

# TÁC NHÂN VI SINH VẬT GÂY NHIỄM TRÙNG HÔ HẤP TRONG THỜI ĐẠI MỚI VÀ PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN

Hoàng Thị Bích Ngọc\*, Vũ Thị Huyền, Bùi Thị Huyền  
Bệnh viện Nhi Trung ương

## TÓM TẮT

Tác nhân vi sinh vật gây nhiễm trùng đường hô hấp, từ virus (Sars-CoV2, Adeno, cúm, hợp bào hô hấp) hay tác nhân vi khuẩn (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*) đều có đặc điểm riêng biệt, quyết định khả năng gây bệnh của tác nhân với cơ thể.

Sử dụng phương pháp truyền thống (soi kính, nuôi cấy, miễn dịch) và phương pháp phân tử để xác định các loại tác nhân gây bệnh.

**Từ khóa:** tác nhân, phương pháp.

## MICROBIAL PATHOGEN CAUSING RESPIRATORY INFECTIONS IN MODERN TIMES AND DIAGNOSTIC METHODS

Hoang Thi Bich Ngoc, Vu Thi Huyen, Bui Thi Huyen  
Vietnam National Children's Hospital

Microbial pathogens causing respiratory infections, such as viruses (SARS-CoV2, Adeno, Influenza, Respiratory syncytial virus) or bacterial pathogens (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*), all have unique characteristics that determine the pathogenicity.

Using traditional method (microscopy, culture, immunology) and molecular method to identify pathogens.

**Keywords:** pathogen, method

## I. TÁC NHÂN VI SINH VẬT GÂY NHIỄM TRÙNG HÔ HẤP THỜI KỲ MỚI

Sự thay đổi và thích nghi nhanh chóng của vi sinh vật tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật vượt qua hàng rào bảo vệ của cơ thể trở thành tác nhân gây bệnh. Ngày nay, du lịch toàn cầu kết nối nhanh chóng, tăng trưởng dân số, đô thị hóa, điều kiện sống đông đúc, chật chội, phá rừng, đã làm thay đổi môi trường sống của động vật mang mầm bệnh, tạo điều kiện thuận lợi đẩy nhanh tốc độ lây truyền của vi sinh vật đặc biệt là vi sinh vật lây truyền theo đường hô hấp. Việc sử dụng kháng sinh không đúng, không kiểm soát ở người, trong chăn nuôi làm đẩy nhanh sự phát triển của tình trạng vi khuẩn kháng thuốc.

Mức độ nghiêm trọng của bệnh nhiễm trùng phụ thuộc vào độc lực của vi sinh vật và các yếu tố liên quan đến bệnh nhân như tuổi, sức đề kháng, các bệnh lý tiềm ẩn.

### 1.1. Các virus gây nhiễm trùng đường hô hấp

#### 1.1.1. Virus Sars-CoV-2

Toàn thế giới vừa chứng kiến làn sóng bùng phát đại dịch COVID-19 do virus Sars-CoV-2 xảy ra trên toàn cầu, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe và tính mạng con người. Sars-CoV-2 là virus RNA sợi đơn, có vỏ, thuộc họ *Coronaviridae*. Họ này bao gồm các loại virus có khả năng lây nhiễm trên nhiều loài gia cầm và động vật có vú như Mers-CoV và Sars-CoV.

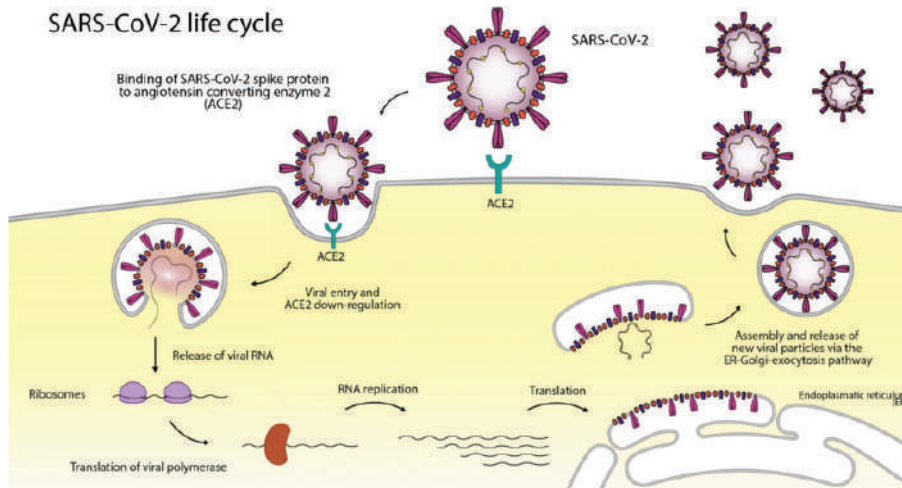
Nhận bài: 28-3-2023; Phản biện 16-4-2024; Chấp nhận: 16-4-2024

