QUẢNG TRỊ

Phan Thị Hằng Giang¹, Huỳnh Đình Chiên²

(1) Bộ môn Ký Sinh Trùng, Trường Đại học Y Dược Huế - Đại học Huế

(2) Viện Y Sinh Học, Trường Đại học Y Dược Huế - Đại học Huế

Tóm tắt

Tổng quan: Sốt rét vẫn còn là một bệnh phổ biến có mức lưu hành cao, mỗi năm gây ra cái chết cho khoảng 1,5 triệu người trên thế giới, phần lớn tử vong đều do *P.falciparum*. Sự xuất hiện và lan rộng đa kháng thuốc của *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) đã và đang làm hầu hết các thuốc điều trị sốt rét kinh điển thường dùng đã không còn hiệu quả. Cũng như các thuốc chống sốt rét khác, kháng artemisinin đã và đang được phát hiện ở Đông Nam Á. Đánh giá hiệu lực sốt rét là một hoạt động cần thiết để đánh giá nhạy kháng của thuốc hiện đang dùng đóng góp tích cực vào công tác phòng chống sốt rét. **Mục tiêu nghiên cứu:** Đánh giá kết quả chậm sạch KSTSR sau điều trị 3 ngày với phác đồ dihydroartemisinin + piperaquin phosphate (DHA- PPQ) trên bệnh nhân sốt rét *P.falciparum* không biến chứng ở huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị. **Phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang. Mẫu nghiên cứu gồm tất cả bệnh nhân sốt rét *P.falciparum* không biến chứng ở huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị đồng ý tham gia vào nghiên cứu của chúng tôi. Có 84 bệnh nhân được thu thập lam máu và mẫu máu toàn phần trước và sau điều trị 3 ngày để ước lượng ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) trong máu bằng phương pháp soi kính hiển vi (KHV) và Real time PCR. **Kết quả:** Trong tổng số 84 mẫu của bệnh nhân sốt rét được thu thập để xác định tỷ lệ chậm sạch ký sinh trùng (DPC: delayed parasite clearance) trong máu sau điều trị 3 ngày với phác đồ DHA-PPQ, có 22 mẫu (26,2%) còn KSTSR trong máu sau điều trị 3 ngày xác định bằng soi kính hiển vi; với Real time PCR có 33 mẫu (39,3%) còn KSTSR trong máu sau điều trị 3 ngày. **Kết luận:** Vùng dịch tễ bệnh sốt rét trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ chậm sạch ký sinh trùng trong máu sau điều trị với phác đồ DHA-PPQ vào ngày thứ 3 là 26,2% (22/84 mẫu) xác định bằng soi kính hiển vi và 39,3% (33/84 mẫu) bằng Real time PCR. Theo định nghĩa của WHO về kháng artemisinin, kết quả nghiên cứu này bước đầu góp phần vào việc báo cáo nghi ngờ kháng artemisinin xảy ra ở huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị, vùng dịch tễ nghiên cứu của chúng tôi.

Từ khoá: *Plasmodium falciparum*, Artemisinin.

Abstract

EVALUATION THE RATE OF DELAYED PARASITE CLEARANCE IN UNCOMPLICATED *PLASMODIUM FALCIPARUM* PATIENT AFTER 3 DAYS TREATMENT WITH DIHYDROARTEMISININ PLUS PIPERAQUIN PHOSPHATE (DHA-PPQ) IN HUONG HOA DISTRICT, QUANG TRI PROVINCE

Phan Thi Hang Giang¹, Huynh Dinh Chien²

(1) Department of Parasitology, Hue University of Medicine and Pharmacy

(2) Institute of Biomedical Sciences, HUMP

Background: Malaria is still remains a public health disease with high circulating levels, each year causes the death of about 1.5 million people worldwide, and almost all deaths are caused by *falciparum* malaria. The emergence of multidrug-resistant *P. falciparum* parasites has made these drugs useless in many areas where malaria is endemic. As with earlier antimalarial drugs, parasite

