

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG

NGÔ KHÁNH PHƯƠNG

**XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY
NÃO ÚNG THUỶ VÀ NHIỄM TRÙNG SƠ SINH BẰNG
PHƯƠNG PHÁP GIẢI TRÌNH TỰ RNA VÀ 16S rRNA
TẠI BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG**

**Chuyên ngành: Vi sinh vật học
Mã số: 9 42 01 07**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2024

**CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU NÀY ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI
VIỆN VỆ SINH DỊCH TỄ TRUNG ƯƠNG**

Người hướng dẫn khoa học:

1. GS.TS. Đặng Đức Anh
2. PGS.TS. Hoàng Thị Thu Hà

Phản biện 1: **PGS.TS. Nguyễn Thái Sơn**
- Học viện Quân y

Phản biện 2: **PGS.TS. Khu Thị Khánh Dung**
- Bệnh viện Nhi Trung ương

Phản biện 3: **TS. Nguyễn Thị Kim Phương**
- Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp Viện họp tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

Vào hồi.. ...giờ, ngàythángnăm 2024.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc gia
2. Thư viện Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Ngô Khánh Phương**, Trịnh Sơn Tùng, Lê Huy Hoàng, Hoàng Thị Bích Ngọc, Trần Thị Mai Hưng, Phạm Quang Thái, Trần Quang Trí, Trần Minh Điền, Lê Thị Hà, Trần Văn Sĩ, Tống Thị Hà, Bùi Minh Trang, Hoàng Thị Thu Hà, Đặng Đức Anh (2023), “Phát hiện một số tác nhân gây não úng thủy, nhiễm trùng sơ sinh bằng phương pháp nuôi cấy, PCR đa môi và phân tích 16S rRNA ở bệnh nhân sơ sinh tại Bệnh viện Nhi Trung ương, năm 2019 – 2020”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 33, số 5 - 2023, tr.161-165.
2. **Ngô Khánh Phương**, Trịnh Sơn Tùng, Trần Thị Mai Hưng, Phạm Quang Thái, Trần Quang Trí, Trần Minh Điền, Lê Thị Hà, Hoàng Thị Bích Ngọc, Trần Văn Sĩ, Tống Thị Hà, Bùi Minh Trang, Hoàng Thị Thu Hà, Đặng Đức Anh (2023), “Mô tả một số đặc điểm bệnh nhi não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tại bệnh viện 150 Nhi Trung ương, năm 2019 – 2020”, *Tạp chí Y học dự phòng*, tập 33, số 5 - 2023, tr.150-159.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Não úng thủy là bệnh lý về thần kinh thường gặp ở trẻ sơ sinh và đến nay vẫn là một thách thức đối với nền y học thế giới. Hàng năm có khoảng 400.000 trường hợp mắc bệnh não úng thủy ở trẻ em trên thế giới, hầu hết ca bệnh xuất hiện ở các nước đang phát triển và nguyên nhân chính là do nhiễm trùng. Các nhiễm trùng này thường bắt nguồn từ nhiễm trùng sơ sinh, não úng thủy sau nhiễm trùng có thể xuất hiện ở trẻ nhỏ sau khi mắc nhiễm trùng sơ sinh. Nhiễm trùng sơ sinh (NTSS) rất hay gặp và là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở trẻ sơ sinh, đặc biệt là ở trẻ sơ sinh non tháng. Tỷ lệ trẻ mắc não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh ở các nước thu nhập thấp và trung bình là cao hơn nhiều lần so với các nước phát triển, đặc biệt là khu vực châu Phi và Đông Nam Á trong đó có Việt Nam.

Gần đây, kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (next generation sequence) với hiệu năng cao đã làm giảm giá thành của kỹ thuật giải trình tự gen đáng kể và cho phép đọc trình tự với độ dài có thể bằng cả hệ gen. Tuy nhiên, việc áp dụng kỹ thuật giải trình tự gene cho chẩn đoán tác nhân gây nhiễm khuẩn trên trẻ em còn chưa khả thi để thực hiện tại các bệnh viện, đặc biệt đối với bệnh não úng thủy. Thêm vào đó, phương pháp nuôi cấy truyền thống và sinh học phân tử hiện nay ở bệnh viện có thể phát hiện được các tác nhân tiềm ẩn khác không? Khả năng phát hiện các tác nhân gây bệnh của giải trình tự 16S rRNA và RNA-sequence là như thế nào? Chính vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu *để tài “Xác định tác nhân gây não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh bằng phương pháp giải trình tự RNA và 16S rRNA tại bệnh viện Nhi Trung ương”* nhằm cung cấp cơ sở dữ liệu khoa học cho các câu hỏi trên và thực hiện các mục tiêu sau:

1. Mô tả một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhi não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tại bệnh viện Nhi Trung ương, 2019-2020.
2. Xác định một số tác nhân gây não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh bằng phương pháp giải trình tự RNA và 16S rRNA.

Những điểm mới về khoa học và giá trị thực tiễn của đề tài

Nghiên cứu đã tổng hợp, phân tích một số đặc điểm của nhóm bệnh nhi não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tại bệnh viện Nhi Trung ương từ 2019-2020 và đưa ra một số thông tin cơ bản về đặc điểm nhân khẩu học cũng như tác nhân phát hiện bằng phương pháp xét nghiệm bệnh viện như nuôi cấy, PCR đa môi.

Nghiên cứu đã đánh giá được ưu, nhược điểm của các phương pháp xét nghiệm phát hiện tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh đang ứng dụng phổ biến trong chẩn đoán lâm sàng hiện nay.

Nghiên cứu sử dụng kỹ thuật giải trình tự gene thế hệ mới, cụ thể là giải trình tự 16S rRNA và RNA-seq để phát hiện tác nhân vi khuẩn, vi rút nghi ngờ gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh.

CẤU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 120 trang không kể tài liệu tham khảo và phụ lục, có 17 bảng, 27 hình. Đặt vấn đề 2 trang. Tổng quan 41 trang; đối tượng và phương pháp nghiên cứu 20 trang; kết quả nghiên cứu 35 trang; bàn luận 19 trang; kết luận 2 trang và kiến nghị 1 trang.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1 Nãó úng thủy

1.1.1. Định nghĩa nãó úng thủy

Nãó úng thủy là thuật ngữ để chỉ một tình trạng bệnh lý của hệ thần kinh, mô tả tình trạng quá nhiều dịch nãó tủy trong các nãó thất và khoang dưới nhện.

1.1.2. Phân loại nãó úng thủy

Phân loại theo căn nguyên: Nãó úng thủy bẩm sinh và mắc phải. Phân loại theo cơ chế bệnh sinh: Nãó úng thủy thể thông và thể không thông.

1.1.3. Dịch tễ học bệnh nãó úng thủy ở trẻ em

Hiện nay, dự đoán trên thế giới khoảng 400,000 trường hợp trẻ mắc mới nãó úng thủy mỗi năm và tỷ lệ mắc bệnh ở trẻ em là 85/100,000 trẻ. Tỷ lệ mắc nãó úng thủy của trẻ em dựa trên thống kê các bài báo nghiên cứu trên toàn thế giới và chỉ ra tỷ lệ mắc nãó úng thủy của trẻ sơ sinh ở các nước có thu nhập thấp và trung bình cao hơn ở các nước phát triển. Tỷ lệ mắc nãó úng thủy ở bé trai mắc cao hơn bé gái.

