

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

BỘ Y TẾ

LÝ KHÁNH VÂN

**PHỔ TÁC NHÂN VI SINH GÂY VIÊM PHỔI
MẮC PHẢI CỘNG ĐỒNG
Ở NGƯỜI LỚN NHẬP VIỆN**

Ngành: Khoa học y sinh (Vi sinh y học) Mã số: 9720101

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

NĂM 2024

Công trình được hoàn thành tại: Đại học y dược TPHCM

Người hướng dẫn khoa học: TS.BS Phạm Hùng Vân
PGS.TS.BS Lý Văn Xuân

Phản biện 1:

Phản biện 2

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
hợp tại

vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TPHCM
- Thư viện Đại học y dược TPHCM

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Viêm phổi mắc phải cộng đồng (VPMPCĐ) là một bệnh thường gặp ở mọi lứa tuổi, đặc biệt ở người cao tuổi và có bệnh lý nền. Ở Việt Nam, VPMPCĐ có tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong khá cao. Tác nhân vi sinh gây bệnh gồm vi khuẩn, virus và vi nấm. Tuy nhiên do nhiều hạn chế, kỹ thuật nuôi cấy không phân lập được đầy đủ tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ, góp phần làm cho việc chẩn đoán và điều trị gặp nhiều khó khăn, bệnh có thể diễn biến nặng, nguy cơ tử vong cao. Để góp phần chẩn đoán và điều trị hiệu quả, chúng tôi tiến hành đề tài: “*Phổ tác nhân vi sinh gây viêm phổi mắc phải cộng đồng ở người lớn nhập viện*” phát hiện bằng kỹ thuật multiplex real-time PCR (MPL-rPCR) và nuôi cấy nhằm xác định đầy đủ tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ ở người lớn nhập viện, bao gồm vi khuẩn thường gặp, vi khuẩn không điển hình, virus và vi nấm, đồng thời xác định sự phối hợp tác nhân gây bệnh và các mối liên quan với đặc điểm bệnh nhân.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- (1) Xác định phổ tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ ở người lớn nhập viện bằng kỹ thuật MPL-rPCR và nuôi cấy.
- (2) Xác định tỷ lệ phối hợp các tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ.
- (3) Xác định mối liên quan giữa tác nhân vi sinh với giới tính, nhóm tuổi và tình trạng bệnh lý nền kèm theo.

3. Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý luận và thực tiễn

✓ Phổ tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ bằng kỹ thuật MPL-rPCR gồm 42 tác nhân gây bệnh, tỷ lệ dương tính 82,7%, với : 8 vi khuẩn Gram dương, 6 vi khuẩn Gram âm họ đường ruột, 7 vi khuẩn Gram âm họ không đường ruột, 1 vi khuẩn không điển hình, 10 virus (không kể *EBV* và *CMV*), 10 vi nấm (không kể các vi nấm *Fusarium*) trong khi kỹ thuật nuôi cấy chỉ phân lập được 17 tác nhân gây bệnh với tỷ lệ dương tính 46,0%, gồm 6 vi khuẩn Gram dương, 4 vi khuẩn Gram âm họ đường ruột, 7 vi khuẩn Gram âm họ vi khuẩn không đường ruột trong đó *Streptococcus pneumoniae* và

H. influenzae được phát hiện với tỷ lệ rất thấp (0,6%), cũng như không phát hiện tác nhân vi khuẩn không điển hình, virus và vi nấm gây bệnh.

- ✓ Tỷ lệ phối hợp tác nhân vi sinh gây bệnh : phối hợp vi khuẩn – vi khuẩn 39,6%, virus – vi khuẩn 39,9%, vi nấm – vi khuẩn 33,1%.
- ✓ Mỗi liên quan có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) gồm :

- Tỷ lệ bệnh VPMPCĐ xảy ra ở nam cao hơn ở nữ, ở nhóm tuổi > 60 tuổi cao hơn ở nhóm tuổi ≤ 60 tuổi, tỷ lệ phát hiện tác nhân vi khuẩn bằng kỹ thuật MPL-rPCR cao hơn kỹ thuật nuôi cấy.

- Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD cao hơn ở bệnh nhân VPMPCĐ đơn thuần.

4. Bố cục luận án

Luận án có 157 trang được trình bày đầy đủ các phần theo quy định, gồm Đặt vấn đề (02 trang), Mục tiêu nghiên cứu (01 trang), Tổng quan tài liệu (38 trang), Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (25 trang), Kết quả (56 trang), Bàn luận (32 trang), Kết luận (02 trang), Kiến nghị (01 trang). Luận án gồm 44 bảng, 9 hình và 2 biểu đồ, 145 tài liệu tham khảo (38 tài liệu trong nước và 107 tài liệu nước ngoài), 10 phụ lục và 6 bài báo đính kèm minh họa cho kết quả quá trình thực hiện nghiên cứu đề tài luận án (3 bài báo tiếng Việt, 3 bài báo tiếng Anh).

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Một số vấn đề về viêm phổi mắc phải cộng đồng

VPMPCĐ là viêm phổi xảy ra ở cộng đồng dân cư ngoài bệnh viện, khá phổ biến nhưng không dễ phát hiện chính xác tác nhân vi sinh gây bệnh. Ở nước ta hàng năm có khoảng 4,5 triệu trường hợp VPMPCĐ, phần lớn được theo dõi điều trị ngoại trú, có khoảng 20% phải nhập viện điều trị với phân nửa có biểu hiện nặng, đặc biệt tỷ lệ nhiễm khuẩn và tình trạng bệnh nặng ngày càng tăng cao ở người già và trẻ nhỏ.

1.2. Tác nhân vi sinh gây viêm phổi mắc phải cộng đồng

1.2.1. *Vi khuẩn thông thường* : Hiện nay các vi khuẩn thường gặp trong VPMPCĐ gồm *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *H.*

influenzae, *E. coli*. Trước đây *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* được xác định là tác nhân hàng đầu gây VPMPCĐ nhưng hiện nay tỷ lệ vi khuẩn Gram âm như *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *H. influenzae* chiếm đa số và ngày càng tăng. Trong nuôi cấy *S. pneumoniae* và *H. influenzae* được phát hiện với tỷ lệ thấp do khó phân lập. Ngoài ra mặc dù *P. aeruginosa* được phát hiện với tỷ lệ thấp nhưng có vai trò quan trọng bởi tính kháng kháng sinh cao, thường gây bệnh nặng và tử vong.

1.2.2. *Vi khuẩn không điển hình* : Trước kia, bằng kỹ thuật nuôi cấy truyền thống nên không phát hiện được vi khuẩn không điển hình như *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila*. Gần đây, nhờ kỹ thuật MPL-rPCR, nhiều nghiên cứu đã phát hiện tác nhân vi khuẩn không điển hình với tỷ lệ khoảng 5-8% nhưng hiếm khi đơn nhiễm gây bệnh mà thường phối hợp với tác nhân vi khuẩn khác gây VPMPCĐ ở người lớn.