- Địa chỉ liên hệ: Phan Thị Hằng Giang, email: drphangiang@gmail.com

DOI: 10.34071/jmp.2015.6.7

- Ngày nhận bài: 15/09/2015 * Ngày đồng ý đăng: 02/12/2015 * Ngày xuất bản: 12/01/2016

resistance to artemisinin and its derivatives has emerged in Southeast Asia. Evaluate the effectiveness of antimalarial drug is an essential activity for assessing sensitivity of drug resistance are taking a positive contribution to the prevention of malaria. **Objective:** To evaluate the rate of delayed parasite clearance (DPC) in uncomplicated *Plasmodium falciparum* patient after 3 days treatment with DHA-PPQ in Huong Hoa district, Quang Tri province. **Methods:** Cross-sectional study and empirical research. The research samples included all patients with *falciparum* malaria uncomplicated in Huong Hoa district, Quang Tri province agreed to participate in our study. 84 patients were collected smears and whole blood samples before and after 3 days of treatment with DHA-PPQ for evaluating parasitemiae by microscopy method and Real time PCR. **Results:** In total 84 samples of malaria patients were collected to determine the rate of delayed parasite clearance (DPC) after 3 days of treatment with DHA-PPQ, there were 22 samples (26.2%) having parasites in blood after treatment 3days determined by microscopy; 33 samples (39.3%) had parasites in the blood after treatment 3 days determined by Real time PCR. **Conclusion:** Our study showed the rate of delayed parasite clearance (DPC) after treatment with DHA-PPQ 3 days were 26.2% (22/84 samples) determined by microscopy and 39.3% (33/84 samples) by Real time PCR. As defined by WHO, the study results contribute to the initial report suspected artemisinin resistance occurs in endemic areas of our research.

Key words: *Plasmodium falciparum*, Artemisinin.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sốt rét vẫn còn là một bệnh phổ biến có mức lưu hành cao, mỗi năm gây ra cái chết cho khoảng 1,5 triệu người trên thế giới, phần lớn tử vong đều do *P.falciparum*. Sự xuất hiện và lan rộng đa kháng thuốc của *P.falciparum* đã và đang làm hầu hết các thuốc điều trị sốt rét kinh điển thường dùng đã không còn hiệu quả. Cũng như các thuốc chống sốt rét khác, kháng artemisinin đã và đang được phát hiện ở Đông Nam Á, bắt đầu với báo cáo đầu tiên vào năm 2008 ở tỉnh Battambang [10] và vào 2009 ở tỉnh Pailin [5] ở phía tây Campuchia, sau đó *P. falciparum* kháng artemisinin được báo cáo lan rộng khắp đất nước Campuchia [1; 2], phía tây Thái Lan [13], phía nam Mianma [8], phía nam Việt Nam [7]. Ở huyện Hướng Hoá tỉnh Quảng Trị phác đồ dihydroartemisinin + piperaquin phosphate (DHA-PPQ) đã và đang được sử dụng, chế phẩm đang sử dụng là CV artecan (40 mg dihydroartemisinin + 320 mgmg piperaquin phosphate) của công ty Cổ phần dược phẩm OPC. Hiện nay, việc xác định kháng artemisinin đang gặp nhiều khó khăn, các định nghĩa của kháng artemisinin dựa trên dữ liệu phòng thí nghiệm và lâm sàng.

Theo định nghĩa kháng điều trị thuốc sốt rét của WHO: Nghi ngờ kháng khi xuất hiện sụchậm làm sạch ký sinh trùng trong máu sau điều trị thuốc kháng sốt rét, bằng chứng là có hơn 10% các trường hợp ký sinh trùng thể vô tính còn được phát hiện trong máu vào ngày thứ 3 sau khi điều trị bằng thuốc [5;15]. Xác định kháng khi hoặc thất bại điều trị sau khi điều trị đơn trị liệu artemisinins bằng đường uống với nồng độ thuốc chống sốt rét trong máu thích hợp với bằng chứng là sự tồn tại ký sinh trùng trong 7 ngày, hoặc sự

