

KHẢO SÁT SỰ HIỆN DIỆN CỦA BIOFILM TRÊN MÔ VA VÀ VIÊM MẠN TÍNH

BS. PHÙNG KHÁNH QUYÊN
PGS.TS. LÂM HUYỀN TRẦN
PGS.TS. HỮA THỊ NGỌC HÀ

NỘI DUNG

- 1 ĐẶT VẤN ĐỀ
- 2 MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU
- 3 TỔNG QUAN TÀI LIỆU
- 4 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU
- 5 KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Viêm VA mạn tính là bệnh lý thường gặp trong tai mũi họng nhi khoa.
- Năm 1994 ở Hoa Kỳ có 140.000 trẻ dưới 15 tuổi phải nạo VA và 286.000 trẻ vừa cắt Amidan vừa nạo VA.
- Một trong những nguyên nhân viêm VA mạn tính không đáp ứng với kháng sinh là do vi khuẩn tạo biofilm.

ĐẶT VẤN ĐỀ

- Câu hỏi được đặt ra là tỷ lệ viêm VA mạn tính có biofilm là bao nhiêu và nó có liên quan gì đến độ lớn VA hay không?
- Trong nước chưa có nghiên cứu nào về biofilm trong viêm VA mạn tính do vậy nghiên cứu về vấn đề này mang nhiều ý nghĩa thực tiễn.

MỤC TIÊU TỔNG QUÁT

Khảo sát sự hiện diện của biofilm trên mô VA viêm mạn tính.

MỤC TIÊU CHUYÊN BIỆT

- > Khảo sát đặc điểm của mẫu nghiên cứu và tần suất hiện diện của biofilm trên mô VA viêm mạn tính.
- > Phân tích đặc điểm vi trùng học của viêm VA mạn tính có và không có biofilm.
- > Đánh giá hiệu quả của phẫu thuật nạo VA trong điều trị viêm VA mạn tính có và không có biofilm.

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1. Tổng quan về VA:

- > VA có 3 loại biểu mô bề mặt: trụ giả tầng có lông chuyển, lát tầng, chuyển tiếp.
- > VA đảm nhận chức năng miễn dịch bảo vệ cơ thể qua cơ chế miễn dịch đặc hiệu và không đặc hiệu.
- > Nhiệm vụ miễn dịch của VA rất cần thiết cho trẻ từ 6 tháng đến 3-4 tuổi.

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2. Tổng quan về biofilm:

- > Biofilm là một cộng đồng vi khuẩn bám dính không thuận nghịch trên bề mặt chất nền và được bao bọc trong một chất trùng hợp do chính vi khuẩn tạo ra là exopolysaccharide (EPS).
- > Dưới KHV laser quét cùng tiêu điểm, biofilm như những cấu trúc dạng nấm dày đặc hợp lại và được xuyên thủng bởi nhiều rãnh nước.

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Cấu trúc điển hình của biofilm, nguồn Barnes và Caskey (2002)

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Chu kỳ hình thành biofilm, nguồn Psaltis (2008)

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Biofilm bảo vệ vi khuẩn chống lại kháng sinh qua nhiều cơ chế