Tại Việt Nam, nãó úng thủy xuất hiện khá sớm nhưng chưa có thống kê đầy đủ về tình hình mắc bệnh. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Quang Bài, tỷ lệ mắc bệnh nãó úng thủy ở Việt Nam tương đương với các nước trong khu vực và có tỷ lệ mắc ở bé trai và gái là sấp xỉ. Theo nghiên cứu ở 128 trẻ tại khoa Phẫu thuật thần kinh, bệnh viện Nhi Trung ương từ năm 2017-2018 của tác giả Trần Văn Sĩ, tỷ lệ mắc bệnh ở nam cao hơn nữ, cụ thể tỷ lệ này là nam/nữ = 1,8/1, tỷ lệ mắc ở trẻ dưới 6 tháng tuổi là cao nhất (38,3%) và có 3 trường hợp tử vong.

1.2. Nhiễm trùng sơ sinh

1.2.1. Định nghĩa nhiễm trùng sơ sinh

Nhiễm trùng sơ sinh (neonatal sepsis) là một hội chứng lâm sàng ở trẻ ≤ 28 ngày tuổi; bao gồm các triệu chứng nhiễm trùng hệ thống và/hoặc nhiễm trùng khu trú; do tác nhân gây bệnh là vi khuẩn hiện diện trong máu.

1.2.2. Phân loại nhiễm trùng sơ sinh

a. Nhiễm trùng sơ sinh khởi phát sớm

Nhiễm trùng sơ sinh khởi phát sớm (early onset sepsis – EOS) được định nghĩa là khi các triệu chứng nhiễm khuẩn khởi phát trong vòng những ngày đầu sau khi sinh, thông thường là trong vòng 72 giờ đầu.

b. Nhiễm trùng sơ sinh khởi phát muộn

Nhiễm trùng sơ sinh khởi phát muộn (late onset sepsis - LOS) một số chuyên gia định nghĩa nhiễm trùng sơ sinh khởi phát muộn là nhiễm trùng khởi phát ở thời điểm > 72 giờ tuổi.

1.2.3. Dịch tễ học bệnh nhiễm trùng sơ sinh

Theo thống kê về tình trạng nhiễm trùng sơ sinh trên thế giới, tỷ lệ trẻ sơ sinh mắc bệnh là 2824 trên 100,000 trẻ sinh sống (95% CI 1099–4360) với tỷ lệ tử vong là từ 11% đến 19%. Tỷ lệ trẻ sơ sinh mắc nhiễm trùng sơ sinh ở các nước nghèo và đang phát triển cao gấp 10 lần so với các nước phát triển. Trẻ sơ sinh nam đủ tháng có tỷ lệ nhiễm trùng cao hơn trẻ sơ sinh nữ đủ tháng, mặc dù mối liên quan này chưa thấy ở trẻ sinh non.

Ở Việt Nam, các thống kê về nhiễm trùng sơ sinh chưa mang tính hệ thống, chủ yếu là các nghiên cứu nhỏ lẻ. Theo nghiên cứu của các bệnh viện Phụ sản và Nhi của các vùng, tỷ lệ tử vong do nhiễm trùng sơ sinh từ 11,11%-46%.

1.3. Tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

Tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tương đối giống nhau và thuộc các nhóm vi khuẩn, vi rút và nấm.

Não úng thủy sau nhiễm trùng (PostInfectious Hydrocephalus-PIH) thường do tác nhân vi sinh vật gây nên các nhiễm trùng như liên cầu khuẩn nhóm B (group B *Streptococcus* - GBS), *Escherichia coli* và *Haemophilus influenzae*. Bên cạnh đó, theo nghiên cứu của nhóm nhà khoa học thuộc đại học Bang Pennsylvania thực hiện tại Uganda, vi khuẩn gram âm thuộc nhóm Gamma-proteobacteria (bao gồm *Pseudomonas*, *Escherichia*, và *Acinetobacter*) và Betaproteobacteria (*Burkholderia*) là căn nguyên gây bệnh nhân não úng thủy ở trẻ sơ sinh. Ở nghiên cứu tiếp theo tại Uganda, các nhà khoa học đã tìm ra vi khuẩn *Paenibacillus thiaminolyticus* gây nên não úng thủy sau nhiễm trùng ở trẻ em.

Tương tự não úng thủy, liên cầu khuẩn nhóm B (GBS) và *Escherichia coli* là hai nguyên nhân phổ biến nhất gây ra nhiễm trùng sơ sinh khởi phát sớm. Trong khi đó CoNS (Coagulase-negative staphylococcus), vi khuẩn Gram dương khác bao gồm *Staphylococcus aureus*, *Enterococci*, GBS; và vi khuẩn gram âm bao gồm *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Serratia* và nấm là các tác nhân gây nhiễm trùng sơ sinh khởi phát muộn. Bên cạnh đó, virút và nấm cũng là tác nhân gây nhiễm trùng sơ sinh. Vi rút Adenovirus, CMV, Enterovirus, HSV, Rubella, Rotavirus, Parvovirus, Zika và *Toxoplasma* spp. là các tác nhân gây nên nhiễm trùng sơ sinh, cụ thể là tác động lên hệ thần kinh của trẻ sơ sinh gây viêm não, viêm màng não.

1.4. Các phương pháp sinh học phân tử chẩn đoán não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

Hiện nay, các kỹ thuật mới dựa trên nguyên lý PCR cơ bản được phát triển mạnh trong việc chẩn đoán bệnh nhiễm trùng sơ sinh và não úng thủy, trong đó có phương pháp PCR đa môi (multiplex PCR). Phương pháp real-time PCR đã được ứng dụng trong rất nhiều nghiên cứu về bệnh truyền nhiễm ở trẻ sơ sinh. Đặc biệt phương pháp SeptiFast được đưa vào trong các xét nghiệm chẩn đoán bệnh tại các bệnh viện và các trung tâm cấp cứu sơ sinh với mục tiêu xác định căn nguyên nhiễm trùng ở trẻ.

Bên cạnh đó, phương pháp giải trình tự 16S rRNA tập trung vào các vùng gene V1-V9 của vi khuẩn đang được ứng dụng nhiều trong chẩn đoán nhiễm trùng sơ sinh. Giải trình tự 16S rRNA dựa trên sự phát triển của kỹ thuật giải trình tự gene thế hệ mới để xác định loài, sự đa dạng sinh học, thành phần, mức độ phong phú của vi sinh vật.

Phương pháp giải trình tự RNA hay giải trình tự thông lượng cao để lập hồ sơ phiên mã của tế bào. RNA-seq có thể xác định được các tác nhân vi sinh vật từ vi rút, vi khuẩn, nấm và ký sinh trùng.