có mặt ký sinh trùng vào ngày thứ 3 và tái phát trong vòng 28 hoặc 42 ngày [16]. Việc đánh giá hiệu lực thuốc sốt rét là một hoạt động cần thiết và rất quan trọng để đánh giá nhạy kháng của thuốc hiện đang sử dụng, đóng góp tích cực vào công tác phòng chống bệnh sốt rét. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: *Đánh giá kết quả chậm sạch ký sinh trùng sốt rét sau điều trị 3 ngày với phác đồ dihydroartemisinin + piperaquin phosphate(DHA- PPQ)trên bệnh nhân sốt rét P.falciparum không biến chứng ở một vùng dịch tễ sốt rét, huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi có tổng 84 bệnh nhân sốt rét *P.falciparum* không biến chứng ở vùng dịch tễ sốt rét huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị với tiêu chuẩn chọn bệnh như sau.

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh

- Tuổi từ 6 tháng đến dưới 70 tuổi, không phụ thuộc giới tính.
- Nhiễm đơn thuần *P. falciparum* không biến chứng phát hiện bằng kính hiển vi.
- Nhiệt độ cơ thể $\geq 37,5$ độ C hoặc tiền sử có cơn sốt trong 24 giờ trước đó.
- Bệnh nhân có khả năng nuốt và uống thuốc.
- Bệnh nhân và/hoặc gia đình (cha mẹ trong các trường hợp trẻ em) đồng ý tham gia nghiên cứu.
- Có khả năng và sẵn sàng tuân theo các giao thức nghiên cứu trong suốt thời gian nghiên cứu.
- Chưa dùng bất kỳ loại thuốc chống sốt rét nào trước khi điều trị với DHA-PPQ.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

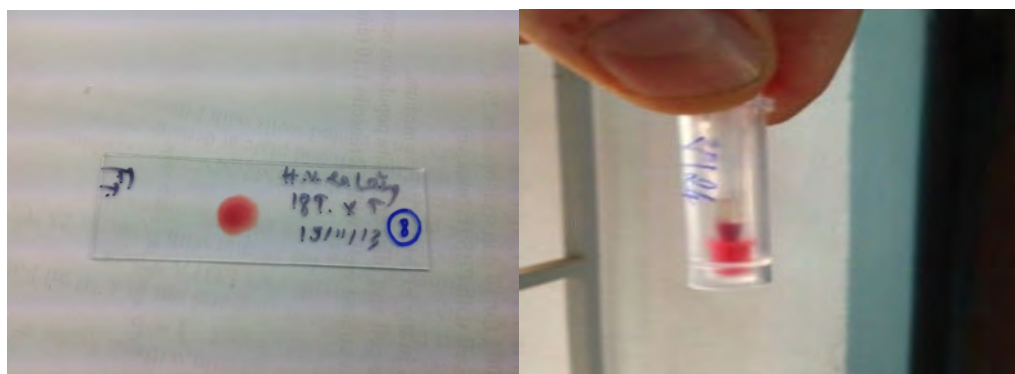
- Sự hiện diện của dấu hiệu nguy hiểm chung ở trẻ em dưới 5 tuổi hoặc có dấu hiệu của bệnh sốt rét *P. falciparum* nặng.
- Nhiễm phối hợp *P. falciparum* với một trong các loài: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*. Nhiễm đơn thuần một trong các loài *Plasmodium* khác: *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*.
- Bệnh nhân suy dinh dưỡng nặng, hoặc sốt do các bệnh khác ngoài bệnh sốt rét (nhiễm trùng đường hô hấp dưới cấp tính, tiêu chảy nặng) hoặc đang mắc các bệnh mãn tính hoặc nghiêm trọng tiềm ẩn, nôn nặng, hoặc rối loạn tâm lý.
- Có tiền sử phản ứng quá mẫn hoặc chống chỉ định với bất kỳ các thành phần nào của thuốc trong phác đồ DHA-PPQ được sử dụng.
- Phụ nữ mang thai hoặc phụ nữ đang cho con bú.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Sử dụng phương pháp mô tả, cắt ngang.
- Các bước tiến hành:
- Tiếp xúc phỏng vấn đối tượng nghiên cứu, thu thập xác định sự chậm sạch KSTSR sau điều trị 3 ngày với phát đồ DHA-PPQ.
- Xử lý số liệu: Bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và Icestimator 1.2 software.

thập các thông tin cần thiết liên quan vấn đề nghiên cứu.