Người chịu trách nhiệm: Hoàng Thị Bích Ngọc

Email: htbngoc.nhp@gmail.com

Địa chỉ: Bệnh viện Nhi Trung ương

Sars-CoV-2 khi xâm nhập vào đường hô hấp, sử dụng protein S bám vào thụ thể ACE2 (angiotensin converting enzyme 2) để xâm nhập vào tế bào biểu mô hô hấp. Sau khi hợp nhất màng virus và màng bào tương của tế bào biểu mô, RNA của virus thực hiện quá trình truyền đạt thông tin cho tế bào chủ (nhân lên, dịch mã) để tổng hợp các thành phần cho virus, sau đó virus thoát ra khỏi tế bào chủ.



**Hình 1.** Vòng đời của virus Sars-CoV-2

E: Protein vỏ; M: protein màng; N: Nucleocapsid

Nguồn: Stephany Beyerstedt và cộng sự, năm 2021

### 1.1.2. Adenovirus

Adenovirus lần đầu tiên được phân lập từ mô hạch, có thể gây nhiều bệnh cảnh nhiễm trùng khác nhau: nhiễm trùng hô hấp, tiêu chảy, viêm kết mạc. Adenovirus là virus DNA sợi đôi, không có vỏ, gồm 6 nhóm (A - G) với hơn 100 serotype được xác định, trong đó có 49 serotype gây bệnh ở người. Adenovirus gây nhiễm trùng hô hấp ở cả trẻ em và người lớn, thường gặp nhóm B, C và E.

**Bảng 1.** Nhiễm trùng hô hấp với các serotype của Adenovirus thường gặp

Loại nhiễm trùng	Serotypes
Nhiễm trùng đường hô hấp trên	1, 2, 3, 5, 7
Nhiễm trùng đường hô hấp dưới	3, 4, 7, 14, 21, 35
Sốt, viêm họng và kết mạc	2, 3, 4, 7, 14
Viêm kết - giác mạc	3, 8, 19, 37

### 1.1.3. Influenza virus (virus cúm)

Virus cúm chia làm 4 nhóm: A, B, C và D. Virus cúm A và B gây dịch theo mùa ở người (được gọi là cúm mùa). Virus cúm A là loại virus cúm duy nhất có thể gây ra đại dịch cúm. Đại dịch cúm có

thể xảy ra khi một loại virus cúm mới xuất hiện lây nhiễm cho người, có khả năng lây lan giữa người với người và người không có hoặc có rất ít miễn dịch chống lại loại virus này. Nhiễm virus cúm C thường gây bệnh nhẹ. Virus cúm D chủ yếu ảnh hưởng đến gia súc và lây lan sang các động vật khác nhưng chưa có bằng chứng lây sang người.

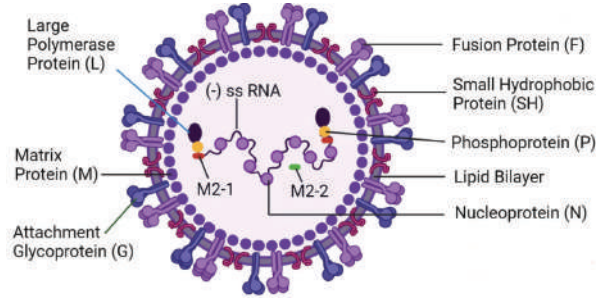
Virus cúm A được chia thành các subtypes dựa trên hai loại protein bề mặt virus: hemagglutinin (H) và neuraminidase (N). Hiện có 18 subtypes hemagglutinin (H1 đến H18) và 11 subtypes neuraminidase (N1 đến N11). Trong khi đã xác định có hơn 130 tổ hợp subtypes cúm A trong tự nhiên, chủ yếu từ các loài chim hoang dã, có khả năng có nhiều tổ hợp subtypes cúm A do xu hướng virus "tái tổ hợp". Sự tái tổ hợp có thể xảy ra khi hai loại virus cúm lây nhiễm cùng lúc vào vật chủ và có sự trao đổi thông tin di truyền.

Hiện nay các subtypes virus cúm A thường lưu hành ở người bao gồm A(H1N1) và A(H3N2). Nhiễm cúm gia cầm virus cúm A (H5N1) ở người

thường nghiêm trọng, có khả năng tác động nguy hiểm đến sức khỏe cộng đồng.

1.1.4. Respiratory syncytial virus (Virus hợp bào hô hấp)

RSV là virus RNA, có vỏ. RSV sử dụng Glycoprotein (G) bám vào tế bào chủ và Fusion Protein (F) hòa màng tế bào chủ để xâm nhập vào tế bào biểu mô. Dựa sự khác nhau của glycoprotein, chia 2 nhóm: RSV-A và RSV-B.