1.2.3. *Virus* : Kỹ thuật MPL-rPCR phát hiện được nhiều tác nhân virus nhưng vai trò thật sự của virus vẫn còn nhiều đánh giá khác nhau bởi nhiều trường hợp có sự phối hợp virus với vi khuẩn. Các virus gây bệnh thường gặp là *Influenza virus* (type A, B, C), *Parainfluenza virus* đặc biệt là type 3, *RSV*, *Rhinovirus*, *HMV* và các virus mới như cúm *A/H5N1*, cúm *A/H7N9*, *SARS-CoV* và *SARS-CoV2*. Một số công trình nghiên cứu phát hiện *EBV*, *CMV* với tỷ lệ cao nhưng có lẽ đây là các virus hiện diện trong đàm bệnh nhân VPMPCĐ, chưa có nghiên cứu nào xác định đây là tác nhân thật sự gây VPMPCĐ.

1.2.4. *Vi nấm* : Vi nấm cũng được phát hiện bằng kỹ thuật MPL-rPCR bao gồm các loại *Candida*, *Aspergillus*, *Histoplasma* và *Pneumocystic jiroveci*,... nhưng chỉ xảy ra ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch (AIDS, dùng thuốc ức chế miễn dịch), COPD, Hen phế quản, Dẫn phế quản và lao. Ở người khỏe mạnh, sức đề kháng tốt, vi nấm rất khó xâm lấn và phát triển gây bệnh.

1.3. Các quy trình phát hiện tác nhân vi sinh gây bệnh

1.3.1. Quy trình nuôi cấy truyền thống

Trước khi nuôi cấy, các mẫu đàm hay bệnh phẩm có đàm đều được nhuộm Gram để đánh giá độ tin cậy bằng thang điểm Barlett, sau đó thực hiện nuôi cấy và tiến hành kỹ thuật MPL-rPCR các mẫu bệnh phẩm đàm có độ tin cậy ≥ 2 điểm.

Sau khi nhuộm Gram thì tiến hành nuôi cấy ngay (ngày 1). Mỗi mẫu đàm được tiến hành nuôi cấy 4 chiều trên các môi trường phân lập phù hợp. Các môi trường nuôi cấy gồm có thạch máu cừu (^{NK}BA), thạch nâu máu ngựa có bổ sung Bacitracin (^{NK}CAHI) và thạch Mac Conkey (^{NK}MC).

Sau khi ủ qua đêm (ngày 2), quan sát các hộp thạch phân lập để chọn các khuẩn lạc gây bệnh, thực hiện các bước định danh, làm KSD và xác định gene kháng thuốc.

Ngày thứ 3 đọc kết quả và trả lời cho lâm sàng.

1.3.2. Quy trình kỹ thuật MPL-rPCR

Phòng xét nghiệm của Công ty Nam Khoa đang áp dụng quy trình MPL-rPCR được kiểm định và chứng nhận bởi Tổng cục tiêu chuẩn đo lường chất lượng, với khả năng phát hiện và định lượng được 72 tác nhân vi sinh hiện diện trong mẫu đàm. Quy trình bao gồm 2 bước thực hiện:

(1) Thuần nhất mẫu đàm bằng dung dịch làm tan đàm rồi tách chiết DNA/RNA bằng thuốc thử NKDNARNAprep-MAGBEAD dựa trên nguyên tắc sử dụng hạt từ bọc silica (Công ty Nam Khoa sản xuất và đã được thẩm định) được thực hiện trên các máy tách chiết DNARNA tự động KingFisher Flex của Thermoscientific.

(2) Cho các tách chiết DNA này vào các MPL-rPCR mix chứa các môi và Taqman probe đặc hiệu các tác nhân vi sinh muốn tìm rồi cho vào máy real-time PCR (CFX96 của Biorad) để chạy chương trình real-time PCR bao gồm đầu tiên là 53⁰C trong 10 phút để tổng hợp cDNA từ nucleic acid đích là RNA, sau đó ở 95⁰C trong 10 phút để kích hoạt hot-start polymerase, tiếp theo là 40 chu kỳ với mỗi chu kỳ gồm 2 bước nhiệt

độ 95°C trong 30 giây rồi 60°C trong 1 phút. Các kết quả được hiển thị ngay trong quá trình PCR, từ đó sẽ phân tích để phát hiện và định lượng các tác nhân vi sinh phát hiện được.

Toàn bộ quy trình được thực hiện trong khoảng 3 giờ : 1 giờ chuẩn bị mẫu và tách chiết DNA/RNA và khoảng 2 giờ để chạy real- time PCR cũng như phân tích kết quả.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

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

2.2. Đối tượng nghiên cứu : Mẫu bệnh phẩm đàm hay bệnh phẩm có chứa đàm của các bệnh nhân VPMPCĐ điều trị tại khoa Hô hấp các bệnh viện : bệnh viện Đại học Y dược TPHCM, bệnh viện Nhân dân Gia Định và bệnh viện Nguyễn Tri Phương.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu :

- Thời gian nghiên cứu : tháng 4/2021 đến 3/2023
- Địa điểm nghiên cứu : Phòng xét nghiệm của Công ty Nam Khoa.

2.4. Cỡ mẫu :

Công thức tính cỡ mẫu tối thiểu như sau :

$$n = \frac{Z_{(1-\alpha/2)}^2 p(1-p)}{d^2}$$

Với

- Z là trị số tra từ bảng phân phối chuẩn, $Z(1-\alpha/2) = 1,96$
- p là tỷ lệ phát hiện tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ ở người lớn nhập viện. Theo kết quả nghiên cứu REAL 2016-2017 của Phạm Hùng Vân và cộng sự ghi nhận tỷ lệ này là 69%, chúng tôi chọn $p = 0,69$.
- d là sai số, với mong muốn độ tin cậy là 95%, chọn sai số $5\% = 0,05$.

Do đó

$$n = \frac{(1,96)^2 \times 0,69 \times 0,31}{(0,05)^2} = 328,68$$

Vậy cỡ mẫu

tối thiểu là 329.

2.4.1. Tiêu chuẩn chọn mẫu : Là đàm hay chất chứa đàm (gọi chung

là đàm) của các bệnh nhân VPMPCĐ nhập viện được chẩn đoán theo tiêu chuẩn của Bộ y tế tại Quyết định số 4815/QĐ-BYT về “ Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị viêm phổi mắc phải cộng đồng ở người lớn”.

2.4.2. Tiêu chuẩn loại ra : Đàm của bệnh nhân chuyển viện hoặc đã từng xuất viện cách thời điểm lấy mẫu dưới 10 ngày; bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh nền ung thư phổi, lao tiến triển, nhiễm HIV hoặc đang điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch hoặc các mẫu đàm lấy lần sau trên cùng một bệnh nhân trong cùng một đợt điều trị.

2.4.3. Phương pháp chọn mẫu : Chọn mẫu toàn bộ.

2.4.4. Kỹ thuật phát hiện vi sinh vật : Nuôi cấy truyền thống và kỹ thuật MPL-rPCR.

2.5. Phương pháp phân tích số liệu :

2.5.1. Xử lý số liệu :

- Nhập và xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0 và Microsoft Excel 2020
- So sánh các tỷ lệ bằng kiểm định chi bình phương và kiểm định chính xác Fisher với độ tin cậy 95%

2.5.2. Kiểm soát sai lệch :

➤ Sai lệch chọn lựa

- Nghiêm túc thực hiện tiêu chuẩn chẩn đoán và phân loại bệnh lý nền.
- Chọn mẫu đàm đạt tiêu chuẩn theo thang điểm Barlett.
- Thực hiện nghiêm túc tiêu chuẩn loại ra.