- Thu thập mẫu máu toàn phần và lam máu của bệnh nhân trước điều trị (D0) và sau điều trị 3 ngày (D3) với phát đồ DHA-PPQ để xác định tỷ lệ chậm sạch KSTSR sau điều trị bằng soi kính hiển vi và Real time PCR.
- Soi kính hiển vi: Lam máu của bệnh nhân thu thập ngày D0 và D3 được nhuộm Giemsa và soi KHV đếm số lượng KSTSR ước tính theo công thức của WHO (1991) để so sánh tỷ lệ KSTSR ngày D0 và D3, xác định sự chậm sạch KSTSR sau điều trị 3 ngày với phát đồ DHA-PPQ.
- Real time PCR: Mẫu máu toàn phần của bệnh nhân thu thập ngày D0 và D3 được tách chiết DNA và chạy Real time PCR với đoạn mồi đặc hiệu của *P. falciparum* (primer Forward 5'-ATTGCTTTTGAGAGGTTTGTACTTT-3', primer Reverse 5'-GCTGTAGTATTCAAACACAATGAACCTAA-3') để so sánh tỷ lệ KSTSR ngày D0 và D3,



Lam máu Mẫu máu toàn phần

Hình 1. Hình ảnh thu thập mẫu nghiên cứu

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu theo giới tính, độ tuổi và tiền sử bệnh

Bảng 1. Tỷ lệ mẫu nghiên cứu theo giới tính, độ tuổi và tiền sử bệnh

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ phần trăm (%)
Nhóm tuổi	84	100
< 15 tuổi	32	38,1
>= 15 tuổi	52	61,9
Giới tính	84	100
Nam	51	60,7
Nữ	33	39,3
Tiền sử bệnh sốt rét	84	100
Có	21	25
Không	63	75

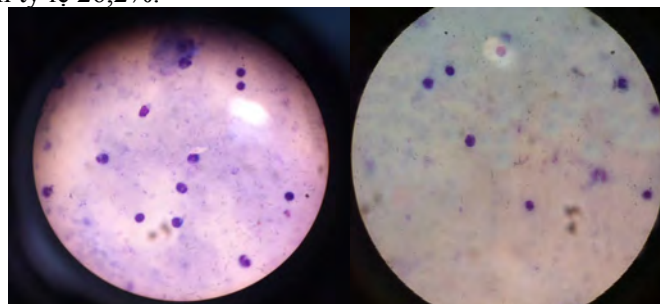
Theo Bảng 1 trong tổng số 84 bệnh nhân *Plasmodium falciparum* không biến chứng, có 32 (38,1%) người dưới 15 tuổi, 52 (61,9%) người từ 15 tuổi trở lên, tỷ lệ nam giới cao hơn nữ giới với 51 nam (60,7%) so với 33 nữ (39,3%). Bệnh nhân có tiền sử bệnh sốt rét là 21 người (25%).

3.2. Tỷ lệ chậm sạch ký sinh trùng trong máu (DPC) sau điều trị với phác đồ *DHA-PPQ* vào ngày thứ 3 xác định bằng kỹ thuật soi kính hiển vi

Bảng 2. Tỷ lệ DPC sau điều trị với phác đồ *DHA-PPQ* vào ngày thứ 3 xác định bằng kỹ thuật soi kính hiển vi

Số lượng	Tỷ lệ phần trăm (%)	Số lượng	Tỷ lệ phần trăm (%)
84	100	22	26,2

Theo Bảng 2, trong tổng số 84 bệnh nhân *Plasmodium falciparum* không biến chứng, số lượng bệnh nhân chậm sạch KSTSR sau điều trị 3 ngày với phác đồ *DHA-PPQ* xác định bằng kỹ thuật soi kính hiển vi là 22 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 26,2%.