Cơ chế đề kháng

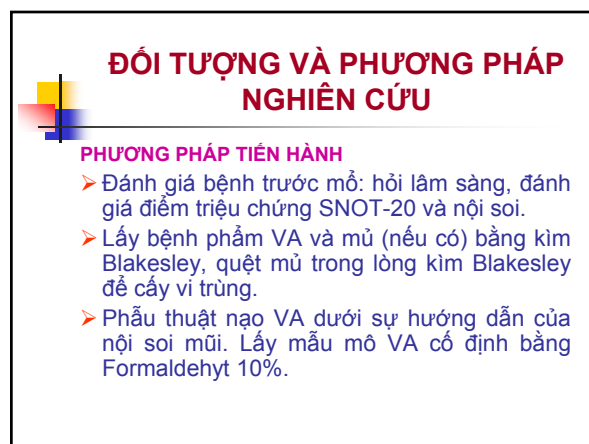
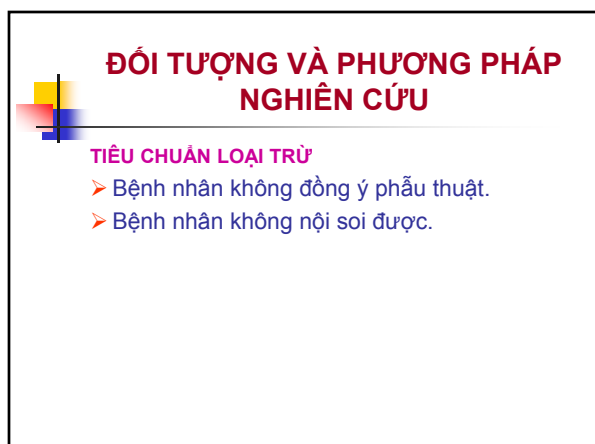
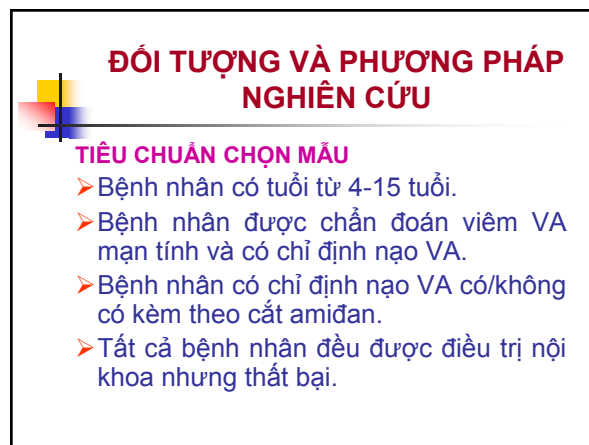
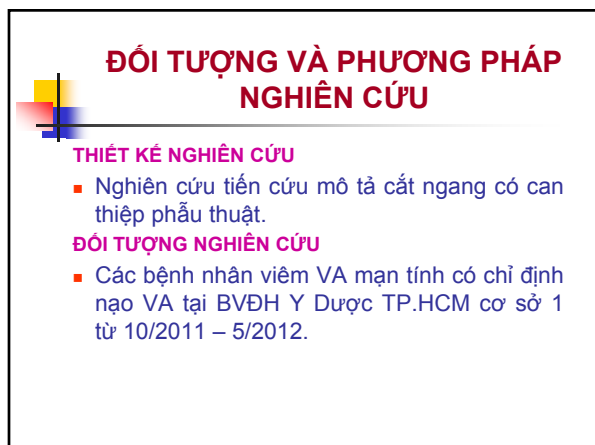
- Tin hiệu liên lạc giữa các vi khuẩn (Quorum sensing)
- Tốc độ chuyển hóa và phát triển của vi khuẩn giảm
- Tri hoãn sự thâm nhập của kháng sinh
- Vi môi trường thay đổi như nồng độ oxy, độ pH...
- Sự tăng biểu hiện gen đề kháng trong biofilm
- Yếu tố bền bỉ (Vi khuẩn) trong biofilm để tạo biofilm mới

Quorum sensing (QS)

QS như là một mạng lưới liên lạc duy nhất trong biofilm

- Tế bào trên bề mặt của biofilm giao tiếp với nhau qua các tín hiệu hóa học do vi khuẩn tiết ra để xây dựng cộng đồng vi khuẩn và giữ cho kênh nước mở.
- QS can dự vào sự biểu hiện gen và thay đổi cách ứng xử của tế bào vi khuẩn để chống lại tác nhân kích thích.

=> Giúp vi khuẩn biểu hiện một đáp ứng thích hợp nhất có lợi cho cộng đồng vi khuẩn.



ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Mẫu thử được gửi về bộ môn GPB của trường ĐHYD TP.HCM nhuộm HE và tìm sự hiện diện của biofilm dưới KHV quang học.
- Sau 12 tuần khám lại các đối tượng tham gia nghiên cứu và đánh giá lại điểm SNOT-20.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

- Từ 10-2011 đến 05-2012, có 67 trường hợp thỏa tiêu chuẩn, đáp ứng năng lực mẫu cho mục tiêu NC chính.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đặc điểm dịch tễ mẫu nghiên cứu

| Đặc điểm dịch tễ | Đặc điểm dịch tễ | | Khalid A (2008) 1,8:1 Chia-Der (2011) 1,6:1 |
|------------------------|------------------|-------------|--|
| | Biofilm (+) | Biofilm (-) | |
| Giới | | | Nam : nữ = 1,9 : 1 |
| Nam | 70,73% | 57,69% | |
| Nữ | 29,27% | 42,31% | |
| Nơi cư trú | | | Galli J (2007) 0,7:1 Torretta S (2010) 1,2:1 |
| Các tỉnh | 90,24% | 80,77% | |
| Nhóm tuổi | | | |
| Mẫu giáo (4 – 5 tuổi) | 17,07% | 0,45% | Saylam G (2010) không có mối liên quan giữa biofilm với tuổi |
| Cấp một (6 – 11 tuổi) | 58,54% | 4,18% | |
| Cấp hai (12 – 15 tuổi) | 24,39% | 5,37% | |

Không có sự khác biệt về giới, nơi cư trú, nhóm tuổi giữa nhóm biofilm (+) với nhóm biofilm (-)

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đặc điểm lâm sàng trước mổ

Đặc điểm lâm sàng

| Đặc điểm lâm sàng | Biofilm (+) | Biofilm (-) | P |
|----------------------------|------------------|---------------|-----------------|
| Số đợt trung bình/6tháng | 7,54 ± 2,58 | 7,77 ± 3,12 | p = 0,37 > 0,05 |
| Số lần trung bình chung | 7,63 ± 2,78 đợt | | |
| Thời gian trung bình/đợt | 4,32 ± 2,45 | 3,73 ± 2,27 | p = 0,17 > 0,05 |
| Thời gian trung bình chung | 4,09 ± 2,39 tuần | | |
| BMI trung bình | 17,57 ± 4,38 | 18,95 ± 4,87 | p = 0,12 > 0,05 |
| BMI trung bình chung | 18,1 ± 4,59 | | |
| Điểm triệu chứng SNOT-20 | 32,56 ± 12,28 | 35,42 ± 18,09 | p = 0,22 > 0,05 |

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đặc điểm lâm sàng trước mổ

Triệu chứng lâm sàng

| Triệu chứng | Biofilm (+) | Biofilm (-) | Phép kiểm | Tổng số |
|-------------------|-------------|-------------|---|---------|
| Nghẹt mũi | 82,93% | 83,58% | Osman B (2006): 91,6% , 75% P.Đ.Nguyễn (2008): 91,8% , 68,9% | 83,58% |
| Chảy mũi | 85,37% | 85,07% | | 85,07% |
| Ho kéo dài | 16,27% | 16,27% | Osman B(2006): 83% , 85% P.Đ.Nguyễn(2008): 72,1% , 80,9% | 16,27% |
| Ngủ ngáy | 31,71% | 40,3% | | 40,3% |
| Thở miệng | 19,51% | 38,46% | p(χ²) = 0,09 | 26,87% |
| Nói giọng mũi kín | 2,44% | 11,54% | p(Fisher) = 0,29 | 5,97% |

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đặc điểm lâm sàng

Độ quá phát của VA

| Độ quá phát VA | Biofilm (+) | Biofilm (-) | Tổng cộng |
|------------------|-------------|-----------------------------|-----------|
| Độ I | 20,9% | 20,9% | 20,9% |
| Độ II | 43,9% | 58,46% | 41,79% |
| Độ III | 29,3% | 23,88% | 23,88% |
| Độ IV | 7,2% | 50% (độ III + IV chúng tôi) | 13,43% |
| Tổng cộng | 41 | 26 | 67 |

Không có sự khác biệt về độ lớn VA giữa nhóm biofilm (+) với nhóm biofilm (-). Tương tự như nghiên cứu của Saylam G (2010)

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đặc điểm lâm sàng

Đặc điểm viêm xoang và dịch khe giữa

| Đặc điểm | Biofilm (+) | Biofilm (-) | Phép kiểm |
|----------------------------------|-------------|-------------|-----------------------------|
| Zuliani G (2006) 94,9% (>80%) | | | |
| Viêm xoang | | | |
| Có | 82,93% | 34,62% | P(χ^2) = 0,00 < 0,05 |
| Không | 17,07% | 65,38% | |
| Dịch khe giữa | | | |
| Dịch trong | 36,59% | 11,54% | P(χ^2) = 0,00 < 0,05 |
| Dịch mù | 46,34% | 23,08% | |
| Không có dịch | 17,07% | 65,38% | |
| Tổng số | 41 | 26 | |