Chương 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu thuộc dự án nghiên cứu tiền khả thi về tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh giữa Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, Bệnh viện Nhi Trung ương và Trường Đại học bang Pennsylvania. Nghiên cứu thực hiện theo phương pháp mô tả kết hợp phân tích phòng thí nghiệm

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện tại bệnh viện Nhi Trung ương, giai đoạn từ tháng 10/2019 đến tháng 12/2020.

2.3. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện trên trẻ sơ sinh nghi ngờ mắc não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tại Bệnh viện Nhi trung ương, giai đoạn từ tháng 10/2019 đến tháng 12/2020, được lấy mẫu máu, dịch não tủy (DNT) để xác định căn nguyên.

2.4. Cỡ mẫu và lựa chọn đối tượng nghiên cứu

2.4.1. Cỡ mẫu

Nghiên cứu lấy mẫu thuận tiện, chọn mẫu toàn bộ đáp ứng theo tiêu chuẩn lựa chọn.

Sau khi thu thập trong giai đoạn từ 2019-2020, tổng số bệnh nhi não úng thủy là 41 trẻ và nhiễm trùng sơ sinh là 142 trẻ. Số mẫu bệnh phẩm máu thu được từ nhiễm trùng sơ sinh là 117 mẫu, nhóm não úng thủy không thu mẫu máu. Số mẫu bệnh phẩm dịch não tủy (CSF) là 183 trong đó 41 mẫu của nhóm não úng thủy và 142 mẫu từ nhóm nhiễm trùng sơ sinh.

2.4.2. Lựa chọn đối tượng nghiên cứu

Đối với bệnh não úng thủy: đối tượng nghiên cứu sẽ được lựa chọn từ các bệnh nhân nhập viện và điều trị não úng thủy tại Bệnh viện Nhi Trung ương (Khoa Thần kinh).

Đối với bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh: các bệnh nhân sẽ được thu tuyền tại Bệnh viện Nhi Trung ương (Khoa Sơ sinh). Việc lựa chọn bệnh nhân cũng thực hiện tương tự như đối với bệnh não úng thủy.

2.4.3. Cách lấy mẫu

Bệnh nhân não úng thủy: 1,0 ml dịch não tủy

Bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh: 0,5 ml máu, 0,5 ml dịch não tủy

Lấy theo tiêu chuẩn của bệnh viện Nhi Trung ương và do cán bộ y tế bệnh viện thực hiện.

2.5. Thu thập thông tin

Các thông tin sẽ được thu thập bằng bộ câu hỏi/phiếu thu thập thông tin về nhân khẩu học, biểu hiện lâm sàng, kết quả lâm sàng.

2.6. Kỹ thuật xét nghiệm

Các kỹ thuật xét nghiệm được thực hiện tại các phòng xét nghiệm thuộc bệnh viện Nhi Trung ương, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và Trường Đại học Bang Pennsylvania.

2.7. Quản lý và phân tích số liệu

Số liệu sẽ được nhập và quản lý bằng phần mềm Redcap, phân tích thống kê bằng phần mềm R, phân tích metagenomics bằng công cụ tin sinh học như Qiime2 và một số luồng phân tích khác.

2.8. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã được thông qua hội đồng đạo đức theo giấy chứng nhận số HĐĐĐ - 17/2019 ngày 01/7/2019 của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương và số 1227/BVNTW-VNCSKTE ngày 04/9/2019 của Bệnh viện Nhi trung ương.

Chương 3. KẾT QUẢ

3.1 Mô tả một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhi não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tại bệnh viện Nhi Trung ương, 2019-2020

3.1.1. Một số đặc điểm của bệnh nhân não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

Số lượng bệnh nhân đủ tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu là 41 bệnh nhân, trong đó có 28 nam và 13 nữ thuộc hai nhóm NUT do nhiễm khuẩn (PIH - chiếm 61,9%) và NUT không do nhiễm khuẩn (NPIH - chiếm 38,1%). Độ tuổi trung bình của nhóm là 4,0 tháng, cân nặng trung bình là 5502,0 gram. Chiều dài trung bình là 55,4 cm với kích thước vòng đầu là 41,5 cm. Tuổi thai trung bình của nhóm là 33,3 tuần với số trẻ sinh non 18/41 (tương

đương 43,9%). Trẻ sinh ra là con thứ 1 và 2 là chủ yếu, và tỷ lệ sinh thường chiếm đa số.

Bảng 3.1. Một số đặc điểm nhân khẩu học của nhóm bệnh nhân não úng thủy (n = 41)

Đặc điểm	Chỉ số	
Tuổi (tháng)	GTTB ± SD	4,0 ± 3,1
Cân nặng (gram)	GTTB ± SD	5502,0 ± 2686,4
Chiều cao (cm)	GTTB ± SD	55,4 ± 9,1
Kích thước vòng đầu (cm)	GTTB ± SD	41,5 ± 7,6
Tuổi thai lúc sinh (tuần)	GTTB ± SD	33,3 ± 4,8
Thứ tự trẻ, n (%)	1	12 (29,3%)
	2	8 (19,5%)
	3	6 (14,6%)
	4	1 (2,4%)
<i>Hình thức sinh, n (%)</i>		
Sinh thường		17 (41,5%)
Sinh mổ		7 (17,1%)
<i>Phân nhóm NUT, n (%)</i>		
NUT sau nhiễm trùng (PIH)		25 (61,0%)
NUT không do nhiễm trùng (NPIH)		16 (39,0%)

Ghi chú: GTTB: giá trị trung bình, SD: Độ lệch chuẩn, n: số lượng, %: tỷ lệ phần trăm

Trong nghiên cứu này, Hà Nội có số lượng trẻ nhiều nhất (8/41) so với các tỉnh khác. Tuy nhiên, tỷ lệ trẻ đến từ nông thôn và miền núi phía bắc là cao nhất, chiếm 68,3% trong đó 19,5% số trẻ thuộc khu vực miền núi.

Trong số 41 trẻ, 18 trường hợp có dấu hiệu tăng kích thước vòng đầu và chẩn đoán giãn não thất, 13 trường hợp chẩn đoán viêm màng não (bao gồm 04 trẻ sinh non), 06 trẻ giãn não thất từ trong bào thai và 05 trẻ

chẩn đoán nhiễm trùng sơ sinh (bao gồm 02 trẻ sinh non). Chẩn đoán sau khi ra viện có 30 trường hợp (tương ứng 73,2%) là não úng thủy, 09 bệnh nhân chẩn đoán viêm màng não do tác nhân vi sinh (chiếm 22,0%) và 02. Trong nhóm NUT nghiên cứu, có 03 trường hợp trẻ sinh non mắc bệnh nặng và tử vong (mô tả ở bảng 3.4), tỷ lệ tử vong ca bệnh là 7,3%.