Trước điều trị

Sau điều trị

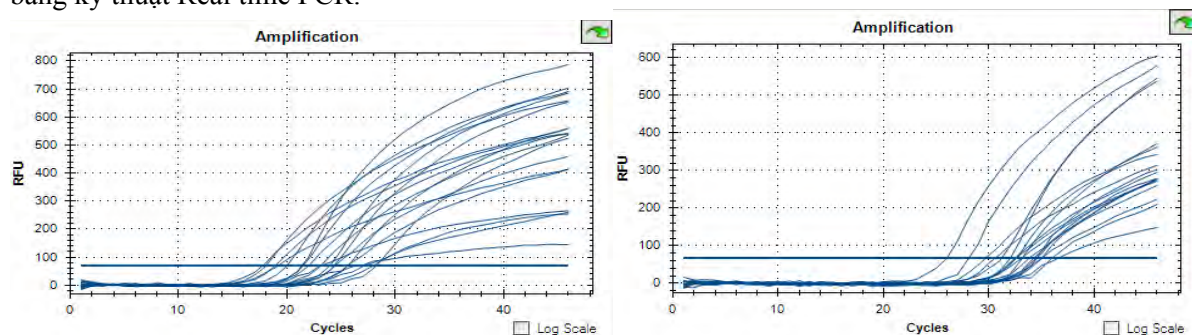
Hình 2. Xác định DPC bằng soi kính hiển vi

3.3. Tỷ lệ chậm sạch ký sinh trùng trong máu (DPC) sau điều trị với phác đồ *DHA-PPQ* vào ngày thứ 3 xác định bằng kỹ thuật Real time PCR

Bảng 3. Tỷ lệ DPC sau điều trị với phác đồ *DHA-PPQ* vào ngày thứ 3 xác định bằng kỹ thuật Real time PCR

Số lượng	Tỷ lệ phần trăm (%)	Số lượng	Tỷ lệ phần trăm (%)
84	100	33	39,3

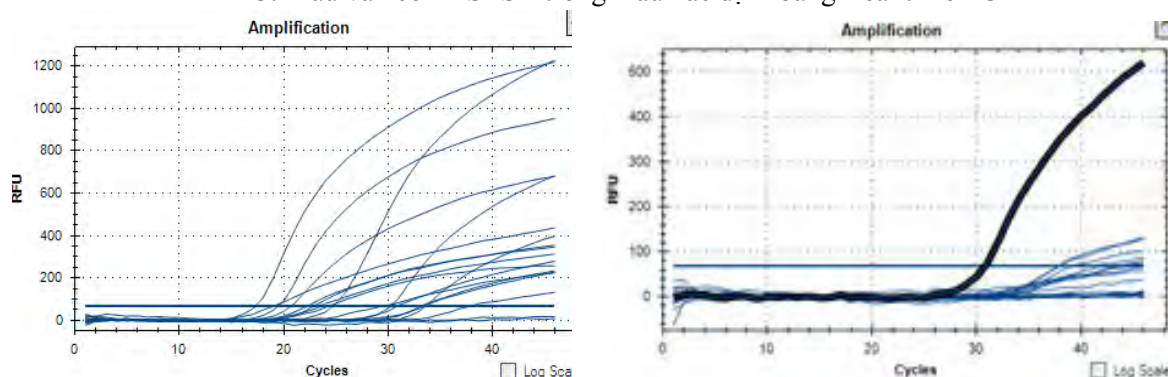
Theo bảng 3, trong tổng số 84 bệnh nhân *Plasmodium falciparum* không biến chứng, số lượng bệnh nhân chậm sạch KSTSR sau điều trị 3 ngày với phác đồ *DHA-PPQ* là 33 chiếm tỷ lệ 39,3% xác định bằng kỹ thuật Real time PCR.