➤ Sai lệch thông tin : Thực hiện theo cùng một quy trình đạt chuẩn ở Phòng xét nghiệm Công ty Nam Khoa.

2.6. Đạo đức trong nghiên cứu :

Nghiên cứu chỉ thực hiện trên mẫu đàm của bệnh nhân, ghi nhận và phân tích kết quả phát hiện các tác nhân vi sinh, không tiếp xúc, không gây bất cứ xâm hại nào đối với người bệnh và không can thiệp điều trị của bác sĩ.

Nghiên cứu đã được chấp nhận bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Đại học y dược TPHCM, bệnh viện Nguyễn Tri

Phuong, bệnh viện Nhân dân Gia Định.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐẶC ĐIỂM BỆNH NHÂN VPMPCĐ TRONG NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1 : Phân bố giới tính và nhóm tuổi (n = 341)

Đặc điểm	Tần số	Tỷ lệ	p value
Giới tính			p < 0,001
Nữ	128	37,5	
Nam	213	62,5	
Nhóm tuổi			p < 0,001
16 – 60	92	27,0	
> 60	249	73,0	
Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn			p < 0,001
MPL-rPCR	231	67,7	
Nuôi cấy	157	46,0	

Nhận xét : Nam chiếm đa số với tỷ lệ 62,5% và sự khác biệt so với tỷ lệ nữ (37,5%) có ý nghĩa thống kê (p < 0,001). Nhóm tuổi > 60 chiếm đa số với tỷ lệ 73,0% và sự khác biệt so với tỷ lệ nhóm tuổi ≤ 60 tuổi (27%) có ý nghĩa thống kê (p < 0,001).

3.2. TÁC NHÂN VI SINH PHÁT HIỆN BẰNG MPL- rPCR.

3.2.1. Tác nhân vi khuẩn

Bảng 3.2 : Tỷ lệ các tác nhân vi khuẩn (n = 341)

Tên vi khuẩn	Tần số	Tỷ lệ %
Gram dương (108)		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	56	16,4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	0,6
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	7	2,1
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	1	0,3
<i>Coagulase negative staphylococcus</i>	5	1,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	21	6,2
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	2,1
<i>Enterococcus faecium</i>	9	2,6
Gram âm (Enterobacteriaceae) (125)		
<i>Escherichia coli</i>	33	9,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	63	18,5

Tên vi khuẩn	Tần số	Tỷ lệ %
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0,3
<i>Morganella morganii</i>	12	3,5
<i>Providencia sp.</i>	11	3,2
<i>Proteus mirabilis</i>	5	1,5
Gram âm (Non-Enterobacteriaceae) (165)		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	59	17,3
<i>Burkholderia cepacia</i>	9	2,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	4,4
<i>Moraxella catarrhalis</i>	4	1,2
<i>Haemophilus influenzae</i>	48	14,1
<i>Haemophilus influenzae</i> type B	1	0,3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	29	8,5
Vi khuẩn không điển hình (21)		
<i>Mycoplasma sp.</i>	21	6,2
Tổng	419	
Dương tính	231*	67,7

*231 mẫu dương tính nhưng phát hiện 419 tác nhân vi khuẩn do có sự đồng nhiễm 2 hay nhiều vi khuẩn gây bệnh.

Nhận xét : Có 231/341 mẫu đàm phát hiện tác nhân vi khuẩn gây VPMPCTĐ, tỷ lệ 67,7%, trong đó vi khuẩn Gram âm chiếm 85% (290/341) cao hơn vi khuẩn Gram dương 31,7% (108/341), vi khuẩn không điển hình chiếm tỷ lệ thấp với 6,2% với duy nhất *Mycoplasma sp.*

Bảng 3.3 : Tỷ lệ tác nhân vi khuẩn gây VPMPCTĐ đơn thuần và có bệnh lý nền bằng kỹ thuật MPL – rPCR

Tên vi khuẩn	Đơn thuần (149) n (%)	COPD (91) n (%)	Hen PQ* (18) n (%)	Dẫn PQ* (28) n (%)	ĐTĐ* (76) n (%)
Gram dương					
<i>S. pneumoniae</i> (56)	20(13,4)	19(20,9)	6(33,3)	7(25,0)	8(10,5)
<i>S. agalactiae</i> (2)		2(2,2)			
<i>S. aureus</i> (MRSA) (7)	2(1,3)	1(1,1)	1(5,6)	2(7,1)	3(3,9)

Tên vi khuẩn	Đơn thuần (149) n (%)	COPD (91) n (%)	Hen PQ* (18) n (%)	Dẫn PQ* (28) n (%)	ĐTĐ* (76) n (%)
<i>S. aureus</i> (MSSA) (1)	1(0,7)				
Coagulase negative staphylococcus (5)	2(1,3)	2(2,2)			1(1,3)
<i>S. epidermidis</i> (MRSE) (21)	5(3,4)	11(12,1)	2(11,1)		4(5,3)
<i>E. faecalis</i> (7)	4(2,7)	2(2,2)			2(2,6)
<i>E. faecium</i> (9)	4(2,7)	1(1,1)		1(3,6)	4(5,3)
Gram âm (Enterobacteriaceae)					
<i>E. coli</i> (33)	11(7,4)	12(13,2)		3(10,7)	11(14,5)
<i>K. pneumoniae</i> (63)	28(18,8)	20(22,0)	1(5,6)	2(7,1)	14(18,4)
<i>E. cloacae</i> (1)	1(0,7)				
<i>M. morgani</i> (12)	5(3,4)	3(3,3)			4(5,3)
<i>Providencia</i> sp. (11)	7(4,7)	2(2,2)			3(3,9)
<i>P. mirabilis</i> (5)	2 (1,3)				3(2,6)
Gram âm (Non-Enterobacteriaceae)					
<i>A. baumannii</i> (59)	25(16,8)	23(25,3)		2(7,1)	14(18,5)
<i>B. cepacia</i> (9)	1(0,7)	4(4,4)			4(5,3)
<i>P. aeruginosa</i> (15)	3(2,0)	8(8,8)		4(14,3)	4(5,3)
<i>M. catarrhalis</i> (4)		3(3,3)		1(3,6)	
<i>H. influenzae</i> (48)	15(10,1)	20(22,0)	3(16,7)		12(15,8)
<i>H. influenzae</i> type B (1)		1(1,1)			
<i>S. maltophilia</i> (29)	13(8,7)	9(9,9)	1(5,6)	2(7,1)	6(7,9)
Vi khuẩn không điển hình					
<i>Mycoplasma</i> sp. (21)	7(4,7)	9(9,9)		1(3,6)	6(7,9)
Dương tính	113(75,8)	89(97,8)	12(66,7)	17(60,7)	63(82,9)

*Hen PQ = Hen phế quản, Dẫn PQ = Dẫn phế quản, ĐTĐ = Đái tháo đường

Nhận xét : Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn ở bệnh nhân có bệnh lý nền COPD

cao nhất 97,8%, kể đến là bệnh nhân Đái tháo đường 82,9% cao hơn VPMPCĐ đơn thuần 75,8%.