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Kết quả xác định biofilm

Tỷ lệ mô VA viêm mạn tính có biofilm (+)

61,2%

■ Biofilm (+)
■ Biofilm (-)

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Kết quả xác định biofilm

Tần suất biofilm trên mô VA

| Tác giả | Năm | Phương pháp | Tỷ lệ |
|----------------------|------|--|-------|
| Galli J và cs | 2007 | SEM | 100% |
| Al-Mazrou KA | 2008 | SEM | 61% |
| Winther Birgit và cs | 2009 | Nhuộm HE và PAS – KHV quang học | 89% |
| Torretta Sara và cs | 2010 | Sinh thiết mẫu VA – Đo ảnh phổ của Christensen | 69,1% |
| Chúng tôi | 2012 | Nhuộm HE – KHV quang học | 61,2% |

Dù sử dụng các phương pháp khác nhau nhưng đa phần các tác giả đều nhận thấy sự hiện diện của biofilm ở bệnh nhân viêm VA mạn là tương đối cao (>50%)

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Kết quả vi trùng học

Tỷ lệ cấy vi trùng dương tính chung

| Tác giả | Năm | Phương pháp | Tỷ lệ |
|----------------------|------|--------------|--------|
| Winther Birgit và cs | 1993 | FISH và TEM | 100% |
| Winther Birgit và cs | 2009 | FISH | 100% |
| Galli J và cs | 2007 | Cấy vi khuẩn | 86,6% |
| Al-Mazrou KA | 2008 | Cấy vi khuẩn | 66% |
| Torretta Sara và cs | 2010 | Cấy vi khuẩn | 90,47% |
| Chúng tôi | 2012 | Cấy vi khuẩn | 88,06% |

Nghiên cứu của chúng tôi cho tỷ lệ thấp hơn Winther Birgit và tác giả Winther Birgit sử dụng phương pháp FISH có độ nhạy cao

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Kết quả vi trùng học

Khác biệt có ý nghĩa thống kê
p(F)=0,005

Nhóm biofilm (+) VK thường gặp nhất là *Streptococcus spp* 36,59%, kể đó là tụ cầu Đặc biệt là cây không mọc chiếm tỉ lệ khá cao.

Nhóm biofilm (-) VK thường gặp nhất là *Staphylococcus aureus* chiếm 42,31%, kể đó là *Streptococcus spp*

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Hiệu quả phẫu thuật nạo VA

Đặc điểm lâm sàng sau nạo VA

| Đặc điểm lâm sàng sau mổ | Biofilm (+) | Biofilm (-) | P |
|----------------------------|------------------|-------------|-----------------|
| Số đợt trung bình/3 tháng | 1,2 ± 0,4 | 0,69 ± 0,47 | P = 0,00 < 0,05 |
| Số lần trung bình chung | 1 ± 0,49 đợt | | |
| Thời gian trung bình/đợt | 1,46 ± 0,64 | 1,08 ± 0,27 | p = 0,00 < 0,05 |
| Thời gian trung bình chung | 1,31 ± 0,56 tuần | | |
| Điểm triệu chứng SNOT-20 | 9,1 ± 4,78 | 6,85 ± 4,97 | P = 0,04 < 0,05 |

Sau mổ nhóm biofilm (-) cải thiện tốt hơn.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Hiệu quả phẫu thuật nạo VA

So sánh trước và sau mổ

| Đặc điểm so sánh | Trước mổ | Sau mổ | P |
|---------------------------------|---------------|-------------|-----------|
| Thời gian trung bình/đợt | | | |
| Biofilm (+) | 4,32 ± 2,45 | 1,46 ± 0,64 | P = 0,000 |
| Biofilm (-) | 3,73 ± 2,27 | 1,08 ± 0,27 | P = 0,000 |
| Điểm triệu chứng SNOT-20 | | | |
| Biofilm (+) | 32,56 ± 12,28 | 9,1 ± 4,78 | P = 0,000 |
| Biofilm (-) | 35,42 ± 18,09 | 6,85 ± 4,97 | P = 0,000 |

=> nạo VA có sự cải thiện về triệu chứng trong cả 2 nhóm.