Trước điều trị

Sau điều trị

Hình 3. Mẫu vẫn còn KSTSR trong máu xác định bằng Real time PCR



Hình 4. Mẫu không còn KSTSR trong máu xác định bằng Real time PCR

4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu theo giới tính, độ tuổi và tiền sử bệnh

Huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị là vùng dịch tễ sốt rét đặc hữu cho loài *Plasmodium falciparum*. Theo Trung tâm Y tế dự phòng huyện Hướng Hóa, ở 8 xã biên giới này người bị sốt rét chiếm trên 70% tổng dân số. Về độ tuổi của bệnh nhân, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nhóm bệnh nhân 15 tuổi trở lên là luôn luôn cao hơn so với nhóm bệnh nhân dưới 15 tuổi. Và tỷ lệ nam giới luôn cao hơn nữ. Lý do của hiện tượng này là do đây là vùng dân cư chủ yếu là dân tộc thiểu số, nam giới trưởng thành là lực lượng lao động chính của gia đình và xã hội, vì vậy họ thường đi ra ngoài làm việc; trong thời gian thu hoạch mùa màng họ thường ngủ qua đêm trong nương rẫy gần rừng. Tình hình nêu trên phần nào giải thích hiện tượng nam giới trưởng thành (15 tuổi trở lên) là nhóm chính bị sốt rét trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi.

4.2. Tỷ lệ chậm sạch KSTSR trong máu (DPC) sau điều trị với phác đồ DHA-PPQ vào ngày thứ 3 xác định bằng kỹ thuật soi kính hiển vi (KHV) và Real time PCR

Tương tự như các nước khác trong khu vực tiểu vùng Mekong, kháng thuốc điều trị sốt rét của Việt Nam đã nổi lên với tất cả các loại thuốc điều trị sốt rét. Nhưng DHA-PPQ đã được triển khai có hiệu quả cho *P. falciparum* theo khuyến cáo của WHO, và điều này đã chứng tỏ DHA-PPQ là một phác đồ chống sốt rét có hiệu quả cao trong điều trị bệnh sốt rét *P. falciparum* và phù hợp để sử dụng trong nhiều vùng đặc hữu ở Việt Nam trong đó có tỉnh Quảng Trị.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ chậm sạch KSTSR xác định bằng phương pháp Real time PCR (39,3%) cao hơn soi KHV (26,2%) là phù hợp vì PCR là một kỹ thuật có độ nhạy và đặc hiệu cao, phù hợp với các nghiên cứu trước đây vì Real time PCR tăng độ nhạy phát hiện ký sinh trùng sốt rét trong máu trong trường hợp ký

sinh trùng quá thấp mà kính hiển vi không phát hiện được [14]. Tuy nhiên, trong một số trường hợp KSTSR có thể đã chết hay vỡ ra nhưng vẫn chưa bị các tế bào dọn dẹp (scavenger cells) như đại thực bào tiêu hủy hết thì kết quả Real time PCR vẫn dương tính. Vì vậy, hiện nay KHV vẫn là một phương pháp được sử dụng như một tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán sốt rét và trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ chậm sạch KSTSR xác định bằng soi KHV là 26,2% [3; 9; 11; 12]. Dựa vào định nghĩa kháng ACT của WHO, nghi ngờ kháng ACT khi có 10% bệnh nhân vẫn còn KSTSR trong máu sau 72 giờ (3 ngày) điều trị xác định bằng soi KHV, như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi có ý nghĩa trong vấn đề báo kháng artemisinin xảy ra ở huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam.