3.2.2. Tác nhân virus

Bảng 3.4 : Tỷ lệ các tác nhân virus (n = 341)

Tên virus	Tần số	Tỷ lệ %*
<i>Influenza virus type A</i>	35	10,3
<i>Influenza virus type B</i>	15	4,4
<i>Influenza virus type C</i>	1	0,3
<i>Parainfluenza virus type 3</i>	9	2,6
<i>Epstein-Barr virus (EBV)</i>	119	34,9
<i>Cytomegalovirus (CMV)</i>	57	16,7
<i>Rhinovirus</i>	12	3,5
<i>Respiratory syncytial virus</i>	10	2,9
<i>Human metapneumovirus</i>	8	2,3
<i>Adenovirus</i>	1	0,3
<i>Bocavirus</i>	1	0,3
<i>SARS CoV-2</i>	12	3,5
Tổng	280	
Dương tính	196*	57,5

* 196 mẫu dương tính nhưng phát hiện 280 tác nhân virus là do có sự phối hợp 2 hay nhiều tác nhân virus gây bệnh.

Nhận xét : Có 196/341(57,5%) mẫu đàm phát hiện tác nhân virus, trong đó EBV và CMV được cho là tác nhân hiện diện với tỷ lệ 34,9% và 16,7%.

Bảng 3.5 : Tỷ lệ tác nhân virus gây VPMPCĐ đơn thuần và có bệnh lý nền bằng kỹ thuật MPL – rPCR

Tên virus	Đơn thuần (149) n (%)	COPD (91) n (%)	Hen PQ (18) n (%)	Dẫn PQ (28) n (%)	ĐTĐ (76) n (%)
<i>Influenzavirus type</i>	7(4,7)	15(16,5)	4(22,2)	5(17,9)	8(10,5)

11					
Tên virus	Đơn thuần (149) n (%)	COPD (91) n (%)	Hen PQ (18) n (%)	Dẫn PQ (28) n (%)	ĐTĐ (76) n (%)
A(35)					
<i>Influenzavirus type</i>	5(3,4)	3(3,3)	3(16,7)	1(3,6)	4(5,3)
B(15)					
<i>Influenzae virus type</i>	1(0,7)				
C (1)					
<i>Parainfluenza virus</i> <i>type 3(9)</i>	1(0,7)	5(5,5)		2(7,1)	2(2,6)
<i>Epstein-Barr virus</i> (119)	44(29,5)	41(45,1)	7(38,9)	7(25,0)	32(42,1)
<i>Cytomegalovirus</i> (57)	25 (16,8)	23(25,3)	5 (27,8)	3 (10,7)	9 (11,8)
Rhinovirus (12)	6 (4,0)	4 (4,4)	1 (5,6)	1 (3,6)	1 (1,3)
Respiratory syncytial virus (RSV) (10)	3 (2,0)	4 (4,4)	1 (5,6)	1 (3,6)	2 (2,6)
<i>Human</i> <i>metapneumovirus</i> (8)	4 (2,7)	2 (2,2)		1 (3,6)	1 (1,3)
<i>Adenovirus</i> (1)				1 (3,6)	
<i>Bocavirus</i> (1)		1 (1,1)			
<i>SARS-CoV-2</i> (12)	5 (3,4)	5 (5,5)			3 (3,0)
Tổng	101(67,8)	103(113,2)*	21(116,7)*	22 (78,6)	62 (81,6)

* Tỷ lệ > 100% do đồng nhiễm 2 loại virus

Nhận xét : Tác nhân virus được phát hiện có tỷ lệ cao nhất ở bệnh nhân VPMPCTĐ có bệnh lý nền COPD 113,2% Hen PQ 116,7%, ĐTĐ 81,6%. Bệnh nhân VPMPCTĐ đơn thuần có tỷ lệ thấp nhất (67,8%). Trường hợp EBV và CMV được cho là tác nhân hiện diện thì tỷ lệ phát hiện virus gây

bệnh ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD 42,9% (39/91), Hen PQ 50% (9/18), Dẫn PQ 42,9% (12/28), ĐTĐ (27,6% (21/76). VPMPCĐ đơn thuần tỷ lệ thấp nhất 21,5% (32/149).

3.2.2. Tác nhân vi nấm

Bảng 3.6 : Tỷ lệ phát hiện vi nấm (n = 341)

Tên vi nấm	Tần số	Tỷ lệ %
<i>Pan Aspergillus</i>	14	4,1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	1,2
<i>Aspergillus niger</i>	3	0,9
<i>Aspergillus terreus</i>	1	0,3
<i>Candida albicans</i>	101	29,6
<i>Candida kefyr</i>	1	0,3
<i>Candida tropicalis</i>	28	8,2
<i>Candida krusei</i>	4	1,2
<i>Candida glabrata</i>	29	8,5
<i>Pneumocystic jiroveci</i>	2	0,6
<i>Fusarium oxysporum</i>	2	0,6
<i>Fusarium verticillioides</i>	2	0,6
<i>Fusarium solani</i>	1	0,3
Tổng	192	
Dương tính	133*	39,0

* 133 mẫu bệnh phẩm dương tính, phát hiện 192 tác nhân vi nấm là do có nhiều trường hợp có 2 loại vi nấm trong cùng một bệnh phẩm.

Nhận xét : Có 133/341 mẫu đàm phát hiện vi nấm, chiếm tỷ lệ 39%, trong đó *C. albicans* chiếm tỷ lệ cao nhất 29,6%. *Aspergillus* và *Pneumocystic* chiếm tỷ lệ thấp (0,6% - 4,1%).

Bảng 3.7 : Tỷ lệ vi nấm phát hiện trong VPMPCĐ đơn thuần và có bệnh lý nền bằng kỹ thuật MPL – rPCR

Tên vi nấm	Đơn thuần (149) n (%)	COPD (91) n (%)	Hen PQ (18) n (%)	Dẫn PQ (28) n (%)	ĐTĐ (76) n (%)
<i>Pan Aspergillus</i> (14)	9 (6,0)	4 (4,4)	1 (5,6)		1 (1,3)

Tên vi nấm	Đơn thuần (149) n (%)	COPD (91) n (%)	Hen PQ (18) n (%)	Dẫn PQ (28) n (%)	ĐTĐ (76) n (%)
<i>A. fugimatus</i> (4)	2 (1,3)	2 (2,2)			
<i>A. niger</i> (3)		2 (2,2)		1 (3,6)	3 (3,9)
<i>A. terrus</i> (1)	1 (0,7)				
<i>C. albicans</i> (101)	38(25,5)	34(37,40)	5 (27,8)	8 (28,6)	29 (38,2)
<i>C. kefir</i> (1)	1 (1,7)				
<i>C. tropicalis</i> (28)	9 (6,0)	6 (6,6)		2 (7,1)	11 (14,5)
<i>C. krusei</i> (4)	1 (0,7)	2 (2,2)			3 (3,9)
<i>C. glabrata</i> (29)	13 (8,7)	8 (8,8)		2 (7,1)	6 (7,9)
<i>P. jiroveci</i> (2)	1 (0,7)	1 (1,1)			1 (1,3)
<i>F. oxysporum</i> (2)		1 (1,1)		1 (3,6)	
<i>F. verticillioides</i> (2)		1 (1,1)		1 (3,6)	
<i>F. solani</i> (1)		1 (1,1)			
Dương tính	75(51,4)	62 (68,1)	6 (33,3)	15 (33,6)	54 (71,1)

Nhận xét : Tác nhân vi nấm phát hiện ở bệnh nhân VPMPCTĐ có bệnh lý nền ĐTĐ chiếm tỷ lệ cao nhất (71,1%), kế đến là bệnh nhân có bệnh lý nền COPD (68,1%), bệnh nhân có bệnh lý nền Dẫn PQ 53,6%. Bệnh nhân VPMPCTĐ đơn thuần chiếm tỷ lệ 51,4%. Các vi nấm *Fusarium* không phát hiện trong VPMPCTĐ đơn thuần và được cho là tác nhân hiện diện trong đàm.