Hình 2. Cấu trúc virus hợp bào hô hấp

Nguồn: Loonibha Shrestha, năm 2022

Fusion Protein của virus có tác dụng kết hợp các tế bào nhiễm và không nhiễm virus để tạo thành hợp bào (một tế bào có nhiều nhân) vì vậy RSV được gọi virus hợp bào hô hấp. RSV xâm nhập vào tế bào biểu mô của đường hô hấp, lây lan xuống đường hô hấp dưới, nơi virus nhân lên hiệu quả hơn. Tế bào biểu mô phá hủy, làm tăng sự tích tụ trong lòng ống dẫn khí, góp phần gây tắc nghẽn đường thở.

RSV là căn nguyên virus quan trọng nhất gây nhiễm trùng đường hô hấp dưới cấp tính ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ trên toàn thế giới. Vào năm đầu đời, 70% trẻ em đã bị nhiễm RSV và gần 100% trẻ bị nhiễm trước 2 tuổi.

1.2. Các vi khuẩn gây nhiễm trùng đường hô hấp

1.2.1. Vi khuẩn Haemophilus influenzae

Cấu trúc khuẩn, Gram âm, đa hình thái, cư trú bình thường ở đường hô hấp

Haemophilus influenzae (H. influenzae) được chia làm 2 loại, không có vỏ (không định type) và H. influenzae có vỏ.

H. influenzae có vỏ được phân thành 6 serotype (a – f), có tính kháng nguyên khác nhau. H. influenzae type b (Hib) có vỏ polysaccharide polyribosyl ribitol phosphate (PRP) là yếu tố

độc lực chính của vi khuẩn. Vỏ bảo vệ vi khuẩn khỏi hiện tượng thực bào và tạo điều kiện cho vi khuẩn xâm nhập vào máu và dịch não tủy.

H. influenzae có khả năng kháng kháng sinh bằng cơ chế sinh enzyme  $\beta$ -lactamase (kháng ampicillin và amoxicillin). Một số chủng mặc dù không có enzyme  $\beta$ -lactamase, nhưng thay đổi cấu trúc vận chuyển kháng sinh nên có khả năng kháng một số kháng sinh như ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanic, cefuroxime, piperacillin-tazobactam.

1.2.2. Vi khuẩn Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae) là cầu khuẩn, Gram dương, xếp đôi hình ngọn nến.

Độc lực của vi khuẩn là vỏ polysaccharide, giúp vi khuẩn trốn khỏi hàng rào bảo vệ của cơ thể. Vỏ vi khuẩn mang điện tích âm giúp vi khuẩn tránh mắc kẹt trong chất nhày đường hô hấp, tiếp cận và bám vào tế bào biểu mô đường hô hấp.

Độc lực vi khuẩn là protein bề mặt như hyaluronate lyase, tăng cường khả năng bám của vi khuẩn và tạo màng sinh học (biofilm) để nhiều vi sinh vật có thể bám vào, nhân lên và phát triển.

II. CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN TÁC NHÂN VI SINH VẬT

Các vi sinh vật sống cộng sinh tại đường hô hấp bảo vệ đường hô hấp bằng cơ chế cạnh tranh thụ thể (receptor) với vi khuẩn gây bệnh. Tuy nhiên khi gặp điều kiện thuận lợi như sức đề kháng bị suy giảm, tổn thương biểu mô đường hô hấp, các vi khuẩn sống hội sinh có thể trở thành tác nhân gây bệnh.

Hiện nay, khái niệm phổi khỏe mạnh không phải là cơ quan vô trùng đang định hình lại cách phiên giải kết quả chẩn đoán vi sinh vật trong phòng xét nghiệm.

Phát hiện tác nhân gây bệnh đường hô hấp phụ thuộc vào loại mẫu, chất lượng mẫu, thời điểm lấy mẫu sau khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng, cũng như vận chuyển và bảo quản mẫu trước khi xét nghiệm. Mẫu bệnh phẩm nên được thu thập càng sớm càng tốt trong giai đoạn cấp tính của nhiễm trùng, tốt nhất là trước khi sử dụng kháng sinh hoặc kháng virus.

Ngày nay, ngoài sử dụng phương pháp truyền thống (soi kính, nuôi cấy và định danh, miễn dịch) để xác định tác nhân nhiễm trùng đường hô hấp thì phương pháp phân tử góp phần phát hiện các tác nhân mà kỹ thuật truyền thống khó phát hiện (virus, vi khuẩn khó nuôi cấy).

Mỗi phương pháp xét nghiệm đều có điểm mạnh, nhưng cũng có những điểm hạn chế trong xác định vi sinh vật gây bệnh.