Bảng 3.2. Một số đặc điểm nhân khẩu của nhóm bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh (n = 142)

Đặc điểm	Chỉ số	
Tuổi (ngày)	GTTB ± SD	9,1 ± 10,1
Giới tính, n (%)	Nam	92 (64,8 %)
	Nữ	50 (35,2 %)
Cân nặng (gram)	GTTB ± SD	2867,9 ± 1033,3
Kích thước vòng đầu (cm)	GTTB ± SD	32,4 ± 3,5
Tuổi thai lúc sinh (tuần)	GTTB ± SD	36,3 ± 4,0
<i>Phân nhóm tuổi thai, n (%)</i>	< 37 tuần	51 (35,9%)
	≥ 37 tuần	87 (61,3%)
Thời gian vỡ ối (giờ)	GTTB ± SD	2,5 ± 7,1
Thứ tự trẻ, n (%)	1	62 (43,7 %)
	2	48 (33,8 %)
	3	29 (20,4 %)
	4	2 (1,4 %)
<i>Hình thức sinh, n (%)</i>	Sinh thường	74 (52,1%)
	Sinh mổ	67 (47,2%)

Ghi chú: GTTB: giá trị trung bình, SD: Độ lệch chuẩn, n: số lượng, %: tỷ lệ phần trăm

Số lượng bệnh nhân tham gia nghiên cứu là 142 trẻ. Tuổi trung bình nhập viện của trẻ là 9,1 ngày với tuổi thai khi sinh trung bình là 36,3 tuần, tỷ lệ trẻ sinh đủ tháng cao hơn so với trẻ đẻ non. Tỷ lệ nam và nữ nhập viện lần lượt là 64,8% và 35,2%. Cân nặng trung bình của nhóm

NTSS khoảng 2867,9 gram, kích thước vòng đầu trung bình là 32,4 cm. Tuổi thai trung bình 36,3 tuần, tỷ lệ sinh thường là 52,1% và sinh mổ là 47,2%. Trẻ sinh non dưới 37 tuần chiếm 35,9%, trẻ sinh đủ tháng là 61,3%. Trẻ sinh ra là con đầu lòng chiếm 43,7%.

Sau khi phân tích số liệu về đặc điểm địa lý cho thấy bệnh nhân tập trung ở khu vực Hà Nội (24,6%) là cao nhất và rải rác ở các tỉnh thành khu vực phía Bắc. Tỷ lệ trẻ đến từ thành phố chiếm 39,4 %, trẻ thuộc khu vực miền núi là 12,7% và 47,9% trẻ thuộc khu vực nông thôn.

Kết quả xét nghiệm miễn dịch tự động và test nhanh của bệnh nhân não úng thủy cho thấy: Trong số 29 bệnh nhân được thực hiện phản ứng miễn dịch tự động, 01 bệnh nhân dương tính với IgG vi rút Cytomegalo (CMV), 01 bệnh nhân dương tính với cả IgG – IgM vi rút Cytomegalo (CMV) và IgG của vi rút Herpes 1+2 (HSV). Trong 12 bệnh nhân có kết quả test nhanh, 02 bệnh nhân dương tính với vi rút hợp bào hô hấp A (RSV A).

Nhóm nhiễm trùng sơ sinh có kết quả phản ứng miễn dịch tự động cho thấy Cytomegalovirus - CMV IgG/IgM dương tính có tỷ lệ cao nhất là 16,2%. Herpes simplex viruses – HSV 1+2 IgG và Rubella IgG có tỷ lệ dương tính lần lượt là 12,0% và 11,3%, theo sau là *Treponema pallidum* TPHA và vi rút Epstein-Barr - EBV VCA IgG với tỷ lệ bằng nhau 3,5%, *Toxoplasma* IgG chiếm 2,8%. Phản ứng test nhanh Respiratory syncytial virus A (RSV A) - vi rút hợp bào hô hấp có tỷ lệ dương tính là 7,0%.

3.1.2. Các tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh ở trẻ sơ sinh tại Bệnh viện nhi Trung ương, 2019-2020

Nhóm não úng thủy âm tính với nuôi cấy. Kết quả PCR ở mẫu dịch não tủy của bệnh nhân NUT phát hiện 5 tác nhân gây bệnh bao gồm Cytomegalovirus, Enterovirus, vi khuẩn *Escherichia coli* K1 và *Streptococcus pneumoniae* ở 5 bệnh nhân được chỉ định thực hiện xét nghiệm.

Ở nhóm bệnh nhi mắc NTSS, 131 trường hợp có kết quả nuôi cấy máu, trong đó có 40 trường hợp có kết quả dương tính với vi sinh vật gây bệnh (tương đương 28,2%). Tỷ lệ nuôi cấy dịch não tủy dương tính là 1,4% tương ứng với 02 trường hợp, trong đó một bệnh nhi dương tính

với *Elizabethkingia meningoseptica* và một người dương tính với *Escherichia coli*. Kết quả nuôi cấy phát hiện một số các tác nhân vi khuẩn thuộc nhóm Gram âm như *Klebsiella pneumoniae* (11 mẫu bệnh phẩm), *Escherichia coli* (07 mẫu), *Burkholderia cepacia* (02 mẫu), *Enterobacter cloacae* (03 mẫu), *Elizabethkingia meningoseptica* (02 mẫu). Vi khuẩn Gram dương có nhóm *Staphylococcus* spp. với *Staphylococcus aureus* xuất hiện ở 02 mẫu máu, *Staphylococcus haemolyticus* ở 01 mẫu, *Staphylococcus epidermidis* và *Corynebacterium* spp. đồng thời ở 01 mẫu, *Enterococcus faecium* có 01 mẫu và *Streptococcus agalactiae* có ở 01 mẫu. Trong các tác nhân có sự xuất hiện của nấm *Candida* spp. bao gồm ba chủng: *Candida guilliermondii*, *Candida orthopsilosis* và *Candida tropicalis*. Mỗi chủng nấm được phát hiện ở 01 mẫu máu qua nuôi cấy. Phương pháp nuôi cấy cho tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh ở nhóm nhiễm trùng sơ sinh là 14,8% trên tổng số 284 mẫu bệnh phẩm máu và dịch não tủy. Ở bệnh nhân NTSS, vi khuẩn phát hiện được bằng phương pháp PCR đa môi là *Streptococcus pneumoniae* (01 mẫu) trên mẫu bệnh phẩm máu, các tác nhân vi rút như Cytomegalovirus (CMV) (03 mẫu), Enterovirus (EV) (01 mẫu), Herpatitis E virus (HEV) (08 mẫu) và Herpes simplex 2 virus (HSV-2) (01 mẫu).