3.3. TÁC NHÂN VI KHUẨN PHÂN LẬP BẰNG NUÔI CẤY

Bảng 3.8 : Tỷ lệ tác nhân vi khuẩn trong nuôi cấy

Tên vi khuẩn	Tần số	Tỷ lệ %
Gram dương (24)		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	0,6
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	1	0,3
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	11	3,2
<i>Coagulase negative staphylococcus</i>	5	1,5
<i>S. epidermidis</i> (MRSE)	1	0,3
<i>Enterococcus faecium</i>	4	1,2

Gram âm (Enterobacteriaceae) (67)		
<i>Escherichia coli</i>	16	4,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	47	13,8
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0,3
<i>Proteus mirabilis</i>	3	0,9
Gram âm (Non-Enterobacteriaceae) (66)		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	44	12,9
<i>Burkholderia cepacia</i>	2	0,6
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1	0,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	3,8
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	0,3
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	0,6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	0,9
Dương tính	157	46,0

Nhận xét: Tỷ lệ dương tính là 46,0%, trong đó *K. pneumoniae* có tỷ lệ cao nhất 13,8%, kế đến *A. baumannii* 12,9%, *P. aeruginosa* 3,8%.

3.4. SO SÁNH PHÙ HỢP VI KHUẨN GIỮA MPL - rPCR VÀ NUÔI CẤY

Bảng 3.9 : Tỷ lệ vi khuẩn phù hợp

Tác nhân vi khuẩn	MPL - rPCR		Nuôi cấy	
	n	%	n	%
<i>S. pneumoniae</i>	56	16,4	2	0,6
<i>S. agalactiae</i> (GBS)	2	0,6	0	0,0
<i>S. aureus</i> (MRSA)	7	2,1	1	0,3
<i>S. aureus</i> (MSSA)	1	0,3	11	3,2
CoNS	5	1,5	5	1,5
<i>S. epidermidis</i> (MRSE)	21	6,2	1	0,3
<i>E. faecalis</i>	7	2,1	0	0,0
<i>E. faecium</i>	9	2,6	4	1,2
<i>E. coli</i>	33	9,7	16	4,7
<i>K. pneumoniae</i>	63	18,5	47	13,8
<i>E. cloacae</i>	1	0,3	0	0,0
<i>M. organii</i>	12	3,5	0	0,0

Tác nhân vi khuẩn	MPL - rPCR		Nuôi cấy	
	n	%	n	%
<i>Providencia</i> sp.	11	3,2	0	0,0
<i>P. mirabilis</i>	5	1,5	3	0,9
<i>A. baumannii</i>	59	17,3	44	12,9
<i>B. cepacia</i>	9	2,6	2	0,6
<i>P. aeruginosa</i>	15	4,4	11	3,2
<i>M. catarrhalis</i>	4	1,2	1	0,3
<i>H. influenzae</i>	48	14,1	2	0,6
<i>H. influenzae</i> type B	1	0,3	0	0,0
<i>S. maltophilia</i>	29	8,5	3	0,9
<i>C. freundii</i>	0	0,0	1	0,3
<i>B. pseudomallei</i>	0	0,0	1	0,3
<i>Mycoplasma</i>	21	6,2	0	0,0

Nhận xét : Các vi khuẩn *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli* được phát hiện với tỷ lệ cao ở cả 2 kỹ thuật. *S. pneumoniae* và *H. influenzae* được phát hiện tỷ lệ cao ở kỹ thuật MPL-rPCR (16,4% và 14,1%) nhưng ở kỹ thuật nuôi cấy có tỷ lệ phát hiện thấp (0,6% và 0,6%). *C. freundii* và *B. pseudomallei* phân lập được bằng phương pháp nuôi cấy nhưng không phát hiện được bằng kỹ thuật MPL-rPCR.

3.5. PHỐI HỢP TÁC NHÂN VI SINH PHÁT HIỆN BẰNG MPL-rPCR

3.5.1. Phối hợp vi khuẩn – vi khuẩn

Bảng 3.9 : Tỷ lệ vi khuẩn đơn nhiễm và phối hợp (n = 341)

Tác nhân	Tác nhân đơn nhiễm		Tác nhân phối hợp		Tổng	
	n	%	n	%	n	%
<i>S. pneumoniae</i>	12	4,1	44	12,9	56	16,2
<i>S. agalactiae</i>	0	0	2	0,6	2	0,6
<i>S. aureus</i> (MRSA)	1	0,3	6	1,8	7	2,1
<i>S. aureus</i> (MSSA)	1	0,3	0	0	1	0,3

Tác nhân	Tác nhân đơn nhiễm		Tác nhân phối hợp		Tổng	
<i>CoNS</i>	2	0,6	3	0,9	5	1,5
<i>S. epidermidis (MRSE)</i>	1	0,3	20	5,9	21	6,2
<i>E. faecalis</i>	2	0,6	5	1,5	7	2,1
<i>E. faecium</i>	2	0,6	7	2,1	9	2,6
<i>E. coli</i>	7	2,1	26	7,6	33	9,7
<i>K. pneumoniae</i>	15	4,4	48	14,1	63	18,5
<i>E. cloaceae</i>	0	0	1	0,3	1	0,3
<i>M. morganii</i>	0	0	12	3,5	12	3,5
<i>Providencia sp.</i>	0	0	11	3,2	11	3,2
<i>P. mirabilis</i>	0	0	5	1,5	5	1,5
<i>A. baumannii</i>	15	4,4	44	12,9	59	17,3
<i>B. cepacia</i>	3	0,9	6	1,8	9	2,6
<i>P. aeruginosa</i>	5	1,5	10	2,9	15	4,4
<i>M. catarrhalis</i>	2	0,6	2	0,6	4	1,2
<i>H. influenzae</i>	24	7,0	24	7,0	48	14,1
<i>H. influenzae type B</i>	0	0	1	0,3	1	0,3
<i>S. maltophilia</i>	4	1,2	25	7,3	29	8,5
<i>Mycoplasma sp.</i>	0	0	21	6,2	21	6,2
<i>Tổng</i>	96		323		419	

Nhận xét : Có 96/341 bệnh nhân (28,2%) nhiễm 1 tác nhân vi khuẩn (đơn nhiễm) và 135 (231-96) bệnh nhân nhiễm từ 2 vi khuẩn trở lên, tỷ lệ 39,6% (135/341).