### 2.1. Soi kính hiển vi

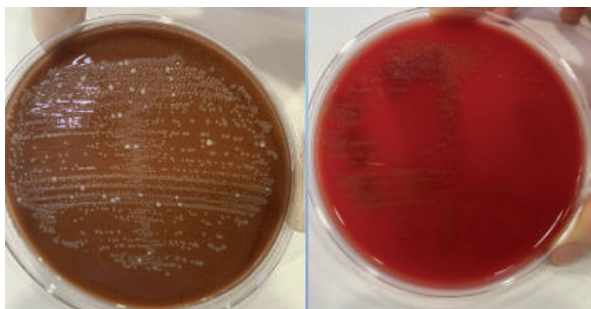
Là bước đầu tiên của quá trình nuôi cấy, cung cấp thông tin về chất lượng mẫu bệnh phẩm, thông qua đánh giá số lượng tế bào biểu mô và bạch cầu đa nhân trong tiêu bản nhuộm Gram. Có thể cung cấp thông tin sớm về căn nguyên gây nhiễm trùng.

Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm đường hô hấp được chấp nhận để nuôi cấy, khi số lượng tế bào biểu mô dưới 10 được quan sát bằng vật kính có độ phóng đại nhỏ (x10)

### 2.2. Nuôi cấy

Kỹ thuật nuôi cấy xác định vi khuẩn tiếp tục là một công cụ chẩn đoán hữu hiệu trong phòng xét nghiệm. Tuy nhiên, nuôi cấy phát hiện virus hiện nay ít được thực hiện vì tốn thời gian, đòi hỏi phòng xét nghiệm chuyên sâu. Phần lớn xét nghiệm virus đã được thay thế bằng các kỹ thuật chẩn đoán phân tử.

Trong đường hô hấp bình thường vẫn có hệ sinh vật, ngưỡng xác định vi khuẩn là căn nguyên nhiễm trùng trong bệnh phẩm dịch nội khí quản từ 10<sup>5</sup> CFU/ml (CFU: đơn vị khuẩn lạc), trong dịch rửa phế quản từ 10<sup>4</sup> CFU/ml.



**Hình 3.** Khuẩn lạc của *H. influenzae* chiếm chủ yếu (trái) và *S. pneumoniae* (phải) trên môi trường nuôi cấy

Định danh vi khuẩn thông qua xác định tính chất hóa sinh hoặc dựa vào công nghệ khối phổ (Maldi - tof) để xác định vi khuẩn.

### 2.3. Phát hiện kháng nguyên

Xét nghiệm sắc ký miễn dịch phát hiện kháng nguyên sử dụng phổ biến để xác định virus (RSV, cúm) từ bệnh phẩm đường hô hấp như dịch mũi, dịch tỵ hầu.

Phương pháp này cũng sử dụng để phát hiện vi khuẩn như phát hiện kháng nguyên *S. pneumoniae*, *Legionella pneumophila* trong nước tiểu.

### 2.4. Phương pháp phân tử

Sử dụng hữu ích để phát hiện virus và một số vi khuẩn khó nuôi cấy như *Mycoplasma pneumoniae*, *Bordetella pertussis*.

#### Các kỹ thuật phân tử được sử dụng để chẩn đoán tác nhân gây nhiễm trùng

Kỹ thuật	Cách thức
PCR đơn mỗi	Sử dụng một cặp mỗi đặc hiệu để khuếch đại một đoạn trình tự mục tiêu duy nhất
PCR đa mỗi	Sử dụng nhiều cặp mỗi khác nhau để khuếch đại đồng thời các trình tự mục tiêu khác nhau trong cùng một phản ứng
Giải trình tự 16S rRNA	Phân tích các đoạn gen 16S rRNA có mặt trong mẫu, đọc trình tự gen RNA ribosom 16S
Next generation sequencing	Giải trình tự toàn bộ bộ gen của vi khuẩn/ virus hoặc giải trình tự đồng thời nhiều gen vi khuẩn/virus

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel EB.** COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021;40(5):905-919. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04138-6>
- Loonibha Shrestha.** Respiratory syncytial virus (RSV)- An Overview, 2022, June 18, <https://microbenotes.com/respiratory-syncytial-virus-rsv/>

3. **Nicola Clementi, Sreya Ghosh, Maria De Santis** *et al.* Viral Respiratory Pathogens and Lung Injury, 2021, 31 march, <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00103-20>
4. **David R. Murdoch, Anja M. Werno.** Microbiological Diagnosis of Respiratory Illness, 2019 : 396–405.e3, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7152272/>.
5. **Anjali N. Kunz, Martin Ottolini.** The Role of Adenovirus in Respiratory Tract Infections, 2010; 12(2): 81–87, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7089177/>
6. **CDC.** Types of Influenza Viruses, <https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>