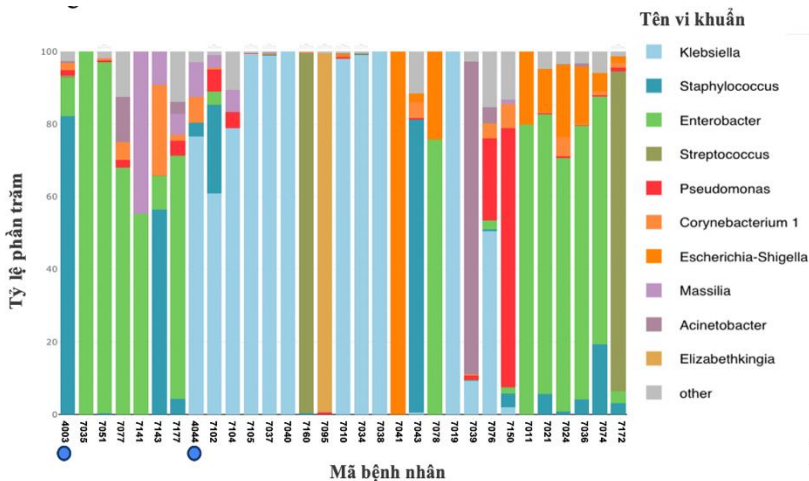
3.2. Giải trình tự gene thể hệ mới xác định tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

3.2.1. Ứng dụng giải trình tự gene 16S rRNA trong phát hiện tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

Kết quả phân tích thành phần loài cho thấy ở mẫu máu có 52 chi của tác nhân gây bệnh được tìm thấy trên tổng số 71 mẫu máu của nhóm nhiễm trùng sơ sinh có kết quả giải trình tự 16S rRNA. Trong đó có sự xuất hiện của *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* với tần xuất xuất hiện ở các mẫu chiếm tỷ lệ cao. Mẫu máu chỉ có ở bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh.

Kết quả 16S rRNA từ mẫu dịch não tủy có 126 chi vi khuẩn gây bệnh được phát hiện trên tổng số 172 mẫu dịch não tủy đạt đủ điều kiện phân tích. Trong đó, có 37 mẫu dịch não tủy thuộc nhóm não úng thủy có kết quả giải trình tự 16S rRNA, trên tổng số 41 mẫu. Các tác nhân xuất hiện trong nhóm não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh với tần suất nhiều

là *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* và *Acinetobacter*. Có thể thấy thành phần vi sinh vật gây bệnh giữa hai nhóm máu và dịch



não tủy khá tương đồng.

Hình 3.1. Phân bố tác nhân vi khuẩn nghi ngờ gây bệnh trong mẫu dịch não tủy

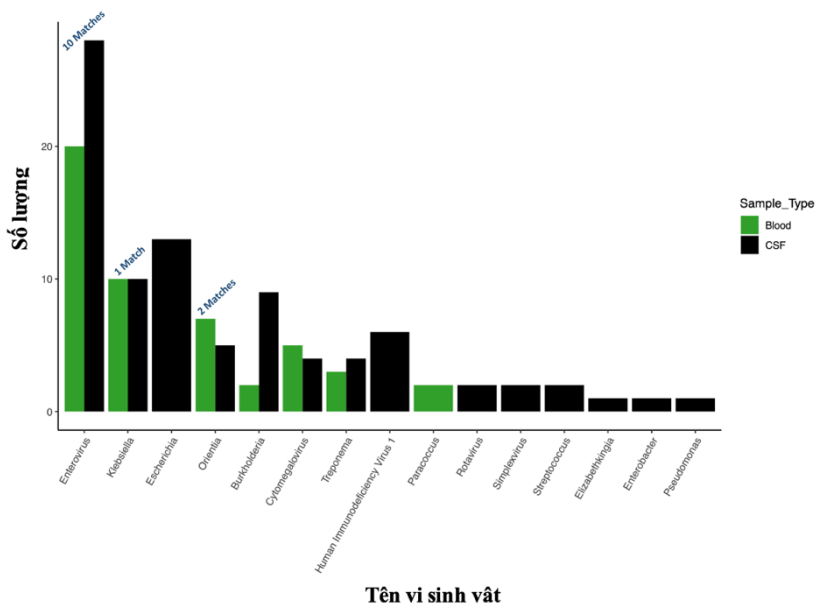
Hình 3.1. mô tả 31 trẻ sơ sinh phát hiện được tác nhân nghi ngờ gây bệnh trong mẫu dịch não tủy, trong số đó có 02 bệnh nhân não úng thủy và 19 bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh. Não úng thủy có hai tác nhân chiếm tỷ lệ cao là *Klebsiella* (gần 80%) ở bệnh nhân mã số 4044 và *Staphylococcus* (hơn 80%) ở bệnh nhân 4003. Các vi khuẩn nhóm *Klebsiella* và *Enterobacter* chiếm tỷ lệ nhiều nhất trong nhóm bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh. Kết quả giải trình tự 16S rRNA từ dịch não tủy của một số bệnh nhân phát hiện một loại tác nhân duy nhất. Kết quả phân tích của bệnh nhân 7160 phát hiện vi khuẩn *Streptococcus*, bệnh nhân 7041 là vi khuẩn *Escherichia coli*, ở các bệnh nhân 7040, 7038 và 7019 là vi khuẩn *Klebsiella*. Trong tổng số 300 mẫu máu và dịch não tủy từ bệnh nhân NTSS và NUT, 243 mẫu có kết quả phân tích 16S rRNA, cho tỷ lệ xét nghiệm chẩn đoán tác nhân gây bệnh là 81%. Bệnh nhân não úng thủy có kết quả giải trình tự 16S rRNA phát hiện vi khuẩn thuộc nhóm *Klebsiella* và *Staphylococcus* chiếm tỷ lệ cao. Các tác nhân nghi ngờ gây

bệnh nhiễm trùng sơ sinh bao gồm vi khuẩn thuộc nhóm *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* và *Pseudomonas*.

3.2.2. Ứng dụng giải trình tự RNA trong phát hiện tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

Phương pháp giải trình tự RNA phát hiện các vi khuẩn gây bệnh phổ biến như *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Treponema palladium*, cũng như một số vi khuẩn khó có khả năng phát hiện bằng các phương pháp thông thường như *Orientia tsutsugamushi* và *Campylobacter hominis*. Trong số vi khuẩn có ở mẫu máu, *Klebsiella* chiếm tỷ lệ cao nhất với 10 mẫu, sau đó là *Orientia tsutsugamushi* với 7 mẫu, *Treponema palladium* có ở 3 mẫu, *Burkholderia cepacia* có 2 mẫu; ngoài ra còn có sự xuất hiện của vi khuẩn *Campylobacter hominis* và *Oligella urethralis* ở cùng một mẫu máu. Các vi rút xuất hiện trong mẫu máu bao gồm Enterovirus B, Cytomegalovirus, Muromegalovirus và Alphapapillomavirus. Enterovirus chiếm số lượng nhiều nhất với 26 mẫu, tiếp sau là Cytomegalovirus với 5 mẫu, Murid betaherpesvirus 1 và Alphapapillomavirus 6 mỗi loại có một mẫu.

Khi phân tích kết quả giải trình tự RNA trong dịch não tủy theo thành phần nhóm vi sinh vật thì có nhóm vi khuẩn và vi rút. Đối với nhóm vi khuẩn, *Klebsiella pneumoniae* và *Escherichia coli* chiếm tỷ lệ nhiều hơn so với các vi khuẩn khác lần lượt là 10 và 13 mẫu. Vi khuẩn *Orientia tsutsugamushi* cũng xuất hiện trong mẫu dịch não tủy với 5 mẫu, *Treponema pallidum* xuất hiện ở 4 mẫu, *Streptococcus agalactiae* có ở 2 mẫu, *Elizabethkingia anophelis* và *Enterobacter cloacae* chỉ có ở 1 mẫu. Hai vi khuẩn hiếm gặp *Lactococcus lactis* và *Lautropia mirabilis* cũng được khẳng định có sự xuất hiện trong mẫu dịch não tủy. Tác nhân vi rút Enterovirus B có phân bố nhiều nhất với 28 mẫu. Trong các tác nhân vi rút có sự xuất hiện của Human immunodeficiency virus 1 ở 06 bệnh nhân, vi rút Human betaherpesvirus 5 có ở 5 mẫu, tiếp sau đó là Murid betaherpesvirus 1 với 3 mẫu và Human alphaherpesvirus 2 cùng Rotavirus mỗi loại là 2 mẫu.