3.5.2. Phối hợp virus - vi khuẩn

Bảng 3.10 : Tỷ lệ virus đơn nhiễm và phối hợp với vi khuẩn (n=341)

Tên virus	Đơn nhiễm n (%)	Phối hợp với vi khuẩn n (%)
<i>Influenza virus type A</i> (35)	7 (20)	28 (80)
<i>Influenza virus type B</i> (15)	4 (26,7)	11 (73,3)
<i>Parainfluenza virus type 3</i> (9)	0 (0)	9 (100)
<i>Influenzavirus type C</i> (1)	1 (100)	0 (0)
<i>Epstein-Barr virus (EBV)</i> (119)*	28 (23,5)	79 (66,4)
<i>Cytomegalovirus (CMV)</i> (57)**	1 (1,8)	44 (77,2)
<i>Rhinovirus</i> (12)	5 (41,7)	7 (58,3)
<i>Respiratory syncytial virus</i> (10)	4 (40)	6 (60)
<i>Human metapneumo virus</i> (8)	5 (62,5)	3 (37,5)
<i>Adenovirus</i> (1)	0 (0)	1 (100)
<i>Bocavirus</i> (1)	0 (0)	1 (100)
<i>SARS CoV-2</i> (12)	5 (4,7)	7 (58,3)
Tổng	60	196
Dương tính	196	

* 12 trường hợp (10,1%) nhiễm kết hợp với vi nấm hoặc virus khác.

** 12 trường hợp (19,3%) nhiễm kết hợp với vi nấm hoặc virus khác.

Nhận xét : Tác nhân virus có tỷ lệ đơn nhiễm 17,6% (60/341) và phối hợp với vi khuẩn 136 trường hợp (196-60), tỷ lệ 39,9% (136/341). *EBV* và *CMV* được cho là tác nhân hiện diện thì tỷ lệ virus đơn nhiễm gây bệnh 9,1% (31/341), phối hợp với vi khuẩn 21,4% (73/341).

3.6. CÁC MỐI LIÊN QUAN

(1) Tỷ lệ bệnh nhân VPMPCĐ nam cao hơn nữ, bệnh nhân VPMPCĐ đồng nhóm tuổi > 60 tuổi cao hơn nhóm tuổi ≤ 60 tuổi. Tỷ lệ phát hiện tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ bằng kỹ thuật MPL-rPCR cao hơn tỷ lệ phát

hiện tác nhân vi sinh bằng kỹ thuật nuôi cấy. Sự khác biệt các tỷ lệ trên đều có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

(2) Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ phát hiện tác nhân vi khuẩn bằng **kỹ thuật nuôi cấy** giữa bệnh nhân VPMPCĐ nhóm tuổi > 60 tuổi với nhóm tuổi ≤ 60 tuổi. Không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng **kỹ thuật MPL-rPCR** giữa các nhóm tuổi.

(3) Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng kỹ thuật MPL-rPCR giữa bệnh nhân VPMPCĐ đơn thuần và bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD. Không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng kỹ thuật nuôi cấy giữa VPMPCĐ đơn thuần và có bệnh lý nền COPD.

(4) Có mối liên có ý nghĩa thống kê về VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD giữa bệnh nhân nữ với bệnh nhân nam. Không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa bệnh nhân nhóm tuổi ≤ 60 tuổi với bệnh nhân > 60 tuổi về VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD.

(5) Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê về VPMPCĐ có bệnh lý nền Đái tháo đường giữa bệnh nhân nhóm tuổi ≤ 60 tuổi với bệnh nhân nhóm tuổi > 60 tuổi. Không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa bệnh nhân nữ với bệnh nhân nam về bệnh lý Đái tháo đường.

3.7. SỰ HIỆN DIỆN CỦA CÁC GENE ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH

Bảng 3.11 : Sự hiện diện các gene sinh carbapenemase

Gene của <i>K. pneumoniae</i>	Mer(I /R)	Mer (S)	Tổng	Gene của <i>A. baumannii</i>	Mer(I/ R)	Mer(S)	Tổng
Không có gene	4	19	23	Không có gen	1	2	3
OXA-48- like	6	1	7	OXA-51	4	5	9
KPC	1		1	OXA-58	1		1

NDM1	3		3	OXA-51/58	1		1
OXA-48-like/NDM1	10		10	OXA-51/NDM1	3		3
OXA-48-like/KPC	1		1	OXA-58/NDM1		1	1
Tổng	25	10	45	OXA-51/53	12		12
				OXA-51/23/NDM1	2		2
				OXA-51/58/NDM1	1		1
				OXA-53/58	2		2
				Tổng	27	8	35

Mer : Meropenem

S : sensitive (nhạy cảm)

I : intermediate (trung gian)

R : resistant (đề kháng)

Nhận xét : Sự hiện diện gene OXA-48-like ở *K. pneumoniae* chiếm đa số với 68,0%, trong khi gene OXA-51 của *A. baumannii* chiếm đa số với 82,2%.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. PHỔ TÁC NHÂN VI SINH GÂY VPMPCĐ

4.1.1. Đặc điểm bệnh nhân VPMPCĐ

Bệnh nhân nam chiếm tỷ lệ 62,5%, bệnh nhân nữ 37,5% và sự khác biệt về tỷ lệ nam/nữ có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương đồng hầu hết các công trình nghiên cứu trong nước và nước ngoài, vì nam giới có thói quen hút thuốc lá, uống rượu, phơi nhiễm nghề nghiệp,...là những yếu tố nguy

cơ VPMPCĐ.

Bệnh nhân nhóm tuổi > 60 tuổi chiếm tỷ lệ 73% so với 27% của nhóm tuổi ≤ 60 tuổi và sự khác biệt về tỷ lệ 2 nhóm tuổi có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với hầu hết các nghiên cứu trong nước cũng như ở nước ngoài do suy giảm miễn dịch ở người lớn tuổi.

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh tình trạng bệnh lý nền có liên quan đến gia tăng tỷ lệ VPMPCĐ do có liên quan đến nhóm bệnh nhân lớn tuổi.

4.1.2. Tác nhân vi khuẩn gây VPMPCĐ

Tỷ lệ tác nhân vi khuẩn gây VPMPCĐ được phát hiện bằng kỹ thuật MPL-rPCR là 67,7%, bằng kỹ thuật nuôi cấy là 46% với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng kỹ thuật MPL-rPCR tương đương với nhiều nghiên cứu của các tác giả khác, tuy nhiên tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng kỹ thuật nuôi cấy trong kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác thay đổi từ 35-60% tùy thời điểm, địa điểm nghiên cứu.

Vi khuẩn được phát hiện bằng kỹ thuật MPL-rPCR được ghi nhận Gram âm chiếm đa số, (*K.pneumoniae* 18,5%, *A.baumannii* 17,3%, *H.influenzae* 14,1%) tương đương với nhiều nghiên cứu khác. Vi khuẩn phân lập bằng nuôi cấy cũng được ghi nhận vi khuẩn Gram âm chiếm đa số nhưng với tỷ lệ thấp hơn. Có lẽ trong những năm gần đây, vi khuẩn Gram âm được phát hiện gây VPMPCĐ ngày càng tăng, đặc biệt là *K.pneumoniae*, *A.baumannii*. Trong nuôi cấy, *H.influenzae* được phát hiện với tỷ lệ thấp 0,6% trong khi ở kỹ thuật MPL-rPCR với tỷ lệ 14,1%, có lẽ do vi khuẩn khó nuôi cấy và cũng có thể bệnh nhân đã sử dụng kháng sinh trước khi nhập viện. Ngoài ra nghiên cứu của chúng tôi cũng phát hiện vi khuẩn không điển hình *Mycoplasma* với tỷ lệ 6,2% tương tự như kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả khác (6- 10%). *Mycoplasma* thường phối hợp với vi khuẩn khác gây VPMPCĐ. Về vi khuẩn Gram dương, *S.pneumoniae* chiếm tỷ lệ cao ở kỹ thuật MPL-rPCR với 16,4% trong khi ở kỹ thuật nuôi cấy chỉ có 0,6% do khó phân lập. Mặc dù hiện nay *S.pneumoniae* được phát hiện với tỷ lệ thấp hơn trước đây nhưng theo kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả, *S.pneumoniae* vẫn có vai trò quan trọng, là một trong những vi khuẩn hàng đầu gây VPMPCĐ. Vi khuẩn *S.aureus* kháng Methicillin được phát hiện với tỷ lệ 2,1% và *S.aureus* thường phát hiện ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền tương đương với một số nghiên cứu khác.