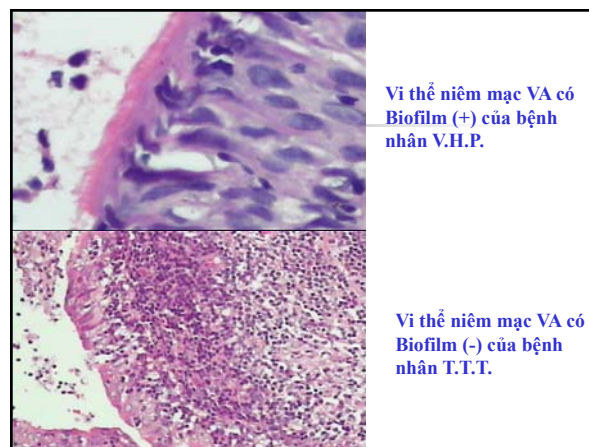
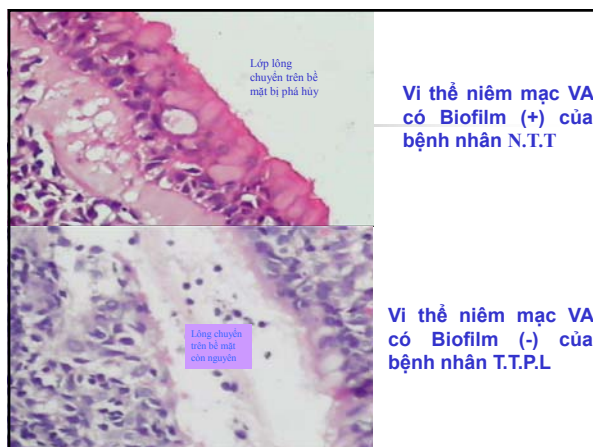
KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Hiệu quả phẫu thuật nạo VA

So sánh với các tác giả khác

| Triệu chứng | Osma Bahadır (2006) | Nhan Trưng Sơn (2001) | Phạm Đình Nguyên (2008) |
|-------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|
| Nghẹt mũi | 85% | 86,9% | 86,9% |
| Chảy mũi | 75% | 77% | 62,2% |
| Nghê kém | 43,3% | | |
| Thở miệng | 76,6% | | 49,2% |
| Ngủ ngáy | 78,3% | | 63,5% |

Nhìn chung các tác giả đều cho rằng nạo VA mang lại sự cải thiện nhiều về triệu chứng.



KẾT LUẬN

- Về đặc điểm lâm sàng và nội soi:**
 - Không có sự khác biệt về triệu chứng lâm sàng và hình ảnh nội soi mũi xoang giữa 2 nhóm nhưng nhóm viêm VA mạn có biofilm thì thường hiện diện dịch tiết ở khe giữa.
 - Không có sự liên quan giữa độ quá phát VA và sự hiện diện của biofilm trên bề mặt VA viêm mạn tính.

KẾT LUẬN

- Về vi trùng học:**
 - Tỷ lệ viêm VA mạn có biofilm được phát hiện bằng kỹ thuật nhuộm HE và quan sát dưới KHV quang học là 61,2%.
 - Tác nhân vi trùng thường gặp trong viêm VA mạn có biofilm:
 - 1- *Streptococcus spp* 36,59%
 - 2- *Staphylococcus coagulase (-)* 19,51%
 - 3- *Staphylococcus aureus* 12,2%

KẾT LUẬN

3. Về hiệu quả của phẫu thuật nạo VA:

- Phẫu thuật nạo VA mang lại sự cải thiện rõ rệt:
 - 1 Giảm tần suất bệnh viêm mũi họng
 - 2 Giảm mức độ nặng
 - 3 Giảm thời gian bệnh
 - 4 Giảm các bệnh đi kèm
- Nhóm viêm VA mạn không có Biofilm cho kết quả cải thiện nhiều hơn.

XIN CHÂN THÀNH CẢM ƠN