Hình 3.2. So sánh thành phần tác nhân gây bệnh ở mẫu máu và mẫu dịch não tủy

Kết quả giải trình tự RNA trong dịch não tủy được chia theo hai nhóm bệnh nghiên cứu là nhóm não úng thủy và nhóm nhiễm trùng sơ sinh. Ở nhóm não úng thủy, có 05 trên tổng số 41 mẫu dịch não tủy có kết quả giải trình tự RNA. Các vi sinh vật được phát hiện ở nhóm não úng thủy bao gồm Enterovirus B, Human alphaherpesvirus 2, Rotavirus A, Human immunodeficiency virus 1 (HIV 1), Human betaherpesvirus 5 và *Treponema palladium*. Trong đó ở mẫu bệnh phẩm 4041 có hai tác nhân là Human betaherpesvirus 5 và vi khuẩn *Treponema palladium*. Nhóm nhiễm trùng sơ sinh có thành phần vi sinh vật đa dạng hơn nhóm não úng thủy. Ngoài các tác nhân giống nhau, nhóm NTSS còn có vi khuẩn *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterobacter cloacae*, *Orientia tsutsugamushi* và vi rút Murid betaherpes 1.

Trong tổng số 300 mẫu phân tích giải trình tự RNA, có 52 mẫu máu và 85 mẫu dịch não tủy đạt tiêu chuẩn và xác định được thành phần vi sinh vật gây bệnh. Phương pháp RNA-seq xác định được cả vi rút và

vi khuẩn trong khi các phương pháp khác không thực hiện được. Tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh bằng phương pháp giải trình tự RNA (RNA-seq) là 45,7%.

Chương 4. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân và một số tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh

Trong nhóm bệnh nhân não úng thủy, gần một nửa là trẻ sinh non, đây cũng là một trong những nguyên nhân chính gây dẫn đến não úng thủy. Tỷ lệ tử vong ca bệnh trong nghiên cứu của chúng tôi (7,3%) nằm trong khoảng 4%-87% tương tự các nghiên cứu các trên thế giới. Khi phân tích nhóm bệnh nhân NTSS, cũng giống như ở nhóm NUT, tỷ lệ bé trai mắc cao hơn bé gái, kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trong nước. Phân bố địa lý của bệnh nhân chủ yếu ở khu vực phía Bắc, do bệnh viện Nhi Trung ương là bệnh viện tuyến Trung ương nên hầu hết các trường hợp bệnh nhân nặng sẽ được chuyển về đây. Đặc điểm phân bố về cân nặng, tuổi thai của 142 trẻ, tỷ lệ sinh đủ tháng (tuổi thai từ 37 tuần trở lên) chiếm tỷ lệ 61,3% và có nguy cơ mắc NTSS cao hơn.

Kết quả xét nghiệm kháng thể của vi rút Cytomegalo (CMV) và vi rút hợp bào hô hấp A (RSV A) được phát hiện ở cả nhóm bệnh nhân não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh. Các xét nghiệm test nhanh có độ nhạy và độ đặc hiệu thấp. Thông thường, phản ứng xét nghiệm kháng thể Vi rút EBV, *Treponema pallidum* TPHA, Rubella IgG, *Toxoplasma* IgG được sàng lọc cho phụ nữ mai thai và có nguy cơ truyền từ mẹ sang con. Các kết quả xét nghiệm trên đều có độ nhạy khá cao, tuy nhiên, với các xét nghiệm này thì chỉ có thể nói rằng bệnh nhân có dấu ấn của các vi khuẩn và vi rút này chứ chưa thể khẳng định chắc chắn đây là các căn nguyên chính gây nên bệnh do đặc tính của kháng thể có thể truyền từ mẹ sang con.

Các vi khuẩn phân lập được từ kết quả nuôi cấy là các vi khuẩn phổ biến gây NTSS, bao gồm: Vi khuẩn Gram âm: *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii* và *Elizabethkingia meningoseptica*; Vi khuẩn Gram dương: *Staphylococcus aureus*. *E. coli* là vi khuẩn được phân lập

với tỷ lệ cao thứ hai, xuất hiện cả ở ba loại mẫu máu, nội khí quản và nước tiểu. *Enterobacter cloacae* cũng là vi khuẩn trong nhóm vi khuẩn nhiễm trùng bệnh viện và được cho là nguyên nhân gây nên các vụ nhiễm trùng tại các khu vực chăm sóc sơ sinh. Trong nghiên cứu này, *Burkholderia cepacia* phân lập từ nuôi cấy máu với tỷ lệ 1,7%.. *Acinetobacter baumannii* được ghi nhận với tỷ lệ nuôi cấy máu dương tính ở bệnh nhân NTSS là 8-22% và được đánh giá thuộc nhóm 3 vi khuẩn chính gây NTSS cùng với *Klebsiella* spp. và *E. coli*. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận sự xuất hiện của *A. baumannii* trong hai loại mẫu bệnh phẩm khi nuôi cấy, nuôi cấy máu dương tính chỉ có 1 mẫu trên tổng số 117 mẫu máu. Rất nhiều các vi khuẩn như *Acinetobacter iwoffii*, *Enterobacter aerogenes*, *Stenotrophomonas maltophilia* là tác nhân gây nhiễm trùng sơ sinh nhưng tỷ lệ phân lập được trong nuôi cấy là rất thấp ở nghiên cứu này. Vi khuẩn *Elizabethkingia menigoseptica* cũng có tỷ lệ nuôi cấy máu thấp nhưng xuất hiện trong cả hai loại mẫu bệnh phẩm (máu, dịch não tủy). *Staphylococcus aureus* là vi khuẩn Gram dương phân lập được từ mẫu máu của 02 trẻ sơ sinh trong đó có một trẻ tử vong. Hai bệnh nhân này đều thuộc nhóm NTSS khởi phát muộn, nhưng trẻ tử vong thuộc có cân nặng sơ sinh dưới 2500g và thuộc khu vực miền núi. Trong nghiên cứu của chúng tôi, *S. aureus* là vi khuẩn Gram dương chiếm tỷ lệ cao ở NTSS khởi phát muộn. Bên cạnh các vi khuẩn gây bệnh được phân lập, nấm *Candida* spp. cũng là tác nhân gây nhiễm trùng sơ sinh phổ biến ở nhóm NTSS khởi phát muộn, đặc biệt trẻ sơ sinh có thời gian nằm viện lâu thì nguy cơ nhiễm bệnh cao hơn.