4.1.3. Vi khuẩn gây VPMPCĐ đơn thuần và có bệnh lý nền

Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn bằng kỹ thuật MPL-rPCR ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD và Đái tháo đường cao hơn bệnh nhân VPMPCĐ đơn thuần (97,8% và 82,9% so với 75,8%). Có lẽ bệnh nhân COPD có tình trạng viêm mạn tính đường hô hấp nên chức năng bảo vệ của hệ thống nhầy-lông chuyển suy giảm cùng với sự suy giảm hệ thống miễn dịch nói chung nên vi khuẩn dễ xâm nhập gây bệnh. Bệnh nhân Đái tháo đường có lượng đường trong máu cao có thể tạo điều kiện cho vi khuẩn dễ dàng xâm nhập gây bệnh.

4.1.4. Tỷ lệ phát hiện tác nhân virus

Tỷ lệ phát hiện tác nhân virus là 57,5% trong đó *EBV* có tỷ lệ cao nhất 34,9%, kế đến là *CMV* 16,7%. Tuy nhiên cho đến nay chưa có tài liệu nào khẳng định *EBV* và *CMV* là tác nhân gây VPMPCĐ, như vậy trong trường hợp *EBV* và *CMV* được cho là tác nhân hiện diện trong mẫu đàm thì nhóm *Influenza virus*, đặc biệt là *Influenza virus type A* chiếm tỷ lệ cao nhất 10,3% và là virus được nhiều tác giả ghi nhận là tác nhân virus quan trọng trong VPMPCĐ.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy tỷ lệ virus gây VPMPCĐ ở bệnh nhân có bệnh lý nền cao hơn bệnh nhân đơn thuần, đặc biệt với *Influenza virus type A, B, Parainfluenza virus type 3*, *RSV* là những virus thường được phát hiện gây VPMPCĐ. Có lẽ bệnh nhân có bệnh lý nền mạn tính, hệ thống miễn dịch bảo vệ ở đường hô hấp bị suy giảm nên dễ bị nhiễm virus. Mặt khác nhiễm vi khuẩn cũng tạo điều kiện thuận lợi cho nhiễm virus và ngược lại.

4.1.5. Tỷ lệ phát hiện vi nấm

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ phát hiện vi nấm bằng kỹ thuật MPL-rPCR là 39% (133/341) với số lượng 196 tác nhân vi nấm do có sự đồng nhiễm, trong đó *C. albicans* chiếm tỷ lệ cao nhất 29,6% và theo nghiên cứu của nhiều tác giả, *C. albicans* thường gặp nhất trong các trường hợp nhiễm vi nấm xâm lấn. Vi nấm có thể thường trú không gây bệnh, cũng có thể xâm lấn gây bệnh ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Chúng tôi không thể xác định vi nấm phát hiện được là tác nhân nguyên phát hay thứ phát sau khi vi khuẩn gây VPMPCĐ do thiết kế nghiên cứu của chúng tôi là mô tả cắt ngang.

Ngoài ra kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy tỷ lệ phát hiện vi nấm ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền ĐTĐ cao nhất với tỷ lệ 77,1%, kế đến là COPD 68,1% trong khi VPMPCĐ đơn thuần 51,4%. Điều này có thể lý giải ở bệnh nhân có bệnh lý nền thường là bệnh nhân > 60 tuổi, hệ thống miễn dịch suy giảm nên dễ bị vi nấm xâm nhập hơn bệnh nhân đơn thuần, trẻ tuổi.

4.2. TỶ LỆ PHỐI HỢP TRONG VPMPCĐ

4.2.1. Phối hợp tác nhân vi khuẩn-vi khuẩn

Kỹ thuật MPL-rPCR đa mồi đã phát hiện 39,6% mẫu đàm chứa 2 hay nhiều tác nhân vi khuẩn gây bệnh. Phân tích vai trò của các tác nhân vi khuẩn phối hợp cho thấy *M. morganii*, *Providencia*, *P. mirabillis*, *S. agalactiae*, *H. influenzae* type B và *E. cloacae* và *Mycoplasma* thường phối hợp với các vi khuẩn khác. Nhận định của chúng tôi cũng giống như kết quả nghiên cứu của các tác giả khác.

4.2.2. Phối hợp tác nhân virus-vi khuẩn

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ nhiễm phối hợp virus-vi khuẩn là 39,9% (136/341) và cũng như một số tác giả khác, chúng tôi không thể xác định virus hay vi khuẩn là tác nhân phát hay thứ phát. Chúng tôi cũng ghi nhận tỷ lệ nhiễm virus phối hợp vi khuẩn ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD, Hen PQ, Dẫn PQ và ĐTĐ cao hơn bệnh nhân VPMPCĐ đơn thuần. Có lẽ bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền thường là bệnh nhân > 60 tuổi, là những bệnh nhân có hệ thống miễn dịch chống lại sự xâm nhập của virus hoạt động kém hoặc đã suy giảm đáng kể.

4.3. SỰ HIỆN DIỆN CỦA CÁC GENE ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH

A. baumannii kháng Meropenem với sự hiện diện của các gene : OXA-23, OXA-51, OXA-58/NDM1, trong đó gene OXA-51 chiếm tỷ lệ cao nhất là 75,2% (23/27). Một số trường hợp không phát hiện gene OXA-51 ở một số chủng *A. baumannii* là do có đoạn ISAbal chèn trước gene OXA-51. Ngược lại, mặc dù có gene kháng thuốc OXA-51 nhưng cũng có một số chủng *A. baumannii* nhạy cảm với Meropenem. Về phát hiện gene sinh ESBL đi kèm với các gene sinh carbapenemase của *K. pneumoniae*, chúng tôi ghi nhận nếu gene CTX-M đi kèm với gene NDM1 thì đa số các chủng *K. pneumonia* kháng với Ceftazidime/Avibactam trong khi nếu

gene CTX-M không đi kèm với gene NDM1 thì *K. pneumoniae* nhạy cảm với Ceftazidime/Avibactam. Có lẽ Avibactam là một loại beta-lactamase inhibitor có khả năng ức chế các beta-lactamase class A và D, trừ class B (NDM1).

KẾT LUẬN

Qua khảo sát 341 mẫu đàm bằng kỹ thuật MPL-rPCR phát hiện vi khuẩn với tỷ lệ 67,7%, virus 57,5%, vi nấm 39,0% và bằng nuôi cấy có tỷ lệ dương tính 46,0%.