Tuy nhiên, vấn đề đặt ra là kháng artemisinin là thật hay không? Và vai trò của các yếu tố góp phần vào sự chậm sạch ký sinh trùng trong máu. Định nghĩa về kháng thuốc của *P. falciparum* hiện nay vẫn chưa thật sự rõ ràng. Người ta chỉ dựa vào sự sạch KSTSR trong máu sau 72 giờ điều trị nhưng có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến kết quả này: chức năng lách của bệnh nhân, bệnh của hồng cầu Hb E, vai trò của marker K13-propeller... [4] [17]. Hơn nữa, có nhiều nghiên cứu gần đây báo cáo vai trò của thuốc phối hợp trong vấn đề làm chậm thời gian sạch KSTSR ở trong máu [6]. Như vậy trong tương lai cần có nhiều hơn các nghiên cứu liên quan khác để góp phần vào việc xác định kháng artemisinin ở Việt Nam cũng như các vùng dịch tễ khác đang báo kháng thuốc trên thế giới.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ chậm sạch ký sinh trùng trong máu sau điều trị 3 ngày với phác đồ DHA-PPQ là 26,2% (22/84 mẫu) xác định bằng soi kính hiển vi và 39,3% (33/84 mẫu) xác định bằng Real time PCR. Theo định nghĩa của WHO, kết quả nghiên cứu này bước đầu góp phần vào việc báo cáo nghi ngờ kháng artemisinin xảy ra ở vùng dịch tễ sốt rét huyện Hướng Hoá, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amaratunga C, M. S., et al. (2013). Slow parasite clearance rates in response to artemether in patients with severe malaria. *Lancet Infect Dis*; 13: 113-14.
2. Amaratunga C, S. S., et al. (2012). Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Pursat province, western Cambodia: a parasite clearance rate study. *Lancet Infect Dis*; 12: 851-58.
3. Boonma P, C. P., et al. (2007). Comparison of three molecular methods for the detection and speciation of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*. *Malar J*, 6:124.
4. Chotivanich K, U. R., et al. (2002). Central role of the spleen in malaria parasite clearance. *J Infect Dis* 185: 1538-1541.
5. Dondorp AM, N. F., et al. (2009). Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria *N Engl J Med*; 361: 455-67.
6. Eziefula AC, B. T., et al. (2014). Single dose primaquine for clearance of *Plasmodium falciparum* gametocytes in children with uncomplicated malaria

- in Uganda: a randomised, controlled, double-blind, dose-ranging trial. *Lancet Infect Dis*; 14: 130-39.
7. Hien TT, T.-N. N., et al. (2012). In vivo susceptibility of *Plasmodium falciparum* to artesunate in Binh Phuoc Province, Vietnam. *Malar J*; 11: 355.
 8. Kyaw MP, N. M., et al. (2013). Reduced susceptibility of *Plasmodium falciparum* to artesunate in southern Myanmar. *PLoS One*; 8: e57689.
 9. Mens P, S. N., et al. (2007). Is molecular biology the best alternative for diagnosis of malaria to microscopy ? A comparison between microscopy, antigen detection and molecular tests in rural Kenya and Urban Tanzania. *Trop Med Int Health*, 12:238-244.
 10. Noedl H, S. Y., et al. (2008). Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med*; 359: 2619-20.
 11. Ohrt C, S. M., et al. (2012). Impact of microscopy error on estimates of protective efficacy in malaria-prevention trials. *J Infect Dis*, 186:540-546.
 12. Perandin F, M. N., et al. (2004). Development of a real-time PCR assay for detection of *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, and *Plasmodium ovale* for routine clinical diagnosis. *J Clin Microbiol*, 42:1214-1219.
 13. Phyo AP, N. S., et al. (2012). Emergence of artemisinin-resistant malaria on the western border of Thailand: a longitudinal study. *Lancet*; 379: 1960-66.
 14. RS, P. (2001). Current status of malaria and potential for control. *Clin Microbiol Rev*, 14:208-226.
 15. Stepniewska K, A. E., et al. (2010). In vivo parasitological measures of artemisinin susceptibility. *J Infect Dis* 201: 570-579.
 16. WHO. (2012). Update on artemisinin resistance, April 2012. Geneva: World Health Organization, 2012. <http://www.who.int/entity/malaria/publications/atoz/arupdate042012.pdf> (accessed Oct 25).
 17. WHO. (2014). Updated December 2014, Representative Office Viet Nam (<http://www.wpro.who.int/vietnam/topics/malaria/factsheet/vi/>).