Trong nghiên cứu này, kết quả xét nghiệm PCR cho dịch não tủy và máu ở cả hai nhóm NTSS và NUT đều có sự xuất hiện của Cytomegalovirus (CMV). Enterovirus chỉ xuất hiện trong mẫu dịch não tủy ở cả hai nhóm NTSS và NUT, điều này cho thấy sự tồn tại của Enterovirus trong hệ thống thần kinh trung ương ở trẻ sơ sinh và là nguyên nhân gây nên viêm não, viêm màng não hoặc não úng thủy. PCR phát hiện trẻ có Hepatitis E virus góp phần định hướng điều trị. Phương pháp PCR cũng chẩn đoán được bệnh nhân nhiễm *Streptococcus pneumoniae* (phế cầu), là một tác nhân “bị lãng quên” của nhiễm trùng sơ sinh. Phương pháp PCR đa môi trong chẩn đoán tác nhân gây bệnh

được ứng dụng ở Bệnh viện Nhi trung ương đã giúp phát hiện rất nhiều tác nhân bổ sung cho phương pháp nuôi cấy truyền thống, ví dụ như các tác nhân vi rút.

4.2. Xác định tác nhân gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh bằng 16S rRNA và RNA-seq

Khi phân tích trình tự 16S rRNA ở hai nhóm bệnh nhân và trên 2 loại mẫu máu, dịch não tủy cho thấy thành phần vi sinh vật gây bệnh đa dạng hơn so với hai phương pháp nuôi cấy và PCR đa môi. Các tác nhân phổ biến như *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Burkholderia cepacia* đều được phát hiện qua nuôi cấy, PCR đa môi và 16S rRNA. Phương pháp giải trình tự 16S rRNA là một phương pháp hiệu quả để phát hiện các tác nhân vi khuẩn gây NTSS và NUT, đặc biệt là các tác nhân ít phổ biến. Trong nghiên cứu này, *Treponema pallidum* và *Orientia tsutsugamushi* được xác định qua phân tích 16S rRNA trong khi nuôi cấy hay PCR đa môi không phát hiện được *Treponema pallidum*, thông thường được xác định qua xét nghiệm tìm kháng thể giang mai đặc hiệu *Treponema pallidum* TPHA (TPHA - *Treponema pallidum* haemagglutination assay) dựa trên nguyên lý ngưng kết hạt gelatin/hồng cầu. Với kết quả 16S rRNA, có thể khẳng định chắc chắn các trường hợp mắc giang mai ở trẻ. Vi khuẩn *Orientia tsutsugamushi* khó nuôi cấy và bị giới hạn về chẩn đoán xét nghiệm bằng phương pháp PCR. Do vậy, 16S rRNA là hướng đi mới cho kết quả chính xác và tăng hiệu quả chẩn đoán bệnh.

Phương pháp RNA-seq cho thấy tính ưu việt trong phát hiện đồng thời các tác nhân vi rút và vi khuẩn gây bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh. RNA-seq xác định được tỷ lệ vi sinh vật trong mẫu máu là 52/117 mẫu tương đương 44,4%. Tỷ lệ này ở mẫu dịch não tủy là 46,4% (tương đương 85/183 mẫu). Thành phần vi rút khi phân tích RNA-seq cũng đa dạng, bao gồm Enterovirus, Cytomegalovirus, Human immunodeficiency virus 1, Human betaherpesvirus 5, Human alphaherpesvirus 2 và Rotavirus. Một nghiên cứu khác thực hiện tại Việt Nam sử dụng kỹ thuật giải trình tự gene mNGS để phân tích mẫu bệnh phẩm từ 386 bệnh nhân nghi ngờ nhiễm trùng huyết, cũng chỉ ra Enterovirus, Cytomegalovirus và Rotavirus là vi rút phổ biến gây nên nhiễm trùng huyết.

Human immunodeficiency virus 1 là vi rút có khả năng lây nhiễm từ mẹ sang con trong quá trình sinh nở và chăm sóc. Bệnh nhân tham gia nghiên cứu này có 77/183 trẻ có xét nghiệm test nhanh với HIV, tất cả đều âm tính. Phản ứng test nhanh HIV tương đối nhạy trong việc phát hiện người nhiễm. Việc phát hiện HIV-1 bằng RNA-seq ở 6 bệnh nhân cho thấy thiếu sót trong quá trình sàng lọc bệnh nhân sơ sinh.

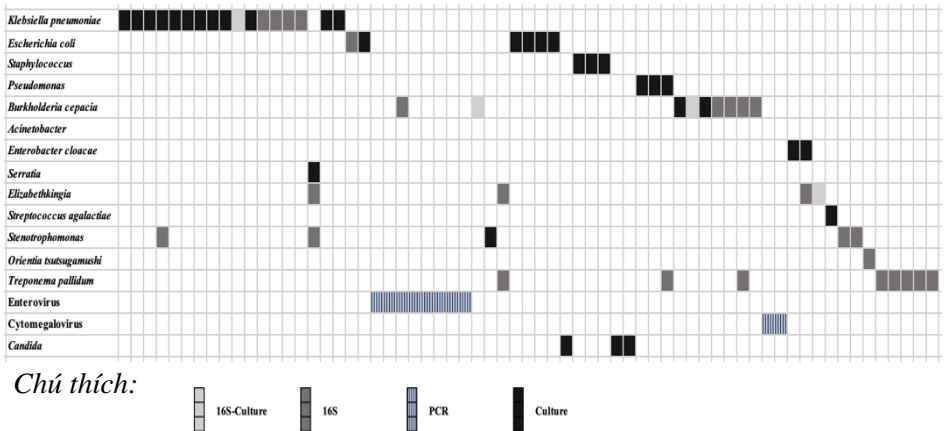
Phương pháp 16S rRNA và RNA-seq đều sử dụng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới để phát hiện tác nhân gây bệnh, tuy nhiên 16S rRNA chỉ xác định được các tác nhân có nguồn gốc vi khuẩn. Hiện nay, phương pháp 16S rRNA đang được ứng dụng trên thế giới trong việc phát hiện tác nhân gây bệnh trong khi RNA-seq chưa được phổ biến trong chẩn đoán lâm sàng mà chỉ thực hiện trong các nghiên cứu.

4.3. So sánh sự tương đồng trong chẩn đoán tác nhân gây bệnh của các phương pháp

Trong nghiên cứu này thực tế so sánh về tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh của phương pháp nuôi cấy, giải trình tự 16S rRNA và RNA-seq, phương pháp PCR chỉ thực hiện khi có chỉ định của bác sĩ nên cỡ mẫu khác so với hai phương pháp còn lại. Đối với phương pháp nuôi cấy, tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh của cả hai nhóm NUT và NTSS là 14,8%. Tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh ở hai nhóm NUT và NTSS bằng giải trình tự 16S rRNA là 81%. Tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh ở RNA-seq là 40% nhưng có thể phát hiện được cả tác nhân vi rút và vi khuẩn. Tỷ lệ thấp nuôi cấy do kết quả nuôi cấy phụ thuộc vào việc sử dụng kháng sinh trước khi nhập viện của bệnh nhân, trong khi đó phương pháp 16S rRNA và RNA-seq dựa trên vật chất di truyền nên ít bị ảnh hưởng.