1. Phổ tác nhân vi sinh VPMPCĐ ở người lớn nhập viện

❖ Kỹ thuật multiplex real-time PCR

- Vi khuẩn Gram dương : *S. pneumoniae* 16,4%, *S. epidermidis* (MRSE) 6,2%, *E. faecium* 2,6%, MRSA 2,1%, *E. faecalis* 2,1%, CoNS 1,5%, MSSA 0,3%.
- Vi khuẩn Gram âm nhóm Enterobacteriaceae : *K. Pneumoniae* 18,5%, *E. coli* 9,7%, *M. morganii* 3,5%, *Providencia* 3,2%, *P. mirabilis* 1,5%, *E. cloacae* 0,3%. Gene sinh carbapenemase của *K. pneumoniae* : OXA-48-like, KPC, NDM1; của *E. coli* : OXA-48-like, OXA-51. Gene sinh ESBL của *K. pneumoniae* : CTX-M1, CTX-M9; của *E. coli* : CTX-M1, CTX-M9. Gene sinh AmpC của *K. pneumoniae* : DHA, EBC; của *E. coli* : DHA.
- Vi khuẩn Gram âm nhóm Non – Enterobacteriaceae : *A. baumannii* 17,3%, *H. influenzae* 14,1%, *S. maltophilia* 8,5%, *P. aeruginosa* 4,4%, *B. cepacia* 2,6%, *M. catarrhalis* 1,2%, *H. influenzae* type B 0,3%. Gene sinh carbapenemase của *A. baumannii* : OXA-51, OXA-58, OXA-23, NDM1; của *P. aeruginosa* : IMP. Gene sinh ESBL của *A. baumannii* : CTX-M1, CTX-M9.
- Vi khuẩn không điển hình : *Mycoplasma* sp. 6,2%.
- Virus : *Influenza virus* type A 10,3%, *Influenza virus* type B 4,4%, SARS-CoV2 3,5%, *Rhinovirus* 3,5%, RSV 2,9%, *Parainfluenza virus* 2,6%, *H. metapneumovirus* 2,3%, *Influenza virus* type C 0,3%, *Adenovirus* 0,3%, *Bocavirus* 0,3%.
- Vi nấm : *C. albicans* 29,6%, *C. glabrata* 8,5%, *C. tropicalis* 8,2%, *Pan Aspergillus* 4,1%, *A. fumigatus* 1,2%, *C. krusei* 1,2%, *A. niger* 0,9%, *P. jiroveci* 0,6%, *A. terreus* 0,3%, *C. kefyr* 0,3%.

❖ **Bảng kỹ thuật nuôi cấy :**

- Vi khuẩn Gram dương : *S. aureus* (MSSA) 3,2%, *CoNS* 1,5%, *E. faecium* 1,2%, *S. pneumoniae* 0,6%, *MRSA* 0,3%, *MRSE* 0,3%.
- Vi khuẩn Gram âm nhóm Enterobacteriaceae : *K. pneumoniae* 13,8%, *E. coli* 4,7%, *P. mirabilis* 0,9%, *C. freundii* 0,3%.
- Vi khuẩn Gram âm nhóm Non – Enterobacteriaceae : *A. baumannii* 12,9%, *H. influenzae* 0,6%, *S. maltophilia* 0,9%, *P. aeruginosa* 3,8%, *B. cepacia* 0,6%, *B. pseudomallei* 0,3%, *M. catarrhalis* 0,3%.

2. Tỷ lệ phối hợp các tác nhân vi sinh gây VPMPCĐ

- Tỷ lệ vi khuẩn phối hợp với vi khuẩn : 39,6%.
- Tỷ lệ virus phối hợp với vi khuẩn : 39,9%.
- Tỷ lệ vi nấm đồng nhiễm với vi khuẩn : 33,1%.

3. Các mối liên quan có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$

- Tỷ lệ bệnh VPMPCĐ xảy ra ở nam cao hơn ở nữ, ở nhóm tuổi > 60 tuổi cao hơn ở nhóm tuổi ≤ 60 tuổi, tỷ lệ phát hiện tác nhân vi khuẩn bằng kỹ thuật MPL - rPCR cao hơn kỹ thuật nuôi cấy.
- Tỷ lệ bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD xảy ra ở nam cao hơn ở nữ.
- Tỷ lệ phát hiện vi khuẩn ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền COPD cao hơn ở bệnh nhân VPMPCĐ đơn thuần.
- Tỷ lệ bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh lý nền Đái tháo đường xảy ra ở nhóm tuổi > 60 tuổi cao hơn ở bệnh nhân nhóm tuổi ≤ 60 tuổi.

KIẾN NGHỊ

1. *S. pneumoniae*, *H. influenzae* là những tác nhân vi khuẩn hàng đầu gây VPMPCĐ nhập viện nhưng khó phân lập bằng kỹ thuật nuôi cấy. Do đó, trong một số trường hợp cần thực hiện kỹ thuật MPL-rPCR xác định tác nhân vi khuẩn để có hướng sử dụng kháng sinh hợp lý.

2. Virus – vi khuẩn phối hợp với tỷ lệ 39,9% và thường xảy ra ở bệnh nhân VPMPCĐ có bệnh nền COPD, do đó cần có một số nghiên cứu thêm nhằm xác định tác nhân nào thường là tác nhân nguyên phát, tác nhân nào là thứ phát để có biện pháp phòng ngừa và điều trị hiệu quả.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Lý Khánh Vân**, Lý Văn Xuân (2019), “Tác nhân vi khuẩn gây viêm phổi mắc phải cộng đồng phát hiện bằng kỹ thuật multiplex real-time PCR”, *Tạp chí y học TP HCM*, 23(1), tr. 66-73.
2. **Lý Khánh Vân**, Nguyễn Hiền Minh (2020), “Vi khuẩn phổi hợp gây viêm phổi mắc phải cộng đồng ở bệnh nhân nhập viện”, *Tạp chí y học TP HCM*, 24(1), tr. 137-140.
3. **Lý Khánh Vân**, Lý Văn Xuân, Lê Thị Thu Hương, Phạm Hùng Vân (2020), “Bacterial pathogens causing community– acquired pneumonia in hospitalized adult patients with and without chronic obstructive pulmonary disease”, *Science & Technology Journal*, 26(2), p. 1-8.
4. **Lý Khánh Vân**, Lê Thị Huệ, Phan Thị Cẩm Luyến, Đỗ Thị Thanh Thư (2023), “Tác nhân vi sinh phát hiện trên mẫu đàm bệnh nhân viêm phổi mắc phải cộng đồng nhập viện”, *Tạp chí y học Việt Nam*, 530(1), tr. 173-177.
5. **Lý Khánh Vân**, Lý Văn Xuân, Phạm Hùng Vân, Phạm Minh Phương (2024), “Bacterial and Viral Co-Infection Community-Acquired Pneumonia in Adult : A Prospective Study of Multiple Hospital Centers”, *MedPharmRes*, 2024, Vol.8, No.3.
6. **Lý Khánh Vân**, Lý Văn Xuân, Phạm Hùng Vân (2023), “Prospective Profile of Bacterial pathogens in Hospitalized Adult Patients with Community- Acquired Pneumonia : Insights from Multiplex Real-time PCR and Traditional Culture Techniques.”, *MedPharmRes*, 2024(8):2,p.122-130.