Klebsiella pneumoniae và *E.coli* được phát hiện ở hầu hết các phương pháp chẩn đoán. *Klebsiella pneumoniae* được xác định ở 24 bệnh nhân trong nghiên cứu này trong đó có 3 bệnh nhân chẩn đoán não úng thủy và 21 bệnh nhân NTSS. *Klebsiella pneumoniae* cũng là tác nhân lưu hành nhiều nhất trong cả hai nhóm bệnh. Có 9 trường hợp khẳng định nhiễm *E.coli* trong so sánh các phương pháp, một trường hợp là bệnh nhân não úng thủy còn lại là NTSS. *Burkholderia cepacia* được phát hiện qua nuôi cấy và phân tích giải trình tự nhưng không phát hiện qua phương

pháp PCR do yêu cầu phải có môi đặc hiệu. Kết quả nuôi cấy phù hợp với kết quả RNA-seq ở mẫu máu của bệnh nhân. *Treponema palladium* lưu hành trong cả hai nhóm bệnh với tổng số mắc là 18 bệnh nhân bao gồm bốn bệnh nhân NUT và 14 bệnh nhân NTSS. Vi khuẩn *Orientia tsutsugamushi* chỉ lưu hành ở nhóm bệnh NTSS với 9 trường hợp nhiễm. Trong nhóm vi rút gây bệnh, Enterovirus có số lượng cao mắc là 24, và chỉ xuất hiện ở nhóm NTSS. Điều này có thể chỉ ra vi khuẩn *Orientia tsutsugamushi* và Enterovirus là hai tác nhân gây nhiễm trùng sơ sinh trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, để khẳng định chắc chắn cần có các nghiên cứu sinh học phân tử sâu hơn.



Hình 4.1. So sánh kết quả chẩn đoán tác nhân gây bệnh giữa các phương pháp

KẾT LUẬN

1. Mô tả một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhi não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh tại Bệnh viện Nhi trung ương, 2019-2020

Tỷ lệ bé trai mắc bệnh não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh cao hơn ở bé gái. Bệnh nhân đa số ở khu vực nông thôn và miền núi. Tỷ lệ tử vong ca bệnh ở não úng thủy là 7,3% và ở nhiễm trùng sơ sinh là 9,2%.

Kết quả xét nghiệm bằng phương pháp miễn dịch ở nhóm não úng thủy gồm 02 bệnh nhi dương tính với IgG/IgM vi rút Cytomegalo (CMV), 01 bệnh nhi dương tính với IgG của vi rút Herpes 1+2 (HSV), 02 bệnh nhi dương tính test nhanh với RSV A. Nhóm nhiễm trùng sơ sinh có kết quả miễn dịch: 23 bệnh nhi dương tính với CMV IgG/IgM, 17 bệnh nhi dương tính với HSV 1+2 IgG, 16 bệnh nhi dương tính với Rubella IgG, 05 bệnh nhi dương tính với *Treponema pallidum* TPHA, 05 bệnh nhi dương tính với EBV-VCS IgG và 04 bệnh nhi dương tính với *Toxoplasma* IgG.

Phương pháp PCR phát hiện các tác nhân vi rút Cytomegalovirus, Enterovirus, vi khuẩn *Escherichia coli* K1 và *Streptococcus pneumoniae* ở cả hai nhóm não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh. Herpatitis E Virus (HEV) chỉ được phát hiện ở 08 mẫu máu và dịch não tủy của bệnh nhi nhiễm trùng sơ sinh.

Tỷ lệ phát hiện tác nhân bằng phương pháp nuôi cấy là 14,8% bao gồm các tác nhân vi khuẩn: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Elizabethkingia menigoseptica* và nhóm *Staphylococcus* spp. và nấm *Candida guillerrmondii*, *Candida orthopsilosis* và *Candida tropicalis*. Kết quả nuôi cấy chỉ có ở bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh.

2. Xác định một số tác nhân gây não úng thủy và nhiễm trùng sơ sinh bằng phương pháp giải trình tự RNA và 16S rRNA

300 mẫu bệnh phẩm máu và dịch não tủy từ 41 bệnh nhân não úng thủy và 142 bệnh nhân nhiễm trùng sơ sinh đã được phân tích và giải trình tự 16S rRNA và RNA-seq.

16S rRNA phát hiện được các vi khuẩn trong máu và dịch não tủy mà nuôi cấy không phân lập được. Các chi vi khuẩn chủ yếu là *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*. Đối với nhóm não úng thủy, 37/41 mẫu dịch não tủy có kết quả giải trình tự 16S rRNA và các tác nhân nghi ngờ gây bệnh có tần suất xuất hiện cao nhất là *Klebsiella* và *Staphylococcus*. Đối với nhóm nhiễm trùng sơ sinh, các tác nhân nghi ngờ gây bệnh có tần suất xuất hiện cao là *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* và *Pseudomonas*. 16S rRNA chỉ xác

định được vi khuẩn gây bệnh nhưng có tỷ lệ phát hiện tác nhân gây bệnh cao là 81%.

RNA-seq phát hiện cả tác nhân vi khuẩn và vi rút với tỷ lệ phát hiện 40%. Kết quả giải trình tự RNA cho kết quả của 05 mẫu dịch não tuỷ thuộc nhóm não úng thủy và 132 mẫu máu và dịch não tuỷ thuộc nhóm nhiễm trùng sơ sinh. Các tác nhân nghi ngờ gây não úng thủy chính bao gồm Enterovirus B, Human alphaherpesvirus 2, Rotavirus A, Human immunodeficiency virus 1 (HIV 1), Human betaherpesvirus 5 và *Treponema palladium*. Bên cạnh các tác nhân nghi ngờ gây bệnh giống với nhóm não úng thủy, các tác nhân nghi ngờ gây bệnh nhiễm trùng sơ sinh phát hiện bằng giải trình tự RNA còn có *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterobacter cloacae*, *Orientia tsutsugamushi*, *Burkholderia cepacia* và vi rút Murid betaherpesvirus 1.

KIẾN NGHỊ

Sau quá trình thực hiện đề tài, chúng tôi xin có một số kiến nghị sau:

1. Phát triển kỹ thuật giải trình tự gene thế hệ mới trong chẩn đoán bệnh truyền nhiễm nói chung và não úng thủy cũng như nhiễm trùng sơ sinh nói riêng tại bệnh viện, viện nghiên cứu và cơ sở y tế tuyến trung ương.

2. Trong các nghiên cứu sau, bên cạnh việc chẩn đoán các tác nhân gây bệnh NUT và NKSS, nhóm nghiên cứu sẽ thực hiện các điều tra về sự xuất hiện các tác nhân trong môi trường cũng như nguồn lây nhiễm để có thể xây dựng mô hình dự đoán bệnh tật.

3. Xây dựng hệ thống giám sát bệnh nhi nhiễm trùng sơ sinh sau khi xuất viện, theo dõi từ 3 đến 6 tháng để kiểm tra cũng như chẩn đoán sớm trường hợp tiến triển thành não úng thủy.